

Вплив короткочасного прогріву на стан фотосистеми II у сортів озимої пшениці різної стійкості

*В. В. Шевченко¹, О. Ю. Бондаренко¹, Ю. М. Барабаш²

¹Інститут фізіології рослин та генетики НАН України, м. Київ, Україна

²Інститут фізики НАН України, м. Київ, Україна

*Corresponding author. E-mail: biochemkiev@ukr.net

Paper received 12.12.19; Accepted for publication 28.12.19.

<https://doi.org/10.31174/SEND-NT2019-215VII26-02>

Анотація. За допомогою оригінального програмного забезпечення виявлено три складові в кінетиці наростання кривої індукції флуоресценції листків озимої пшениці. Отримані амплітудні та часові характеристики цих компонентів. Проведено співставлення отриманих компонентів з трьома відомими конфігураціями комплексів світлозбиральної антени фотосистеми II. Показано, що зміни цих компонентів при старінні та за дії короткочасного прогріву відрізняються у сортів різної стійкості.

Ключові слова: *Triticum aestivum L.*, озима пшениця, індукція флуоресценції хлорофілу, компоненти кінетики наростання.

Вступ. Фотосистема II (ФСII) являє собою ключовий макромолекулярний мембранний суперкомплекс, який здійснює розщеплення молекул води й виділення кисню у процесі фотосинтезу. Цей комплекс займає важливе місце в організації ультраструктури хлоропластів, завдяки якій здійснюється первинний процес фотосинтезу [1]. Суперкомплекс ФСII є особливо чутливим до таких факторів зовнішнього середовища як підвищена температура та надлишкова інсоляція [2]. В останні роки встановлена складна організація цього комплексу, завдяки чому можуть реалізовуватися механізми захисту від стресів [3]. Антенний комплекс ФСII містить тримери Chl a/b білків, які порізані зв'язані з комплексом реакційних центрів. В площині мембрани гранальних тилакоїдів одночасно присутні антенні комплекси типів C2S2, C2S2M і C2S2M2, де С – комплекс реакційних центрів, S і М - тримери Chl a/b білків різних типів в світлозбиральній антенні ФСII [4]. Якщо вважати, що ці конфігурації відповідають комплексам ФСII з різним розміром антени, то в кінетичних кривих індукції флуоресценції повинні бути присутніми відповідні складові. Одержання даних про їх співвідношення принесе новітню інформацію про стан антени, також надасть можливість розробки оригінального підходу для швидкого виявлення організації комплексів ФСII в мембранах хлоропластів. Характер та глибина змін у стані антени, індукованих короткочасним прогрівом можуть принести інформацію щодо чутливості первинного процесу до дії стресу.

Метою роботи є визначення складових в кінетиці наростання кривої індукції флуоресценції листків озимої пшениці та одержання їх амплітудних та часових характеристик. Проведення ідентифікації отриманих компонентів та дослідження їх зміни при старінні та за дії короткочасного прогріву у сортів озимої пшениці різної стійкості.

Складові в кінетиці наростання кривої індукції флуоресценції листків озимої пшениці. Отримані амплітудні та часові характеристики цих компонентів. Проведено співставлення отриманих компонентів з трьома відомими конфігураціями комплексів світлозбиральної антени фотосистеми II. Показано, що зміни цих компонентів при старінні та за дії короткочасного прогріву відрізняються у сортів різної стійкості.

Матеріали та методи. Для досліджень використані

два сорти озимої пшениці Одеська 267 та Перлина Лісостепу. Ці сорти мають наступні характеристики. Одеська 267. Сорт пройшов державне випробування і занесений до реєстру сортів рослин придатних для поширення в Україні з 1997 року. Зона районування - Степ, Лісостеп. Сорт середньорослий. Біологічні ознаки: морозостійкість висока - 93% живих рослин після проморожування при -20°C (у стандарту Одеська 51 - 68%). Належить до середньостиглих сортів. Жаро-посухостійкість 8,5-9 балів. Перлина Лісостепу. Сорт пройшов державне випробування і занесений до реєстру сортів рослин придатних для поширення в Україні з 2002 року. Зона районування Полісся і Лісостеп України. Господарська і біологічна характеристики. Високоврожайний 44,3-75,2 ц/га, середньостиглий. Вегетаційний період 280-285 днів. Морозо-, зимостійкість середня - 4 бали. Жаро-посухостійкість 5-6 балів.

Рослини озимої пшениці вирощувались на дослідних ділянках Інституту Фізіології рослин і Генетики НАН України. Грунт - сірий дерново-підзолестий. Внесення NPK - стандартне за технологією вирощування. Зрізані листки пшениці прогрівали у темряві протягом 5 хв при температурах 30 і 45°C, після чого проводили вимірювання індукції флуоресценції хлорофілу у контрольному та прогрітих листках за стандартною методикою для тестування фотохімічної активності за параметрами індукційної кривої [5]. Для оцінки стану антени ФСII контрольні та прогріті листки інфільтрували у 0,01 М розчині DCMU протягом 3 годин, та на цих листках вимірювали індукцію флуоресценції хлорофілу. Одержані індукційні криві розкладали за спеціальним алгоритмом та розробленою процедурою підготовки експериментальних даних [6]. Після вимірювання індукційних кривих проводили визначення вмісту хлорофілу у досліджених листках за вимірюванням оптичної густини на двох довжинах хвиль на спектрофотометрі "Spekord 200" Analytikjena (Німеччина) за методикою Wellburn [7].

Біологічна та аналітична повторюваність дослідів – триразова.

Результати та обговорення. Розкладення індукційних кривих здійснювали за оригінальним алгоритмом, розробленим співробітниками Інституту фізики НАН України, який був адаптований нами до вивчення компонентного складу кінетики наростання кривої

індукції флуоресценції хлорофілу. Завдяки цьому вдалося виявити три складових у кінетиці зростання сигналу флуоресценції від початкового рівня до максимального.

Розкладення кінетики зростання сигналу флуоресценції за розробленою процедурою дозволило виявити три складових, що відповідають трьом пулам світлозбирального комплексу в антені ФСІІ. В таблиці 1 показані відносні величини внеску кожного компонента до амплітуди сигналу та величини часової константи.

Таблиця 1. Відносні внески та часові константи окремих складових у кінетику зростання сигналу флуоресценції листків різних сортів пшениці у фазах кушення (1) та молочної стиглості (2).

Сорт	α		β		γ		Вміст Chl mg/dm ²	Chl a/b
	A, %	τ, с	A, %	τ, с	A, %	τ, с		
Перлина Лісостепу	70	0,29	25	0,06	4	0,01	4,71± 0,40	3,52
	62	0,44	32	0,09	6	0,006	6,91± 0,40	3,34
Одеська 267	70	0,28	22	0,06	4	0,009	4,27± 0,40	3,91
	71	0,26	21	0,06	7	0,007	5,24± 0,40	3,54

З таблиці 1 видно, що співвідношення між трьома компонентами антени змінюється для кожного сорту в залежності від фази розвитку. Напрямок змін різний для двох сортів. Для Одеської 267, - це незначне збільшення компоненту α та зменшення компоненту β, а для Перлини Лісостепу - це зменшення компоненту α та збільшення компоненту β. Величина зміни відносних внесків відрізняється для різних сортів. Спостерігається зміна часових констант компоненту α. Напрямок змін різний. Величина цієї константи зменшується для сорту Одеська 267 на 7%, а для сорту Перлина Лісостепу часова константа збільшується в 1,5 раза.

З літератури відомо, що найбільшу фракцію в тилакоїдних мембранах *Arabidopsis thaliana* складають суперкомплекси ФС2 у конфігурації C2S2, значно меншу комплекси конфігурації C2S2M і зовсім незначну - комплекси конфігурації C2S2M2 [8]. Співвідношення величин пулів цих комплексів 1/0,2/0,13 (8/2/1). Розрахунки за даними таблиці 1 співвідношень внесків трьох антенних компонентів α, β й γ для тилакоїдів пшениці (Таб. 2.) близькі до наведених у літературі. Спираючись на ці дані можна припустити, що компоненти α, β й γ можуть бути співставленні з комплексами C2S2, C2S2M й C2S2M2. Тоді можна вважати, що при старінні рослини змінюється конструкція мембран тилакоїдів, причому по-різному для різних сортів.

Таблиця 2. Співвідношення внесків трьох антенних компонентів α, β й γ для тилакоїдів пшениці різних сортів пшениці у фазах кушення (1) та молочної стиглості (2).

Сорти	Співвідношення α/β/γ	Вміст Chl mg/dm ²	Chl a/b
Перлина лісостепу	1/0,36/0,06(16/6/1)	4,71	3,52
	1/0,52/0,10(10/5/1)	6,91	3,34
Одеська 267	1/0,30/0,06 (4,27	3,91
	1/0,30/0/0,10	5,24	3,54

Додатковий аргумент на користь запропонованій інтерпретації компонентів індукційної кривої як тих, що належать трьом конфігураціям суперкомплексу ФС2, дає співставлення зміни вмісту загального хлорофілу та співвідношення Chl a/b, що відбувається при старінні рослин із співвідношенням компонентів антени.

З таблиці 2 видно, що більш високому вмісту хлорофілу у старших рослинах відповідають менші значення Chl a/b. Це означає, що зростання вмісту хлорофілу відбувається переважно за рахунок збільшення Chl a/b світлозбираючої антени. При цьому спостерігається зростання відносного внеску β компоненту кінетичної кривої, що за припущенням обумовлений C2S2M конфігурацією антенного комплексу ФСІІ, тобто комплексом більш збагаченим Chl a/b білками. Причому слід відмітити, що для листків пшениці сорту Одеська 267 відбувається збільшення не компоненту β як для сорту Перлина Лісостепу, а компоненту γ, який відповідає конфігурації C2S2M2. Це означає, що характер перебудови мембран тилакоїдів при старінні може відбуватися у різних спосіб.

Таблиця 3. Зміни компонентного складу кінетичної кривої флуоресценції, що викликаються прогрівом листків пшениці (листки з рослин у фазі молочної стиглості).

Сорти	α		β		γ		
	A, %	τ, с	A, %	τ, с	A, %	τ, с	
Перлина лісостепу	контр.	62	0,44	32	0,09	6	0,006
	прогрів 30	50	0,60	41	0,11	9	0,006
	прогрів 45	68	0,69	32	0,07	0	0
Одеська 267 контр.	контр.	71	0,26	21	0,06	7	0,007
	прогрів 30	69	0,33	25	0,08	5	0,007
	прогрів 45	43	1,2	47	9,13	9	0,007

Прогрів листків пшениці при різних температурах також викликає перебудови організації мембран. Характер змін у складі компонентів індукційної кривої відмінний у різних сортів. Для Перлини Лісостепу доля компоненту α зменшується при прогріві 30°C і збільшується при прогріві при 45°C. β компонент навпаки збільшується при помірній температурі прогріву та зменшується при високій. Тобто спостерігається певна адитивність змін цих компонентів. Для Одеської 267 відбувається падіння компоненту α, компонент β збільшується.

Описані зміни у складі компонентів індукційної кривої не зумовлені варіаціями відносного вмісту Chl a/b білків, оскільки за час прогріву, 5 хв, склад пігментів не змінюється. Тому, імовірно, існують інші причини. З таблиці 3 видно, що прогрів при помірній температурі призводить до зменшення α компоненту та збільшення β компоненту для обох сортів. При цьому часова константа зростає для обох компонентів. Можливо це відбувається внаслідок розрихлення пакування антенних комплексів в мембрані. Збільшення внеску компоненту α для сорту Перлина Лісостепу при високотемпературному прогріві, можливо, вказує на формування великих агрегатів антенних комплексів типу C2S2 у вигляді квазікристалічних утворень. При цьому зростання часової константи може бути зумовлене потребою у збільшенні часу для делокалізації збудження в межах більш великого аг-

регату молекул світлозбираючого комплексу. В літературі описані явища створення квазікристаличних утворень антенних комплексів, що відбувається при вирощуванні рослин при зниженій освітленості [9]. Суттєве зменшення компоненту α , що спостерігається для Одеської 267, можливо, вказують на розпад асоціацій антенних комплексів типу C2S2, при цьому, можливо, утворюються асоціати антенних комплексів типу C2S2M2. У всякому разі аналіз змін складу компонентів індукційної кривої виявляє їхні відмінності для різних сортів пшениці, що, у свою чергу, є показ-

ником відмінностей у реакції фотосинтетичного апарату на дію підвищеної температури.

Висновки. Вперше виявлені три компоненти в кінетиці наростання сигналу індукції флуоресценції хлорофілу. Встановлені їхні часові та амплітудні характеристики. Проведено співставлення цих компонентів із відомими конфігураціями світлозбиральної антени фотосистеми II. Показано, що при старінні та за дії підвищеної температури, зміни вкладу окремих компонентів відрізняються у сортів озимої пшениці різної стійкості.

ЛІТЕРАТУРА

1. Nelson N., Yocum C.F. Structure and function of Photosystems I and II// Ann. Rev. Plant Biol., 2006. 57. P. 521–65.
2. Murata N., Takahashi S., Nishiyama Y., Allakhverdiev S.I. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress// Biochem. et biophys. Acta., 2007. 1767(6). P. 414–421.
3. Креславский В.Д. Карпентьер Р., Климов В.В., Мурата Н., Аллахвердиев С.И. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу// Биологические мембраны, 2007. (3), С. 195-217.
4. Dekker J. P., Boekema E.J. Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants// Biochim Biophys. Acta, 2005. 1706. P. 12–39.
5. Korniyev D.Y. Inhibition of glutamine synthetase activity by phosphinothricin results in disappearance of the peak M2 of the chlorophyll fluorescence induction curve// Photosynthetics, 1999. 36(4). – P. 601-604.
6. Barabash Y.M., Serdenko T.V., Knox P.P., Bondarenko O.Yu. Analysis are of the hidden properties of the macromolecular system as an example of the reaction centers of bacteria *Rhodobacter sphaeroides*// Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019. 3(1). P. 57-64.
7. Wellburn A.R. The spectral determination of chlorophyll *a* and *b* as well as total carotenoids using various solvents with spectrophotometers of different resolution// J. Plant Physiol, 1994. 144. P. 307-313.
8. Boekema E.J., van Breemen J.F., van Roon H., Dekker J.P. Arrangement of photosystem II supercomplexes in crystalline macrodomains within the thylakoid membrane of green plant chloroplasts// J. Mol. Biol., 2000. 301. P.1123-1133.
9. Kirchhoff H., Haase W., Wegner S., Danielsson R., Ackerman R., Albertsson P.-A. Low-light-induced formation of semi-crystalline photosystem II arrays in higher plant chloroplasts// Biochem. 2007. 46. P. 11169-11176.

REFERENCES

3. Kreslavsky V.D. Karpentier R., Klimov V.V., Murata N., Allahverdiev S.I. Molecular mechanisms of stability of photosynthetic apparatus for stress// Biological membranes, 2007. (3). P. 195-217.

The effect of short-term heating on the state of photosystem II in winter wheat varieties of different stability

V. V. Shevchenko, O. Yu. Bondarenko, O. Yu. Barabash

Abstract. The original software revealed three components in the kinetics of the growth curve of the fluorescence induction of winter wheat leaves. The amplitude and time characteristics of these components were obtained. Comparison of the obtained components with the three known configurations of the complexes of the photosynthesis antenna of the photosystem II is made. It is shown that the changes of these components during aging and during the action of short-term heating differ in varieties of different resistance.

Keywords: *Triticum aestivum L.*, winter wheat, chlorophyll fluorescence induction, components of growth kinetics.