

AGRICULTURE

Структурно-функціональні зміни фотосистеми II у різних сортів озимої пшениці за комбінованої дії посухи та високої температури

В. В. Шевченко*, О. Ю. Бондаренко

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, м. Київ, Україна

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

Paper received 26.06.20; Accepted for publication 12.07.20.

<https://doi.org/10.31174/SEND-NT2020-233VIII28-01>

Анотація. Досліджено вплив 10-ти денної посухи та додаткового короткочасного високотемпературного стресу на зміни структури та функціональної активності фотосистеми II у двох сортів озимої пшениці різної стійкості. Показано, що короткочасний високотемпературний стрес більше впливає на зміни структури та зниження функціональної активності ніж посуха. Вказані зміни у стійкого сорту менш значні, ніж у нестійкого. За дії посухи у стійкого сорту формується неспецифічна стійкість до дії високої температури, якої у нестійкого сорту не відмічається.

Ключові слова: *Triticum aestivum L.*, озима пшениця, фотосистема II, низькотемпературна флуоресценція, індукція флуоресценції хлорофілу.

Вступ. Сучасний розвиток цивілізації відзначається бурхливим ростом населення планети, що призводить до загрози нестачі продовольства. Ця проблема може бути вирішена лише завдяки сталому розвитку сільськогосподарства, на заваді якому стоять глобальні зміни клімату [1]. Особливе місце серед абіотичних факторів, що впливають на ріст, розвиток та продуктивність рослин, посідає посуха, дія якої часто посилюється високими температурами [2, 3]. За водного дефіциту завдяки нестачі CO₂ внаслідок закриття продихів, порушення синтезу хлорофілів, порушення транспорту електронів, змін у фотохімічних реакціях та реакціях відновлення, порушення структури хлоропластів, затримки відтоку асимілятів інгібується процес фотосинтезу [4]. Підвищені температури викликають руйнування кисень-виділяючого центру та протеїнів фотосистеми 2. Також дія цих факторів призводить до продукування активних форм кисню та, як наслідок, розвитку окислювального стресу. Вважається, що стійкість рослинного організму до стресу на 70 % залежить від стійкості його фотосинтетичного апарату. Тому вивчення особливостей адаптації процесу фотосинтезу до дії стресу у сортів з різною стійкістю має важливе значення для розробки критеріїв відбору на жаро-посухостійкість. 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 [5]. Суперкомплекс ФСII є особливо чутливим до таких факторів зовнішнього середовища як підвищена температура та водний дефіцит [6]. За дії стресових чинників фотосистема II розглядається як найбільш уразлива ключова ланка фотосинтезу [7, 8, 9]. Тим не менш, навіть якщо швидкість фотосинтезу при помірному тепловому стресі значно знижується, то пошкодження ФСII (незворотне зниження фотохімічної активності), як правило, незначне. Пошкодження ФСII проявляється лише за дії достатньо високих температур, часто більше 45°C [10], а при помірному тепловому стресі та незначній інтенсивності світла

активність ФСII, як правило, з часом відновлюється [11]. Не зважаючи на широкий спектр досліджень механізмів дії різних стресів на фотосинтетичний апарат, особливості стресової реакції та формування неспецифічної стійкості у різних сортів озимої пшениці залишаються до кінці нез'ясованими.

Метою роботи було дослідження особливостей структурно-функціональних змін фотосистеми II за дії посухи та короткочасного високотемпературного стресу у сортів озимої пшениці різної стійкості.

Матеріали та методи. Для досліджень використані два сорти озимої пшениці Одеська 267 та Перлина Лісостепу. Сорт Одеська 267 вважається стійким. Жаро-посухостійкість оцінюється у 8,5-9 балів. Сорт Перлина Лісостепу – менш стійкий. Його оцінка жаро-посухостійкості складає 5-6 балів.

Озиму пшеницю досліджуваних сортів висівали на дослідних ділянках Інституту фізіології рослин і генетики НАН України розміром 3x1 м у вересні місяці. Грунт - сірий дерново-підзолестий. Внесення NPK - стандартне за технологією вирощування. Після перезимівлі у відкритому ґрунті рослини було пересаджено у 10-ти кг вегетаційні посудини. Для контрольних рослин здійснювали полив для забезпечення 60-70% повної вологості ґрунту. Для дослідних рослин на фазі цвітіння створювались умови посухи протягом 10 днів при 30% повної вологості (ПВ). Додатково, зрізані листки пшениці з контрольних та дослідних (посуха) рослин прогрівали у темряві протягом 5 хв при температурі 45°C. Для прогріву листки поміщали в целофановий пакет і занурювали у воду потрібної температури. Вимірювання індукції флуоресценції хлорофілу проводили за стандартною методикою для тестування фотохімічної активності за параметрами індукційної кривої.

Для виділення хлоропластів відбирали прапорцеві листки. Листки гомогенізували 2 хвилини на гомогенізаторі MPW - 302 (Польща) в середовищі, що містило 50 мМ трицину рН 7,6, 0,4 М сахарози, 10 мМ NaCl, 5 мМ MgCl₂. Після чого гомогенат пропускали через 2 шари бязі та центрифугували на центрифугу Eppendorf 5810 (Німеччина) 5 хвилин зі швидкістю 400g для осадження фрагментів клітин, крохмальних

зерен, тощо. Супернатант центрифугували вдруге протягом 10 хвилин зі швидкістю 1000g, отримуючи в осаді фракцію хлоропластів. Осад ресуспендували, пропускаючи його через капрон, в 10 мМ трициновому буфері рН 7,6 з додаванням 0,1 М сахарози, 10 мМ NaCl, 5 мМ MgCl₂.

Спектри низькотемпературної флуоресценції (77 К) вимірювали за допомогою універсальної спектрофлуориметричної установки [12], розробленої в лабораторії. Для низькотемпературних вимірювань використовували повітряно-сухі плівки суспензії хлоропластів на скляній пластинці діаметром 16 мм. На пластинку наносили 0,06 мл зразка з концентрацією хлорофілу 0,3 мг/мл. Кінцева кількість хлорофілу складала 0,018 мг на зразок і товщина плівки дорівнювала приблизно 0,1 мм. Поглинання у максимумі червоної смуги становило 10 %, що обумовлювало мінімальну реабсорб-

цію флуоресценції і, завдяки цьому, мінімальну аберацію спектру. Плівки висушували в темноті під вакуумним ковпаком на протязі 5-10 хв. Вимірювання низькотемпературних спектрів флуоресценції проводили в діапазоні 650-800 нм, в цифровому вигляді, з кроком 0,5 нм, спектральна ширина щілини складала 2 нм.

Біологічна та аналітична повторюваність дослідів – триразова.

Результати та обговорення. На рис. 1. представлені спектри низькотемпературної флуоресценції (77 К) хлоропластів озимої пшениці сорту Перлина Ліостепу (нестійкий) та Одеська 267 (стійкий). В спектрах низькотемпературної флуоресценції випромінюванню антени фотосистеми II відповідає короткохвильова смуга з максимумом біля 685 нм.

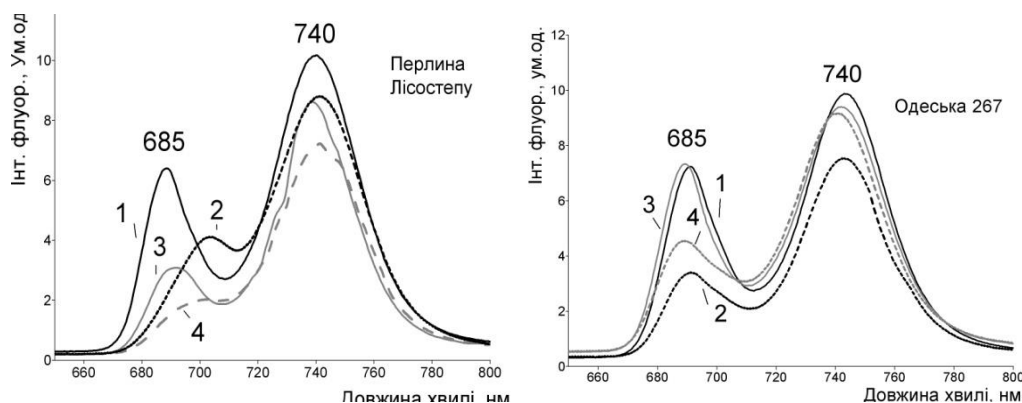


Рис. 1. Спектри низькотемпературної флуоресценції (77 К) хлоропластів озимої пшениці сорту Перлина Ліостепу та Одеська 267.

1 – контроль, 2 – прогрів 45 °С 5 хв., 3 – посуха, 4 – посуха + прогрів 45 °С, 5 хв.

З наведених даних видно, що за дії посухи (рис.1, крива 3) у сорту Перлина Ліостепу структура короткохвильової смуги флуоресценції суттєво змінюється, а у сорту Одеська 267, лише відбувається незначний зсув максимуму випромінювання у короткохвильову сторону, інтенсивність та структура смуги достовірно не змінюються. Короточасний прогрів хлоропластів контрольних рослин (рис.1, крива 2) викликав більш істотні зміни структури та інтенсивності короткохвильової смуги. У сорту Перлина Ліостепу спостерігався суттєвий зсув максимуму флуоресценції у довгохвильову сторону та зниження її інтенсивності. Для більш стійкого сорту, Одеська 267, відбувалось тільки значне зниження інтенсивності випромінювання фотосистеми II. У випадку, коли короточасний прогрів при 45 °С накладався на рослини, які протягом 10 днів зростали в умовах посухи (рис.1, крива 4), посилення ефекту спостерігалось лише у менш стійкого сорту – Перлина Ліостепу. У більш стійкого сорту, Одеська 267, не відмічалось посилення руйнування фотосистеми II за сумісної дії посухи та тепла, а навпаки, зміни були меншими, ніж при прогріванні хлоропластів, одержаних з контрольних рослин.

Зміни активності фотосинтетичного апарату вимірювались за параметрами кривої індукції флуоресценції (табл. 1). Десятиденна посуха призводила до певних змін параметрів індукційної кривої. В першу чергу, у всіх сортів підвищувався рівень Qb-невідновлюючих центрів, що призводило до збіль-

шення показника (Fp1/Fmax). При цьому, рівень «відкритих» центрів (Fo) практично не змінювався. Параметр Fv/Fmax (потенційний квантовий вихід фотосистеми II) також практично не змінювався. Значно більший вплив на параметр Fv/Fmax відзначався за дії високої температури. У більш стійкого сорту, Одеська 267, зниження параметру Fv/Fmax було меншим, ніж у менш стійкого сорту, Перлина Ліостепу. Одночасна дія посухи та високої температури призводила до значного зниження функціональної активності. По-перше, практично всі Qb-невідновлюючі центри переходили до стану «відкритих» центрів. Інтенсивність Fo навіть перевищувала інтенсивність плато, що зазвичай спостерігається у випадку дії особливо жорстких стресів. Значною мірою знижувався параметр Fv/Fmax. Але, як і при дослідженні низькотемпературної флуоресценції, накладання короточасного температурного стресу на рослини, що зростали в умовах 10-ти денної посухи, у менш стійкого сорту - призводило до більшого зниження функціональної активності, в порівнянні з окремою дією посухи або прогріву, у більш стійкого сорту – відмічалась менша втрата функціональної активності фотосистеми II, ніж при прогріванні хлоропластів, одержаних з контрольних рослин.

Таким чином, показано, що зміни функціональної активності відповідають змінам структурної організації фотосистеми II у обох сортів. 10-ти денна посуха призводила до незначних змін структурно-

функціональної організації фотосистеми II у менш стійкого сорту, та майже не викликала таких змін у стійкого сорту. Більш суттєві зміни структури та функціональної активності фотосистеми II в хлоропластах контрольних рослин викликав короточасний високо-температурний стрес (45 °C, 5 хв.), які були більшими у менш стійкого сорту. Накладання короточасного високотемпературного стресу (45 °C, 5 хв.) на листки і хлоропласти з рослин, що зростали в умовах 10-ти денної посухи, посилювало руйнування фотосистеми II у менш стійкого сорту (Перлина Лісостепу), а у більш стійкого сорту (Одеська 267) ефект був меншим ніж при дії високої температури на контрольні рослини. Таким чином, можна казати, що за дії посухи у стійкого сорту формується неспецифічна стійкість до дії абіотичних чинників. У нестійкого сорту виникнення неспецифічної стійкості не відмічалось.

Пояснення таким змінам може бути знайдено при дослідженні протеїнового складу хлоропластів. Виявлено, що стійкий сорт вже у контрольних рослин відрізнявся підвищеним вмістом протеїнів 36 кДа (пластохінол оксидаза), 21 кДа (інгібітор протеаз), 16 кДа (тримерізація фотосистеми I та стабілізація системи), які захищають мембранні структури фотосинтетичного апарату від руйнування. За дії посухи вміст цих протеїнів збільшувався у обох сортів, але у нестійкого

сорту, навіть в цих умовах, їх вміст не досягав того рівня, який був в контрольних рослинах стійкого сорту (неопубліковані дані авторів).

Таблиця 1. Зміна параметрів кривої індукції флуоресценції хлорофілу листків озимої пшениці за одночасної дії посухи (10 діб, 30% ПВ) та прогріву (45 °C, 5 хв.).

Сорт/обробка	Fpl/Fmax	Fv/Fmax
Перлина Лісостепу контр	0,41±0,04	0,72±0,02
Перлина Лісостепу контр. пр. 45°C	0,05±0,01	0,55±0,03
Перлина Лісостепу посуха	0,42±0,03	0,69±0,02
Перлина Лісостепу посуха + пр. 45°C	0,31±0,02	0,48±0,03
Одеська 267 контр	0,49±0,02	0,73±0,01
Одеська 267 контр. пр. 45°C	0,17±0,03	0,59±0,02
Одеська 267 посуха	0,44±0,03	0,73±0,01
Одеська 267 посуха + пр. 45°C	0,15±0,03	0,63±0,02

Висновки. За дії 10-ти денної посухи та короточасного високотемпературного стресу відбуваються структурно-функціональні зміни фотосистеми II у обох сортів озимої пшениці. Короточасний високо-температурний стрес призводить до значно більшої зміни структури та втрати функціональної активності фотосистеми II ніж посуха. Всі вказані зміни у стійкого сорту менш значні, ніж у нестійкого. Крім того, за дії посухи у стійкого сорту формується неспецифічна стійкість до дії високої температури, якої у нестійкого сорту не відмічається.

ЛІТЕРАТУРА

1. Lesk C., Rowhani P., Ramankutty N. Influence of extreme weather disasters on global crop production // Nature, 2016. 529(7584). P. 84-87.
2. IPCC: Summary for policymakers. Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Pt. A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Field C.B., Barros V.R., Dokken D.J., Mach K.J., Mastrandrea M.D., Bilir T.E., Chatterjee M., Ebi K.L., Estrada Y.O., Genova R.C., Girma B., Kissel E.S., Levy A.N., MacCracken S., Mastrandrea P.R., White L.L. (Eds.). New York, USA: Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, 2014. P. 1-32.
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. Киризий Д.А., Стасик О.О., Прядкина Г.А., Шадчина Т.М. Ассимиляция CO₂ и механизмы ее регуляции. Фотосинтез. Том 2. – К.: Логос, 2014. – 480 с.
5. Nelson N., Yocum C.F. Structure and function of Photosystems I and II// Ann. Rev. Plant Biol., 2006. 57. P. 521–65.
6. 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.
7. Enami I., Kitamura M., Tomo T. et al. Is the primary cause of thermal inactivation of oxygen evolution in spinach PS II membranes release of the extrinsic 33 kDa protein or of Mn?// Biochem. et biophys. acta, 1994. 1186. P. 52-58.
8. Sairam R.K., Svastava G.C., Saxena D.G. Increased antioxidant activity under elevated temperatures; A mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes// Biol. Plant., 2000. 43(2) P. 245-251.
9. Staehelin L.A. Chloroplast structure: from chlorophyll granules to supra-molecular architecture of thylakoid membranes// Photosynth. Res., 2003. 76. P. 185-196.
10. Semenova G.A. Structural reorganization of thylakoid systems in response to heat treatment // Photosynthetica, 2004. 42(4). P.521-527.
11. Theg S.M., Filar L.J., Dilley R.A. Photoinactivation of chloroplasts already inhibited on oxidizing side of photosystem II// Biochem. et biophys. acta, 1986. 849. P. 104-111.
12. Kochubey SM, Bondarenko OYu, Shevchenko VV () A new type of subchloroplast fragments isolated from pea chloroplasts in the presence of digitonin// Biochemistry (Moscow), 2007. 72. P. 1021-1026.

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.
4. Kirizy D.A., Stasik O.O., Pryadkina G.O., Shadchina T.M. Assimilation of CO₂ and mechanisms of its regulation. Photosynthesis. V 2. – Kyiv: Logos, 2014. – 480 p.

Structural and functional changes of photosystem II in different varieties of winter wheat under the combined action of drought and high temperature

V. V. Shevchenko, O. Yu. Bondarenko

Abstract. We studied the effect of a 10-day drought and additional short-term temperature stress on changes in the structure and functional activity of photosystem II in two varieties of winter wheat of different resistance. It is shown that short-term high-temperature stress has a stronger effect on structural changes and a decrease in functional activity than drought. These changes in the resistant variety were less pronounced than in the unstable variety. During drought, a resistant variety forms nonspecific resistance to the action of high temperature, which is not observed in an unstable variety.

Keywords: *Triticum aestivum L., winter wheat, photosystem II, low-temperature fluorescence, chlorophyll fluorescence induction.*