

УДК 581.132.2.035.2

**КИНЕТИКА ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ  
ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ  
ПРЕВРАЩЕНИЙ РЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА  $P_{700}$  В ЛИСТЬЯХ  
СВЕТОЛЮБИВЫХ И ТЕНЕВЫНОСЛИВЫХ ГИБРИДОВ ОГУРЦА**

**И.Е. ПАВЛОВА, С.Г. МАГНИЦКИЙ, А.В. БОРИСОВ,  
Л.А. ПАНИЧКИН, А.Н. ТИХОНОВ**

(Лаборатория биофизики)

**Изучено влияние затенения на кинетику фотоиндуцированных окислительно-восстановительных превращений  $P_{700}$  в листьях двух гибридов огурца, различающихся по теневыносливости. Показано, что затенение листьев (2—10 дней) вызывает изменение кинетики, которое свидетельствует о наличии адаптационных процессов, затрагивающих функционирование электронтранспортной цепи хлоропластов. У теневыносливого гибрида НИИОХ-412 наблюдались те же особенности кинетики изменений  $P_{700}$ , что и у светолюбивого гибрида Зозуля при затенении.**

Проблема адаптации растений к пониженной освещенности давно привлекает исследователей фотосинтеза [7—9, 11, 12]. Она актуальна и при изучении механизмов фоторегуляции, и при выявлении оптимальных условий освещения растений в период выращивания. Од-

нако влиянию освещенности на функционирование растений одного вида, но разных сортов до сих пор не уделялось достаточного внимания. Между тем сортовые различия имеют особенно большое значение для селекционной работы применительно к видам, выращиваемым в закры-

том грунте, где освещенность является лимитирующим фактором. Такими видами в наших условиях являются в первую очередь огурец и томат. В настоящее время на этих видах выполнен ряд работ по изучению теневыносливости отдельных сортов, однако большинство этих работ посвящено в основном выявлению морфофизиологических различий или исследованию отдельных реакций [2, 3, 6].

Использование физических методов, в частности метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), может существенно дополнить информацию о сортовой изменчивости фотосинтетического аппарата в разных условиях выращивания. Метод ЭПР позволяет регистрировать фотоиндуцированные превращения реакционных центров фотосистемы I ( $P_{700}$ ) как в изолированных хлоропластах, так и в нативных листьях. Исследования окислительно-восстановительных превращений  $P_{700}$  в листьях высушенных растений показали, что ряд особенностей кинетики этих процессов в существенной мере зависит от условий роста растений [4, 5].

Цель настоящей работы — изучение различий ЭТЦ в листьях светолюбивого и теневыносливого гибридов огурца, подвергнутых различным световым воздействиям в процессе роста.

### Методика

В опытах использовали 2 гибрида огурца: светолюбивый интенсивный гибрид Зозуля, у которого быстрота роста светолюбивых сортов сочетается с относительно большой площадью листьев, характерной для теневыносливых, и теневыносливый

гибрид НИИОХ - 412, характеризующийся меньшей скоростью роста, крупными листьями и относительно высоким содержанием хлорофилла.

Растения выращивали в перлите на питательной смеси Кюпа<sup>1/2</sup> нормы в теплице с подсветкой при освещенности  $\approx 10$  клк, высокой влажности и температуре 26—28 °С. При достижении растениями необходимого возраста их переносили в лабораторию под лампу ДРЛ - 400, где поддерживалась освещенность  $\approx 9$  клк. Затем часть растений в 9 - дневном возрасте затеняли бязью до освещенности 1 клк на 10 дней, а другую часть затеняли в 18 - дневном возрасте на 2 дня. Контрольные растения продолжали расти под лампой при освещенности 10 клк. ЭПР измеряли спектрометром Е - 4 фирмы «Varian» при комнатной температуре. Источником света служила лампа накаливания (150 Вт). Для преимущественного возбуждения фотосистемы I (ФС I) использовали интерференционный фильтр с  $\lambda_{\max} 707$  нм ( $\Delta\lambda_{1/2} \approx 5$  нм), для одновременного возбуждения обеих фотосистем — фильтр с  $\lambda_{\max} 650$  нм ( $\Delta\lambda_{1/2} \approx 5$  нм) либо значительно более интенсивный белый свет.

О работе хлоропластов в нативных листьях судили по кинетике окислительно - восстановительных превращений  $P_{700}$  [1, 4, 5]. Для этого магнитное поле фиксировали на низкополевом пике сигнала ЭПР I. Измерения проводили на стандартных высечках из листьев размером 4x20 мм<sup>2</sup>. Растения перед опытом находились в комнате (в горшочках) на сравнительно слабом рассеянном свету.

Количество реакционных цент-

ров ФС 1 на единицу хлорофилла определяли на основании данных о содержании  $P_{700}$  и концентрации хлорофилла в суспензии выделенных хлоропластов [4]. Опыты проводили по одной схеме освещения.

### Результаты

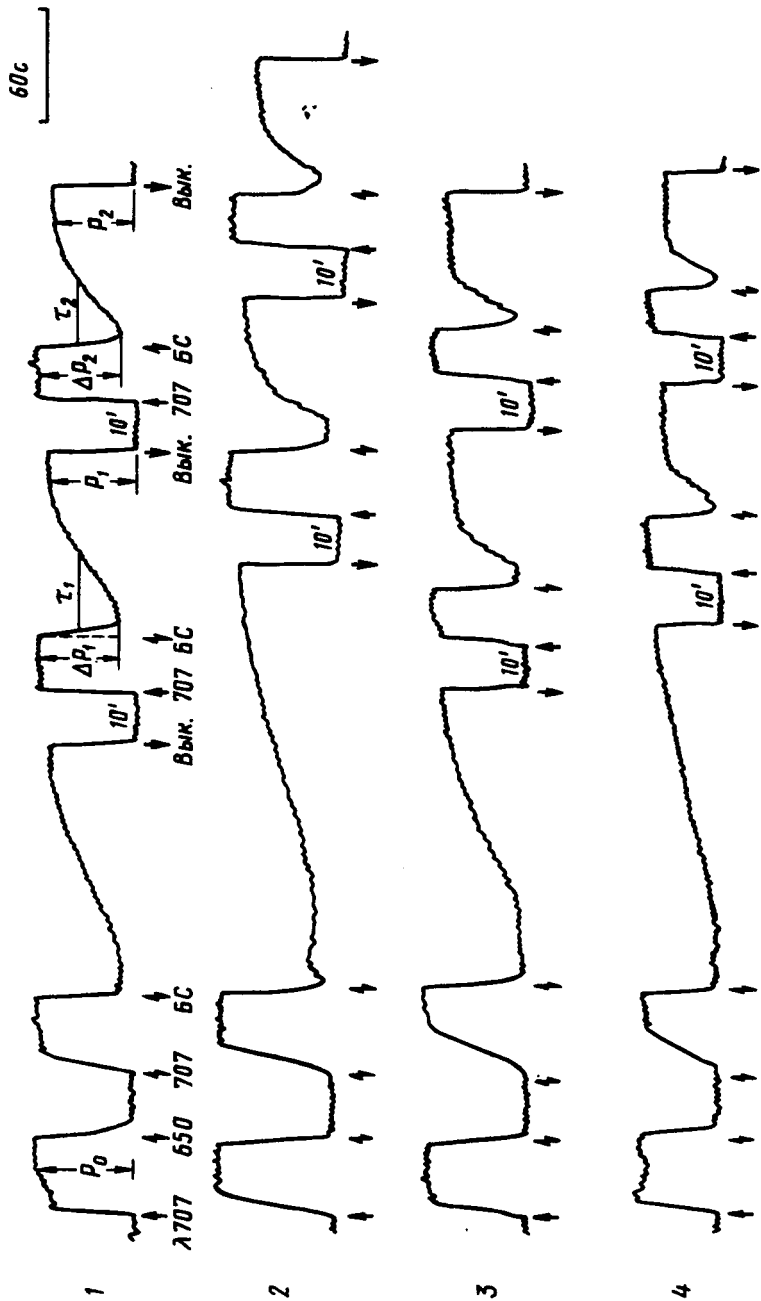
Как видно из рисунка, в ответ на включение света  $\lambda_{707}$  пигмент  $P_{700}$  окисляется и значение сигнала ЭПР I достигает максимального уровня ( $P_0$ ). При смене света  $\lambda_{707}$  на свет  $\lambda_{650}$ , возбуждающий обе фотосистемы, происходит снижение значения сигнала за счет восстановления  $P_{700}^+$  вследствие притока электронов от ФС 2. Последующее переключение света на  $\lambda_{707}$  вновь вызывает рост сигнала ЭПР до прежнего уровня. После достижения стационарного уровня  $P_{700}^+$  включили интенсивный белый свет, активирующий и ФС 1, и ФС 2. При этом вначале наблюдается восстановление  $P_{700}^+$ , связанное с притоком электронов от ФС 2. Однако с течением времени сигнал ЭПР I постепенно возрастает до некоторого нового стационарного уровня. Этот рост сигнала ЭПР I обусловлен активацией реакций цикла Кальвина, вследствие чего отток электронов от ФС 1 усиливается [1, 4].

Длительность нарастания сигнала зависит как от предыстории освещения [1, 4, 5], так и от физиологического состояния объекта [4], которое может быть различным у разных листьев. Поэтому, чтобы привести фотосинтетический аппарат листьев к одинаковому состоянию, после прохождения индукционной фазы их затемняли на 10 мин и вновь повторяли предшествующий цикл

освещения красным и белым светом. В качестве параметров, характеризующих функционирование хлоропластов, использовали значения стационарных уровней сигнала ЭПР I при красном и белом свете ( $P_0, P_1, P_2$ ), величину провала на кинетической кривой при переключении с красного на белый свет ( $\Delta P_1, \Delta P_2$ ), а также отношение этих величин и полувремя перехода  $P_{700}$  из восстановленного состояния в окисленное под действием белого света. Характерные временные значения этих переходных процессов (параметры  $\tau_1$  и  $\tau_2$ ) соответствуют кинетике процессов, возникающих в ответ на первое и второе включения белого света. Результаты опытов сведены в табл. 1 и 2.

Из табл. 1 видно, что длительное (10 - дневное) затенение приводит к снижению значения сигнала ЭПР I у семядольных листьев обоих гибридов, что связано, по - видимому, с частичной потерей реакционных центров ФС 1. Вместе с тем в затененных вариантах увеличивается относительная глубина падения сигнала при переключении со света  $\lambda_{707}$  на белый свет ( $\Delta P_1/P_0, \Delta P_2/P_0$ ) благодаря более значительному восстановлению  $P_{700}$  за счет притока электронов от ФС 2. При этом выход на новый стационарный уровень в ответ на включение белого света в затененных вариантах происходит быстрее, что можно объяснить меньшим объемом пула восстановителей ФС 1 в листьях [7, 9, 12].

Различия между гибридами особенно отчетливо проявились при сравнении контрольных вариантов по значению  $\tau$ , т.е. по времени протекания переходных процессов в ответ на включение белого света. У



Кинетика фотоиндуцированных изменений сигнала ЭПР I в семядольных листьях светлюбивого гибрида огурца Зозуля (1, 3) и теневыносливого гибрида НИИОХ - 412 (2, 4). Растения выращены при 10 клк (1, 2), часть растений после выращивания при 10 клк была затенена в течение 2 дней при 1 клк (3, 4).

**Кинетические характеристики сигнала ЭПР I (отн. ед.)  
в семядольных и вторых листьях**

Измеряемые параметры	Зозуля (З)			НИИОХ-412 (Н)		
	контроль	затенение	$Z_0/Z_1$	контроль	затенение	$H_0/H_1$
Опыт 1. Семядольные листья, затенение 10 дней						
$P_0$	10,2±0,8	6,2±0,3	0,6	12,7±0,3	6,5±0,7	0,5
$P_1$	8,7±0,7	5,6±0,6	0,7	10,0±0,1	6,2±0,6	0,6
$P_1/P_0$	0,9	0,9±0,1	-	0,8±0,1	0,9±0,1	-
$P_2$	8,6±0,5	5,5±0,8	0,6	9,5±0,2	6,1±0,7	0,6
$P_2/P_0$	0,8±0,1	0,9±0,1	-	0,8±0,1	0,9±0,1	-
$\Delta P_1$	5,0±0,6	4,9±0,4	0,9	7,2±0,5	5,3±0,5	0,7
$\Delta P_2$	4,7±0,9	4,8±0,4	1,02	7,1±0,6	5,1±0,5	0,7
$\Delta P_1/P_0$	0,5±0,1	0,8±0,1	1,6	0,6±0,1	0,8±0,1	1,5
$\Delta P_2/P_0$	0,5±0,1	0,8±0,1	1,7	0,6±0,1	0,8±0,1	1,4
$\tau_1, c$	44±4	(52±4)	1,2	41±2	29±2	0,7
$\tau_2, c$	46±4	32±3	0,7	32±2	18±1	0,6
Опыт 2. Вторые настоящие листья, затенение 2 дня						
$P_0$	8,3±1,4	8,6±0,2	1,1	9,6±0,3	6,1±0,7	0,6
$P_1$	7,6±1,3	7,3±0,4	0,9	7,8±0,4	4,9±0,7	0,6
$P_1/P_0$	0,9±0,1	0,9±0,1	-	0,9±0,1	0,8±0,1	-
$P_2$	7,2±0,9	7,1±0,1	0,9	6,8±0,1	4,4±0,4	0,7
$P_2/P_0$	0,9±0,1	0,8±0,1	-	0,7±0,1	0,7±0,1	-
$\Delta P_1$	6,9±0,9	6,5±0,2	0,9	7,0±0,4	4,1±0,4	0,6
$\Delta P_2$	6,4±1,1	6,5±0,2	1,01	6,3±0,3	3,8±0,4	0,7
$\Delta P_1/P_0$	0,9±0,1	0,8±0,1	0,7	0,7±0,1	0,6±0,1	0,9
$\Delta P_2/P_0$	0,8±0,1	0,7±0,1	0,9	0,7±0,4	0,6±0,1	0,9
$\tau_1, c$	48±2	34±2	0,7	40±4	33±4	0,8
$\tau_2, c$	41±5	23±1	0,6	29±5	22±1	0,8

Примечание. Опыт 1 проведен в фазе выхода 2-го листа; возраст растений в контроле — 13 дней, при затенении — 18 дней. Опыт 2 проведен в фазе выхода 4-го листа; возраст растений в обоих вариантах — 20 дней.

Таблица 2

**Содержание  $P_{700}$  (мкмоль в 1 мл хлорофилла) в листьях различных генотипов огурца**

Генотип	Опыт 1	Опыт 2
Гибрид Зозуля	1,05	1,05
» НИИОХ-412	1,29	0,99
Сорт Плодовитый	0,86	0,98
» Клинский	1,06	-

теневыносливого гибрида НИИОХ - 412 в контроле проявлялась такая же тенденция к ускорению переходных процессов, как и при затенении. Кроме того, у него отмечалось несколько более высокое содержание реакционных центров на единицу площади листа. Вместе с тем у этого гибрида глубина падения сигнала при переключении со света  $\lambda_{707}$  на белый свет была боль-

ше, чем у гибрида Зозуля, что также совпадает с тенденцией изменений светоиндуцированных переходных процессов при длительном затенении.

На более позднем этапе развития растений при снятии сигнала ЭПР I на втором настоящем листе различия между гибридами тоже более отчетливо проявились в значении  $\tau$  в контроле, хотя кинетика перехода от света  $\lambda_{707}$  к белому свету в данном случае имела противоположную тенденцию (табл. 1). При затенении (2 - дневном) степень восстановления  $P_{700}$  в момент перехода ( $\Delta P/P_0$ ) несколько уменьшилась. У теневыносливого гибрида НИИОХ - 412 по сравнению с гибридом Зозуля наблюдалась такая же тенденция к уменьшению этой величины.

Выявлена и еще одна особенность теневыносливого гибрида НИИОХ - 412 — более быстрое снижение в ответ на затенение количества РЦ ФС 1 на единицу площади листа ( $P_0$ ). Если на светолюбивый гибрид Зозуля 2 - дневное затенение не оказало влияния, то у гибрида НИИОХ - 412 максимальное количество  $P_{700}$  снизилось за 2 дня на 30 %.

С целью сравнения относительного содержания  $P_{700}$  у светолюбивых и теневыносливых генотипов была сделана попытка выделить хлоропласты из двух светолюбивых и двух теневыносливых форм огурца и определить концентрацию  $P_{700}$  в суспензии хлоропластов. Однако в результате этих опытов не было выявлено сколь-либо существенных различий между вариантами (табл. 2).

## Обсуждение

Полученные данные позволяют проанализировать изменения фотосинтетического аппарата на уровне ФС 1 под влиянием затенения разной длительности у двух различающихся по теневыносливости гибридов огурца. Длительное затенение, превосходящее адаптационные возможности растений огурца, вызвало у обоих гибридов снижение количества реакционных центров ФС 1 на единицу площади листа ( $P_0$ ). При этом у теневыносливого гибрида снижение количества  $P_{700}$  в ответ на затенение происходило быстрее и регистрировалось уже через 2 дня, тогда как у светолюбивого гибрида Зозуля значение  $P_0$  при кратковременном затенении не менялось.

Наибольшие различия между вариантами проявлялись в кинетике фотоиндуцированных переходных процессов (рисунок и табл. 1). При 10 - дневном затенении на семядольных листьях отчетливо показано увеличение восстановленности  $P_{700}$  в момент переключения света  $\lambda_{707}$  на белый свет. Это может быть связано как с относительным увеличением притока электронов от ФС 2 во время освещения листьев белым светом, так и с уменьшением оттока электронов от ФС 1 в результате сниженной активности темновых ферментов у затененных образцов.

Вместе с тем, согласно литературным данным [4, 10, 13], содержание ФС 1 в расчете на хлорофилл при затенении меняется сравнительно мало и различается лишь у видов, значительно отличающихся друг от друга по теневыносливости. Наши эксперименты показали отсутствие

существенной разницы между сортами по этому признаку (табл. 2).

Необходимо отметить уменьшение в большинстве случаев времени переходных процессов ( $\tau$ ) в листьях затененных растений (рисунок, табл. 1). Уменьшение  $\tau$  отмечено также при повторном переходе от света  $\lambda_{707}$  к белому свету после 10-минутной темновой адаптации, а также при меньшем времени темновой адаптации.

Сравнивая кинетические изменения сигнала ЭПР у двух различающихся по теневыносливости гибридов огурца, можно видеть, что у более теневыносливого гибрида НИИОХ - 412 реализовались те же тенденции изменений фотосинтетического аппарата, как и у светолюбивого гибрида при затенении растений. Это свидетельствует о его более глубокой генетической адаптации к затенению на уровне первичных процессов фотосинтеза. Наиболее характерным показателем различий между сортами можно считать значение  $\tau$ , сходно меняющееся как при длительном, так и при кратковременном затенении.

Отчетливые различия между сортами установлены по количеству окисленных реакционных центров на единицу площади листа ( $P_0$ ) при кратковременном затенении. Теневыносливый гибрид НИИОХ - 412 проявил значительно большую вариабельность этого параметра (табл. 1). Заметные различия между сортами проявились и в значении  $\Delta P/P_0$ , однако при разной длительности затенения и на разных листьях они имели разную направленность и оказались относительно небольшими.

Таким образом, при изучении ки-

нетических характеристик сигнала ЭПР были выявлены определенные различия между светолюбивыми и теневыносливыми гибридами огурца, проявляющиеся на уровне световой стадии и в способности фотосинтетического аппарата растений адаптироваться к затенению.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кукушкин А.К., Тихонов А.Н. Лекции по биофизике фотосинтеза растений. М.: Изд. во МГУ, 1988.
- 2. Примак А.П., Шелепова В.М., Шманаева Т.Е. Влияние условий пониженной освещенности на рост и содержание хлорофилла различных по светотребовательности сортов томата.— Тр. по селекции овощных культур. М.: ВНИИССОК, 1979, вып. 9, с. 86—95.— 3. Примак А.П., Шманаева Т.Н., Шелепова В.М., Шипилов Д.Г. Рекомендации по отбору теневыносливых форм огурца и томата в фазе семядолей.— В сб.: ВНИИССОК: Применение физиологических методов при оценке селекционного материала и моделирования новых сортов с. - х. культур. М.: ВАСХНИЛ, 1983, с. 228—232.— 4. Тихонов А.Н., Павлова И.Е. Кинетика фотоиндуцированных окислительно - восстановительных превращений в листьях древесных растений, выращенных при различной освещенности.— Физиол. раст., 1975, т. 25, вып. 3, с. 477—482.— 5. Тихонов А.Н., Тимошин А.А. Электронный транспорт, перенос протонов и их связь с фосфорилированием в хлоропластах. 1. Влияние интенсивности действующего света.— Биол. мембраны, 1985, т. 26, № 4, с. 349—362.— 6. Чугунова Н.Г., Кособрюхов А.А., Карпилова И.Ф., Черных

- Л.А. Газообмен и ростовые процессы у тепличных огурцов при адаптации к световым условиям.— С. - х. биология, 1983, № 6, с. 62—66.— 7. *Anderson J.M.*— *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 1986, vol. 37, p. 93—136.— 8. *Bjorkman O., Holgren P.*— *Physiol. Plantarum*, 1966, vol. 19, fasc. 4, p. 854—859.— 9. *Boardman N.K.*— *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1977, vol. 28, p. 335—377.— 10. *Leong T.Y., Anderson J.M.*— *Photosynthesis Res.*, 1984, vol. 5, № 1, p. 105—115.— 11. *Lichtenthaler H.K. et al.*— *Photosynthesis Res.*, 1986, vol. 2, № 1, pp. 115—141.— 12. *Melis A.*— *J. Cell Biochem.*, 1984, vol. 24, № 2, p. 271—285.— 13. *Melis A., Brown J.S.*— *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 1980, vol. 77, № 8, p. 4712—4716.

Статья поступила 22 ноября  
1993 г.

### SUMMARY

The effect of shading on kinetics of photoinduced redox transformations of  $P_{700}$  in leaves of two cucumber hybrids with different shade-endurance has been studied. It is shown that shading of the leaves (2-10 days) causes changes in kinetics which indicates the presence of adaptation processes affecting the functioning of electron-transport chain of chloroplasts. The shade-enduring NIIOKh-412 hybrid had the same characteristic properties in kinetics of  $P_{700}$  transformations as light-demanding hybrid Zozulya under shading.