

БИОФИЗИКА

УДК 817.3

ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И ИНТЕНСИВНОСТИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЛИСТА ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЕМПЕРАТУРЫ

Г.В. Максимов, Е.В. Тютяев*, Т.С. Колмыкова*, В.В. Ревин*

(кафедра биофизики; e-mail: gmaximov@mail.ru)

Установлено, что воздействие экстремальных температур меняет распределение и интенсивность флуоресценции пигментов листа пшеницы, что, вероятно, связано с изменением как морфологии листа, так и состояния пигментов.

Ключевые слова: фотосинтез, флуоресценция, экстремальные температуры.

Известно, что фотосинтез у растений осуществляется при оптимальных внешних и внутренних условиях (освещенность, температура, CO_2 , водный баланс, минеральное питание, концентрация пигментов и т.д.). Очевидно, что в первую очередь внешние условия воздействуют на фотосинтетический аппарат. Адаптационные возможности растения включают как иммобилизацию уже имеющихся приспособлений, так и формирование новых защитных механизмов. Вероятно, одни из них активируются как ответная реакция на любой стресс, а другие (структурные, физиологические и биохимические перестройки) могут быть следствием специфической реакции

[1—3, 6, 8—10]. В связи с этой задачей настоящего исследования была регистрация изменений распределения и интенсивности флуоресценции пигментов листа пшеницы при воздействии на растение высоких и низких температур.

Материалы и методы

Материалом исследования служили 20-дневные проростки пшеницы сортов Эскада 70 и Прохоровка. Семена в количестве 10 шт. высаживали на глубину 3 см и выращивали при 20°C (влажность 60%) с 12-часовым световым периодом (растения поли-

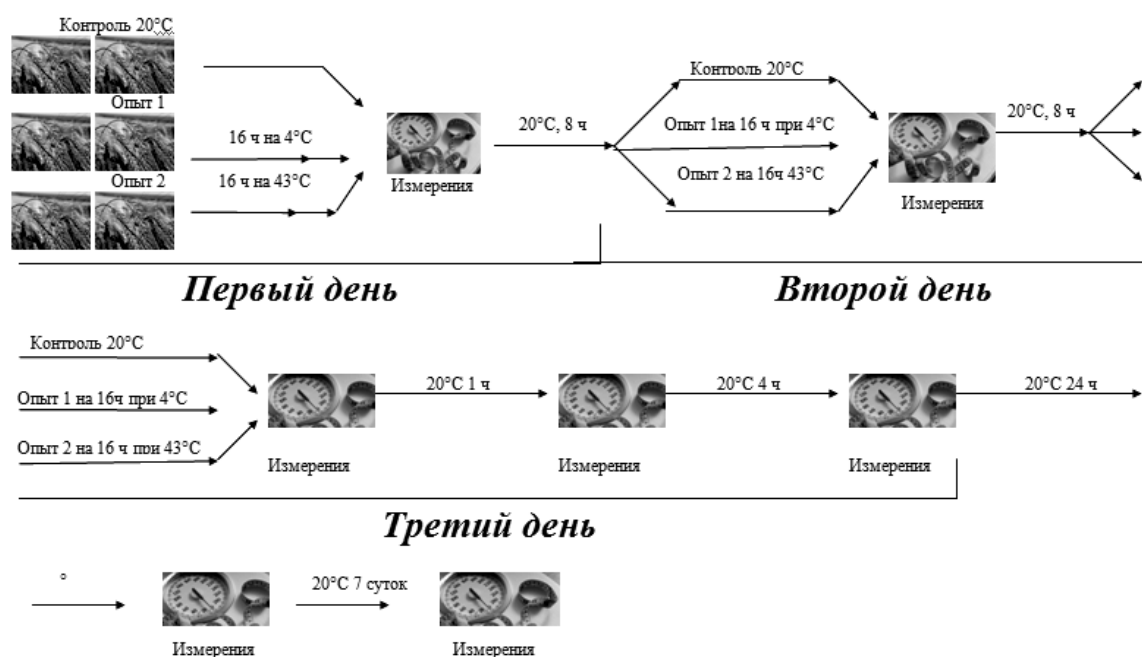


Рис. 1. Схема проведения эксперимента

* ФГБОУ ВПО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, г. Саранск.

вали один раз в день по 50—70 мл). Образцы растений выращивали до фазы третьего настоящего листа (20-й день), потом проводили эксперимент по схеме (рис. 1).

Контролем служили растения, которые выращивали при нормальных температурах. В опыте первую группу растений выдерживали при температуре 4°C 16 ч, а вторую группу помещали в климатическую камеру SANYO MLR 351H с режимом температуры 43°C, относительной влажности 60% (на 16 ч). По истечении времени экспозиции проводились измерения флуоресценции листа пшеницы. Далее все растения помещали на 8 ч в условия, при которых выращивалась контрольная группа (20°C, относительная влажность 60%). Растения помещали в описанные выше условия в течение трех дней, а затем регистрировали флуоресценцию листа в течение 1, 4, 24 ч и 7 сут с момента окончания последнего воздействия экстремальной температуры [5, 6].

Для исследования изменений флуоресценции в различных участках листа пшеницы использовали технологию оптического имиджинга (ОИ). ОИ предназначен для прижизненной (*in vivo*) визуализации живых объектов с целью изучения их клеточной и тканевой активности в режиме реального времени. Система визуализации IVIS Lumina II позволяет получить изображения при низком уровне освещенности, которые затем могут быть сохранены и отображены для последующего анализа. Флуоресцентное изображение образцов с эпископическим разрешением получают при помощи программы XFO-12 Living Image, время экспозиции составляло 60 с, фильтр Cyt5.5 (возбуждение 640 нм, излучение — 695—770 нм) (рис. 2, а).

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования было установлено, что распределение хлорофилла в листе при экстремальных условиях меняется (рис. 2, в, г), а уровень флуоресценции листа увеличивается (рис. 3).

Установлено, что у сорта Эскада 70 (рис. 4, а) уровень флуоресценции листа в первые сутки воз-

действия вырос на 31 и 20%, на вторые на 89 и 76%, на третьи (72-й час опыта) на 104 и 85%, на третьи (73-й час опыта) на 220 и 188% для температур 4°C и 43°C соответственно.

Для сорта Прохоровка (рис. 4, б) выявлено увеличение уровня флуоресценции в первые сутки воздействия температуры на 113 и 64%, на вторые 180 и 122%, на третьи (72-й час опыта) 207 и 166%, на третьи (73-й час опыта) 296 и 283% для 4°C и

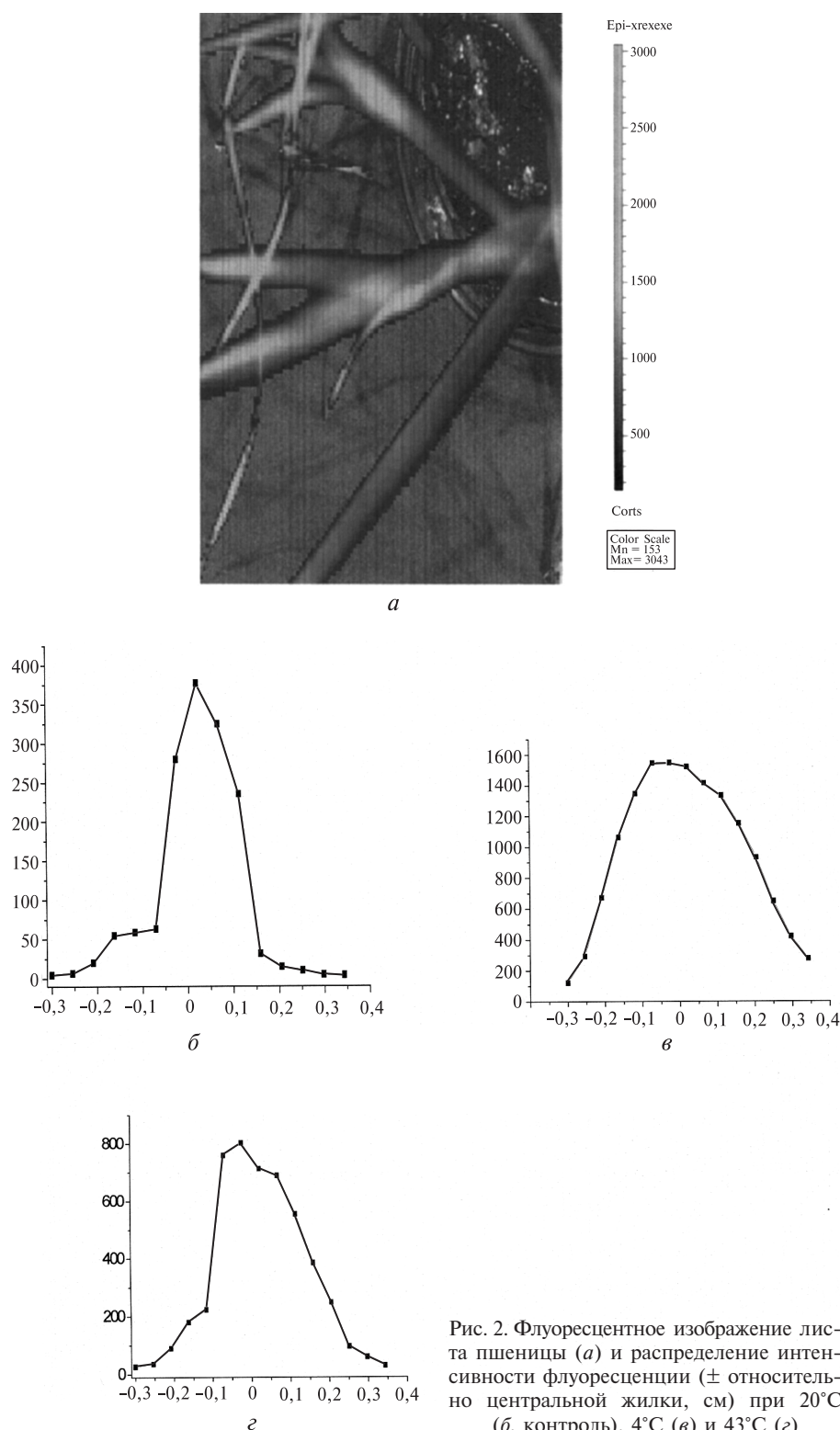


Рис. 2. Флуоресцентное изображение листа пшеницы (а) и распределение интенсивности флуоресценции ($\pm$ относительно центральной жилки, см) при 20°C (б, контроль), 4°C (г) и 43°C (з)

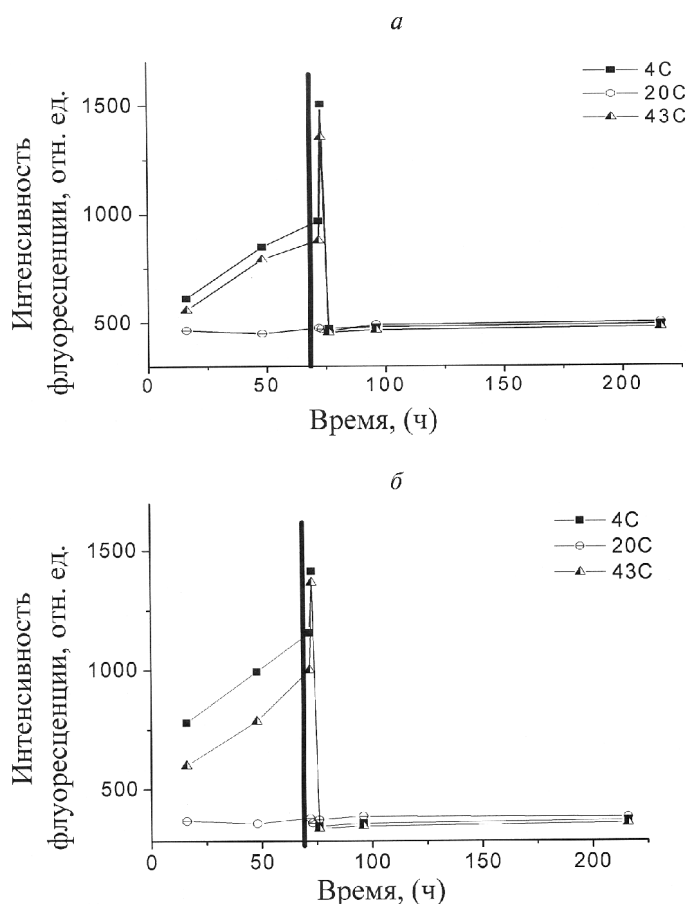


Рис. 3. Кинетика изменения флуоресценции пшеницы сорта Эскада 70 (а) и сорта Прохоровка (б) с течением времени (* $p < 0,05$); вертикальной линией отмечено окончание воздействия температуры

43°C соответственно. Уровень флуоресценции достигает своего максимума для обоих сортов через 1 ч с момента заключительного воздействия температуры (73-й час опыта), а далее уровень флуоресценции листа за четыре часа снижается до исходного состояния (76-й час опыта).

Известно, что увеличение флуоресценции листа растения при действии стресса связано с усилением перекисного окисления и увеличением количества свободных радикалов [4, 7]. Действие температуры приводит к повышению парциального давления кислорода внутри клетки и вследствие этого к повышению содержания в клетке активных форм кислорода, повреждающих ФС1 и ФС2. По-видимому, обнаруженные изменения состояния пигментов в листе проростков пшеницы являются обратимыми, поскольку после окончания воздействия поврежда-

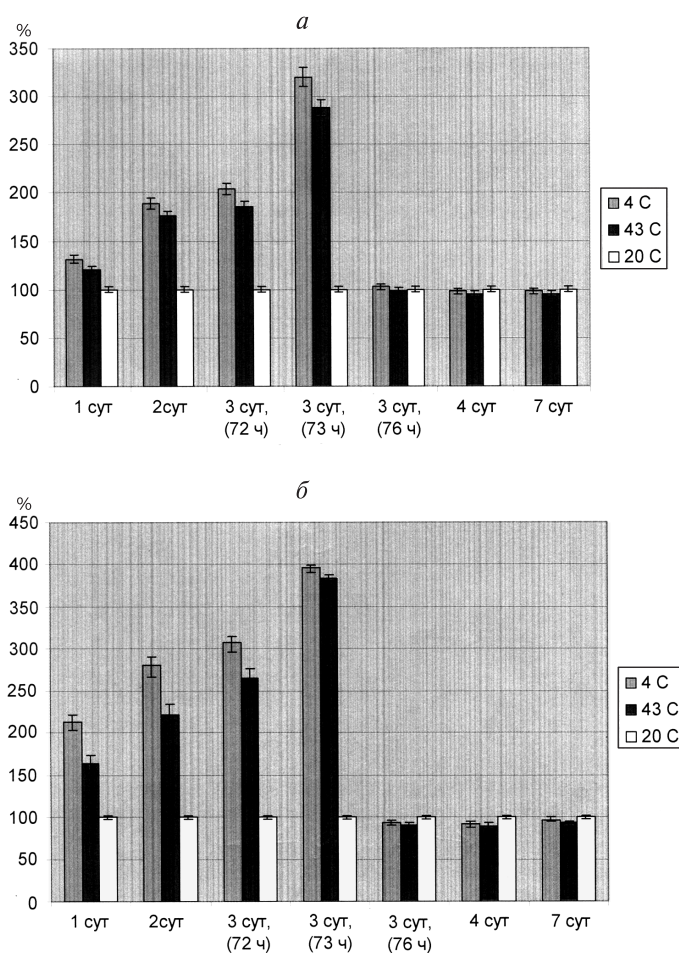


Рис. 4. Влияние температуры на величину флуоресценции листа (относительно контроля выраженное в процентах) для сорта Эскада 70 (а) и сорта Прохоровка (б) (* $p < 0,05$)

ющего фактора (температуры) интенсивность флуоресценции возвращается к исходному уровню. Установлено, что воздействию низких температур (4°C) процессы, ответственные за распределение в листе и интенсивность флуоресценции пигментов, подвержены в большей степени, нежели высоких (43°C).

Итак, в ходе проведенного исследования обнаружено, что воздействие экстремальных температур меняет распределение и интенсивность флуоресценции пигментов листа пшеницы, что, вероятно, связано с изменением как морфологии листа, так и состояния пигментов.

* * *

Исследование проведено в рамках программы ПНР-1 МГУ им. Огарёва (г. Саранск).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Maslova T.G., Popova I.A., Popova O.F. Critical evaluation of a spektrofotometrichesky method of definition carotinoids // Physiology of plants. 1986. Vol. 33. N 3. P. 615—619.

2. Shlyk A.A. About spektrofotometric definition of a chlorophyll of *a*, and *b* // Biochemistry. 1968. Vol. 33. N 2. P. 275—285.
3. Физиология фотосинтеза / Под ред. А.А. Ничипоревича. М.: Наука, 1982. 320 с.

4. Тарусов Б.Н., Веселовский В.А. Сверхслабые свечения в биологии и их прикладное значение. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1978. 148 с.
5. Журбицкий З.И. Теория и практика вегетационного метода. М.: Наука, 1968.
6. Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. М.: Колос, 1972.
7. Тарусов Б.Н., Иванов И.И., Петрусевиц Ю.М. Сверхслабое свечение биологических систем. М.: Изд-во Моск. ун-та. 1967. 70 с.
8. Теренин Т.Н. Фотоника молекул красителей. Л: Наука, 1967. 308 с.
9. Аверьянов А.А. Генерация супероксидного радикала интактными корнями гороха // Физиол. раст. 1985. № 32. С. 268—273.
10. Андрианова Ю.Е., Тарчевский И.А. Хлорофилл и продуктивность растений. М.: Наука, 2000. 135 с.

Поступила в редакцию
28.03.13

STUDY OF THE DISTRIBUTION AND INTENSITY OF FLUORESCENCE OF WHEAT LEAVES AT TEMPERATURE

G.V. Maksimov, E.V. Tyutyaev, T.S. Kolmykova, V.V. Revin

Established that exposure to extreme temperatures and changes the distribution of the fluorescence intensity of leaf pigments of wheat, which is probably due to changes in the morphology of the leaf, and the molecular state of the pigments.

Key words: *photosynthesis, fluorescence, extreme temperatures.*

Сведения об авторах

Максимов Георгий Владимирович — докт. биол. наук, проф. кафедры биофизики биологического факультета МГУ; зав. кафедрой биологического факультета МГУ им. Н.П. Огарёва (г. Саранск). E-mail: gmaksimov@mail.ru

Тютяев Евгений Владимирович — аспирант биологического факультета ФГБОУ ВПО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, г. Саранск. E-mail: biochem_mrsu@mail.ru

Колмыкова Татьяна Степановна — канд. биол. наук, доц. биологического факультета МГУ им. Н.П. Огарёва. E-mail: biochem_mrsu@mail.ru

Ревин Виктор Васильевич — докт. биол. наук, проф., декан биологического факультета МГУ им. Н.П. Огарёва. E-mail: biochem_mrsu@mail.ru