

**ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И ЗАСОЛЕНИЯ НА
ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА
C₃ И C₄ ВИДОВ РАСТЕНИЙ**

Н.Г.ГАМБАРОВА

Бакинский Государственный Университет

В предлагаемом обобщенном материале многолетних исследований, представлены результаты изучения механизмов стрессоустойчивости фотосинтетического аппарата различных генотипов C₃ и C₄ видов растений.

В природных условиях растения часто подвергаются воздействию стрессов, таких как, высокая и низкая температура, засоление, засуха и другие. В ответ на эти воздействия в растениях развиваются стрессовые реакции и угнетаются многие физиологические процессы. Одним из основных процессов, обеспечивающих устойчивость растений к стрессам, является энергообеспечивающий процесс фотосинтеза. В настоящее время механизм действия многих внешних факторов на фотосинтетический аппарат (ФА) растений во многом остается малоизученным. Особенно интересен механизм влияния на фотосинтез экстремальных температур и засоления. Известно, что фотосинтез происходит в хлоропластах, поэтому целостность и состояние мембран, а также эффективность функционирования фотосистем (ФС) имеет ключевое значение в устойчивости растений к неблагоприятным условиям окружающей среды.

Чаще всего снижение фотосинтеза в условиях стресса связывают с инактивацией ФС 2 как на донорной, так и на ее акцепторной сторонах. В результате нарушается сопряженность между фотосистемами [21], приводящая к снижению активности никотинамиддинуклеотидфосфат (НАДФ) - восстанавливающей системы и реакций выделения кислорода водоокисляющим комплексом (ВОК) [2].

Кроме влияния на транспорт электронов стрессовые факторы вызывают изменения в активности темновых процессов фотосинтеза. Снижение активности карбоксилирующего фермента цикла Кальвина–Рубиско [17], приводит к подавлению транспорта электронов на НАДФ и активации переноса электронов на кислород с образованием активных форм кислорода (АФК), которые приводят к изменению активности антиоксидантных (АО)-систем и увеличению процесса фотодыхания [22].

В настоящем исследовании при изучении механизмов устойчивости ФА к экстремальной температуре и засолению были использованы листья и хлоропласты следующих растений: бобов (*Vicia faba L.*), пшеницы (*Triticum aestivum L.*),

ячменя (*Hordeum vulgare* L.), амаранта (*Amarantus tricolor* L.), в которых спектрофотометрически определялись содержание пигментов и белков, фотовосстановительная активность акцепторов электронов (НАДФ, Дихлорфенолиндофенол (ДХФИФ)), активность ферментов.

Действие высокой температуры. Одним из показателей эффективности фотосинтетического электронного транспорта в хлоропластах, является изменение скорости восстановления НАДФ. Сравнительное изучение переноса электронов с образованием НАДФН в условиях действия повышенной температуры (38-42°C) в сортах пшеницы, отличающихся теплоустойчивостью [7], показало большую устойчивость к температуре НАДФ – восстанавливающей системы у сортов пшеницы южного происхождения (Шарг, Севиндж и др.) в сравнении с северными (Московская-35, Родина и др.), что было обусловлено более высоким содержанием (табл.1) и термоустойчивостью [6] компонентов акцепторного участка фотосистемы I – ферредоксина и пластоцианина.

Таблица 1

Действие повышенной температуры на содержание компонентов ЭТЦ в хлоропластах различных сортов пшеницы

Сорта пшеницы	$P700^+ \cdot 10^{14}$ г ⁻¹ сырой массы	ХлР700 ⁺	мг белка на 100 г сырой массы		МкМоль НАДФ*Н мг ⁻¹ Хл в час
			Фд	Пц	
Шарг	18	430	4,7±0,4	2,9±0,2	177,0±3,1
Севиндж	13	470	3,5±0,3	2,5±0,3	160,0±4,1
Московская-35	18	440	3,7±0,3	2,4±0,2	103,0±3,2
Родина	19	460	2,9±0,2	2,1±0,2	91,0±3,1

В экстремальных условиях, в результате инактивации ФС 2, происходит нарушение сопряжения в работе ФС I и ФС 2 [21], которое может быть временным и тогда в этих условиях ФС I может функционировать, если в хлоропластах существует альтернативный воде донор электронов.

В ряде работ отмечена способность аскорбата замещать воду в хлоропластах [15], имеющих разрушенную мембрану [19]. Нами показано [7], что в модельной системе использование физиологических концентраций аскорбата (50 мМ) в присутствии диурона, а также при повышенной температуре, инактивирующей ФС 2, скорость восстановления НАДФ хлоропластами различных сортов пшеницы сравнима с электронным транспортом на НАДФ, когда донором служит вода (табл.2), причем использование аскорбата, как донора электронов в хлоропластах различных сортов пшеницы, неодинаково возрастала в зависимости от длительности их инкубации с аскорбатом.

Одним из регуляторных механизмов, оптимизирующих распределение энергии между фотосистемами, является миграция ССК-II ФС 2 в ответ на повышенную температуру без расстыковки гран [1,10]. В других работах отмечается, наоборот, нарушение в этих условиях гранальности тилакоидной мембраны [12]. Проведенное изучение [3,5] активности транспорта электронов в различных сортах пшеницы, отличающихся термостабильностью при действии теплового стресса (40°C, 10 минут) позволило обнаружить у неуст. сорта. Московская-35 усиление обоих электронных потоков к ФС I (рис.1), которая может

располагаться как в межгранных областях, так и по краям стопок мембраны гран. [10]

Таблица 2

Влияние аскорбата на скорость восстановления НАДФ в различных сортах пшеницы (мкмоль НАДФ*Н на мг⁻¹ хл. час)

Сорта	Скорость восстановления НАДФ				
	С нативными хлоропластами			С прогретыми хлоропластами 10 минут при 45°C	
	От H ₂ O	В присут. аскорбата (50 мМ)	В присут. диурона (5мМ) и аскорбата (50мМ)	В присут. аскорбата (50мМ)	В отсутствии аскорбата
Родина	81,7±2,3	61,1±2,3	81±1,9	79,5±1,9	0
Московская-35	72,1±1,5	64,2±1,1	70±1,1	65,1±1,1	0
Шарг	99,7±2,0	100±2,1	101±2,1	108±1,1	19±0,1
Севиндж	84,9±2,1	84±2,0	82,1±2,0	92±2,0	9±0,2

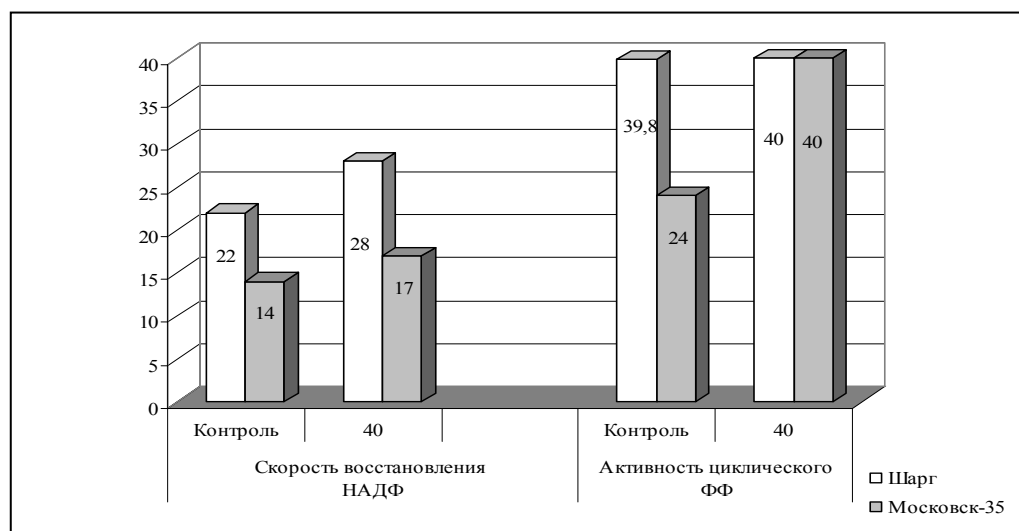


Рис.1. Влияние повышенной температуры реакционной среды на скорость восстановления НАДФ (мкмоль НАДФ на мг⁻¹ хл. час) и циклического фотофосфорилирования (ФФ) (мкмоль неорганического фосфата на мг⁻¹ хл. час).

Сопоставление изменений активностей транспорта электронов с ультраструктурными показателями (табл.3) выявило, что у устойчивого к температуре сорта Шарг происходит взаимодействие с ФС I больше в межгранной области, а у сорта Московская-35 как по краям стопок гран, так и в межгранном пространстве, что может иметь адаптивное значение в приспособлении ФА к высокой температуре [12].

Таблица 3

Действие температуры на морфометрические показатели хлоропластов различных сортов пшеницы

Вариант	Показатель Площадь на срезе, мкм ²	Контроль	Прогрев при 40°С
Сорт Шарг	Гранных состыкованных	92,3	91,1
	Гранных краевых	29,4	17,4
	Межгранных	41,8	60
	Отношения состык./несост.	1,29	1,17
Сорт Московская-35	Гранных состыкованных	92,0	92,3
	Гранных краевых	29,7	41,7
	Межгранных	40,9	55,3
	Отношения состык./несост.	1,30	1,1

Действие различных концентраций хлоридного засоления. Согласно литературным данным [11] высокая концентрация NaCl снижает перенос электронов от воды к НАДФ, в результате чего усиливается транспорт электронов на кислород с образованием АФК. В этих условиях для снижения окислительных реакций в клетке активируется процесс фотодыхания. Характер взаимосвязи между этими процессами в настоящее время остается не ясным и требует дополнительных исследований.

Изучение скорости восстановления НАДФ в сортах ячменя, отличающихся солеустойчивостью, обнаружило в обоих сортах с повышением концентрации соли, заметное снижение фотовосстановительной активности (ФВА) в весенний период вегетации (рис. 2).

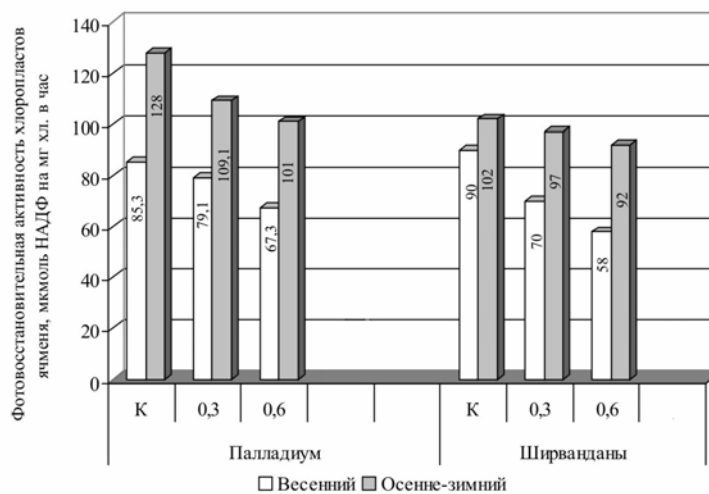


Рис.2 Фотовосстановительная активность хлоропластов ячменя, выращенных при различных концентрациях NaCl в весенний и осенне-зимний периоды (мкмоль НАДФ на мг⁻¹ хл·час)

Исследование активности гликолатоксидазы (ГО) в обоих сортах ячменя показало его ощутимое увеличение в летний период вегетации (рис. 3). Различие между сортами в активности ГО состояло в ее возрастании с повышением концентрации соли у солеустойчивого сорта Палладиум, тогда как у неустойчивого

(Ширванданы) при 0,6% засолении наблюдалось снижение, которое составило 66% от контроля, что возможно связано как с увеличением содержания белка в этих условиях, так и генетически обусловленными конформационными изменениями фермента.

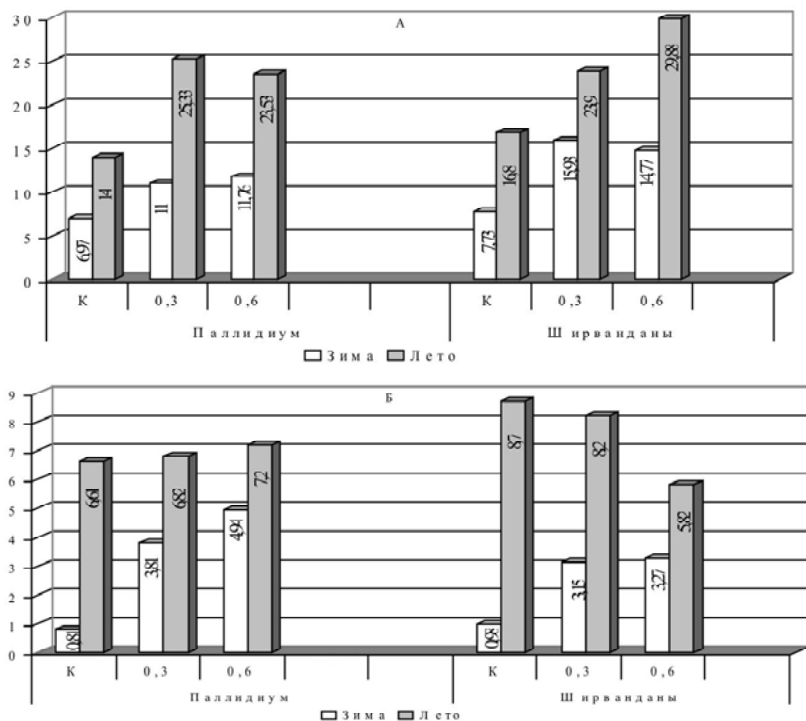


Рис.3 Активность ГО и содержание водорастворимых белков в различных сортах ячменя в условиях засоления. А – содержание белков на 1 г сырой массы (в мг), Б – количество поглощенного O₂ (в молях) в течение 3 мин. на мг белка

Одним из наиболее уязвимых звеньев фотосинтеза в условиях засоления является ФС 2 [13], на донорной стороне которой мишенью для повреждений является ВОК [11], инактивация которого обусловлена потерей ионов марганца и некоторых белков, связанных с ВОК, в результате чего подавляется поток электронов в фотосинтетической цепи.

В проведенном изучении [7] действия засоления на фотохимические реакции выделения кислорода в хлоропластах, выделенных из проростков ячменя, выращенных при различных концентрациях NaCl, было выявлено как ингибирование электронного транспорта, измеренного по восстановлению ДХФИФ (42,3% от контроля при 100мМ NaCl), так и числа центров выделения кислорода (18,8% от контроля при 100мМ NaCl) (табл.4). Более значительное, в сравнении с подавлением электронного транспорта, ингибирование числа центров выделения кислорода можно объяснить разницей в изменении активностей вышеприведенных показателей в стромальных и гранальных частях хлоропластов, так как существует мнение [10], что выделение кислорода в солевых условиях в

стромальных частях хлоропластов, по сравнению с гранальными, является доминирующим.

Таблица 4

Действие засоления на число центров выделения кислорода и фотохимическую активность хлоропластов

Варианты	S ₀ +S _i (%)	Промахи (α)	Двойные удары и попадания (β)	Активность реакции Хилла (%)	Отн. Хл а/в
Контроль	100	0,20±0,02	0,035±0,01	100	2,68
25мМ NaCl	34,5	0,18±0,02	0,041±0,01	93,5	2,66
50 мМ NaCL	38,0	0,20±0,03	0,048±0,01	86,0	2,64
100мМ NaCL	18,8	0,20±0,03	0,053±0,01	42,3	2,58

Как показывают исследования [11] действие высокой температуры и засоления в той или иной степени усиливают образование АФК. Однако их накоплению и нейтрализации препятствует антиоксидантная система, состоящая из ферментов и низкомолекулярных соединений [11,16]. Среди антиоксидантов есть и пигменты, к которым относят выделенный из краснолистных видов амаранта алкалоид – амарантин [8]. В настоящее время недостаточно изучены протекторные АО свойства амарантина при неспецифическом окислительном стрессе растений.

У растений пшеницы с. Московская – 35 и амаранта с. Валентина была исследована [2] реакция на окислительный стресс, при действии 300 мМ NaCl в течение 3-х суток. Листья растения амаранта в отличие от пшеницы более эффективно противостояли накоплению АФК благодаря высокому содержанию антиоксиданта амарантина, который как было показано способен обезвреживать супероксиданион радикал, подобно супероксидсмутазе (СОД), большее снижение которой в листьях амаранта (рис.4) можно объяснить компенсаторным действием амарантина [8].

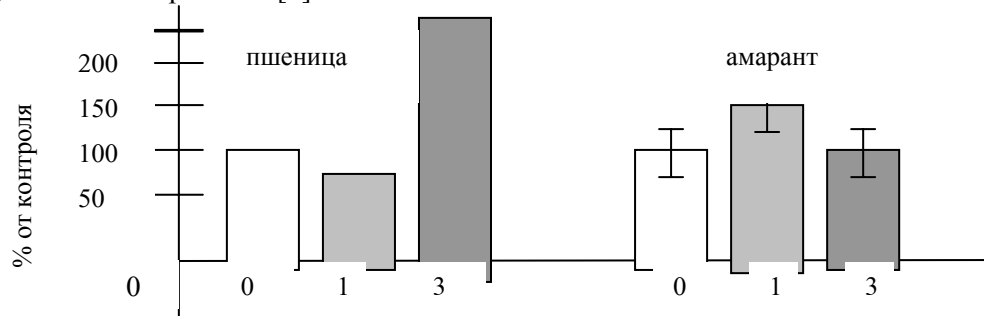


Рис. 4. Влияние засоления (300мМ NaCl) на активность СОД в листьях пшеницы и амаранта

Действие высокой температуры и засоления.

При изучении адаптивных структурных перестроек функциональных комплексов мембранных систем к стрессовым условиям, особое внимание уделяется изменению липидного и белкового состава. Однако, вопросы стабилизации структуры функциональных комплексов рассматривались редко.

Исследование внутримембранных структурных перестроек функциональных комплексов методом дифференциальной сканирующей колориметрии мембран хлоропластов бобов [9] при их прогреве в интервале температур от 40 до 100°C выявило 9 структурных переходов, сопровождающихся увеличением максимумов теплоемкостей при 42, 54, 61, 66, 73, 78, 83, 87 и 92°C (рис.5).

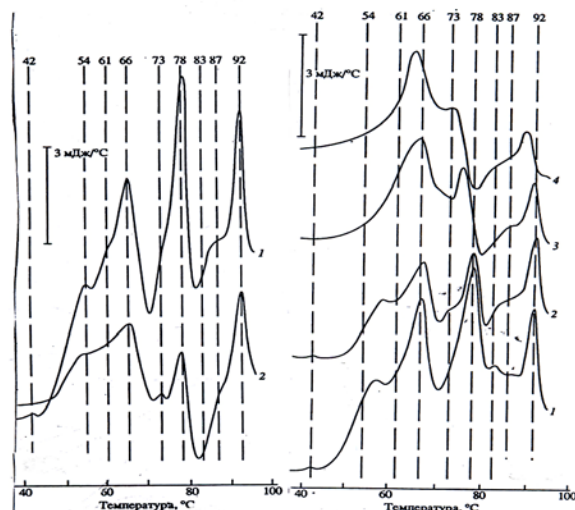


Рис. 5. Эндотермические структурные переходы в мембранах хлоропластов. 1 – исходные хлоропласты, 2 – хлоропласты после обработки раствором ЭДТА.

Поскольку фазовые переходы липидов происходят при температурах ниже 40°C предполагается, что термограммы отражают распад и денатурацию белковых комплексов.

Обработка тилакоидов раствором ЭДТА приводила к удалению из мембран сопрягающего фактора (СФ₁) АТФазного комплекса и отражалась на термограмме снижением теплоемкостей при 78°C (рис.5), который вероятно соответствует структурному переходу сопрягающего фактора АТФазы.

Экспозиция растений в течение суток при 35°C приводила к перераспределению теплоемкостей в диапазоне от 61 до 78°C (рис.6).

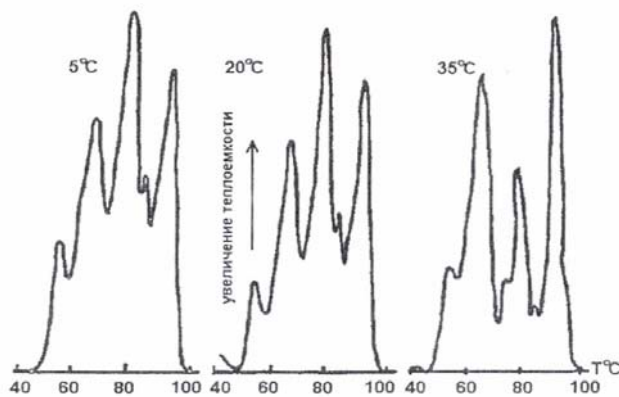


Рис. 6. Термограмма тилакоидной мембраны хлоропластов бобов, адаптированных к различным температурам.

В то же время в условиях засоления вклад теплоемкостей этих переходов сохранялся независимо от температурного воздействия (таблица 5), что свидетельствует о стабилизирующем эффекте предварительной адаптации растений к повышенной концентрации NaCl в устойчивости мембран хлоропластов к неоптимальной температуре.

Таблица 5

Структурные переходы растений, адаптированных к различным температурам в условиях засоления (в % от суммарной теплоемкости)

Условия адаптации	Структурные переходы								
	M42	M54	M61	M66	M73	M78	M83	M87	M92
5°C +NaCL	±	8	12	12	13	21	3	11	19
20°C + NaCL	±	6	8	16	9	25	9	4	23
35°C +NaCL	±	7	8	19	11	27	6	7	15

± - Вклад перехода M42 менее 1%.

Таким образом, увеличение или уменьшение теплоемкости структурного перехода свидетельствует не только и не столько об изменении количества компонентов, осуществляющих этот переход, но и о количестве энергии, необходимой для этого перехода, а следовательно об изменении их структурной организации и устойчивости.

Итак, фотосинтез как интегральный процесс является чрезвычайно чувствительной функцией растений к изменениям окружающей среды. Вопрос о первичности и наибольшей уязвимости какого-либо звена фотосинтеза в стрессовых условиях, в настоящий момент остается открытым. Однако установлено [16], что общей особенностью являются фотодеструктивные изменения в мембранной системе хлоропластов, где происходит генерация АФК, против аккумуляции и нейтрализации которых в клетке возникают механизмы защиты посредством изменения активности транспорта электронов, ферментной системы, а также деятельности АО систем, что в итоге способствует адаптации растительных организмов к действующим стрессам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамаюнова Х.С., Кочубей С.М., Островская Л.К., Рейнгард Т.А., Силаева А.М. Фотохимическая система хлоропластов. Киев, Наукова думка, 1995, стр.206-211.
2. Гамбарова Н.Г. Ответ антиоксидантной системы C₃ и C₄ видов растений на солевой стресс. В прилож. к журналу «Плодородие», 2007, №4(37), стр.10-11.
3. Гамбарова Н.Г. Температурная регуляция электронного транспорта в хлоропластах различных сортов пшеницы. IV Международная научно-практическая конференция, 2002, Т1, с.301-303.
4. Гамбарова Н.Г., Мазанова С.Д. Фотовосстановление НАДФ, активность гликолатоксидазы и ростовые процессы растений ячменя при хлоридном засолении. В сб. Физиолого-биологические аспекты устойчивости растений, Баку, 1990, стр.38-43.
5. Гамбарова Н.Г. Связь регуляторных механизмов со структурными изменениями хлоропластов в условиях действия высокой температуры. В сб. «Актуальные проблемы современной биофизики», Баку, 2002, стр.76-82.

6. Гамбарова Н.Г., Гинс В.К., Рустамова М.З. Устойчивость молекулярной структуры ферредоксина, пластоцианина, ферредоксин-НАДФ-редуктазы к температурным воздействиям. В сб. «Повышение устойчивости растений», Баку, 1988 г., стр.79-84.
7. Maslenkova L., Gambarova N., Miteva T., Zanev Yu. Changes in oxygen evolving activity of barley plants grown under NaCl salinity. ДБАН 1991, т. 44, №8, стр. 103-105.
8. Гинс М.С., Кропова Ю.Ш. Антиокислительная активность амарантина и СОД в листьях амаранта. Вестник РУДН, сер. с/х науки, Агрономия, 2004, №11, стр.114-118.
9. Дзюбенко В.С., Гасанов И.А., Гамбарова Н.Г. Термоиндуцированные структурные переходы в мембранах хлоропластов бобов. I число и температуры максимумов теплоемкости переходов. Физиология растений, 1994, Т41, №4, стр.653-660.
10. Рубан А.В., Трач В.В. Термоиндуцированная реорганизация мембранной системы хлоропластов при кратковременном прогреве. Докл. АН СССР. 1989, т. 309. № 4. стр. 988.
11. Креславский В.Д., Карпентьер Р., Климов В.В, Мурата Н., Аллахвердиев С.И. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу, Биологические мембраны, 2007, Т.24, №3, с.195-217.
12. Шаркова В.Е., Буболо Л.С. Влияние теплового стресса на структуру тилакоидной системы хлоропластов в клетках зрелых листьев пшеницы. Физиология растений, 1996, Т.43, №3, стр.409-417.
13. Allahverdiyev S.I., Sakamoto A., Nishiyana Y., Inaba M., Muraa N. Ionic and osmotic effects of NaCL-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp.// Plant Physiol. 2000, V.123, p.1047-1056.
14. Bukhov N., Egorova E., Carpentier R. Electron flow to photosystem I from stromal reductants in vivo: the size of the pool of stromal reductants controls the rate of electron donation of both rapidly and slowly reducing photosystem I units // Planta, 2002, V.215, p.812-820.
15. Dodge A.D., Harriz W., Morgan L.A. Ascorbate photooxidation by chloroplasts isolated from leaves. Photochemistry, 1972, 11, 5, 1681-1683.
16. Foyer C.H., Noctor D. Oxidant and antioxidant signaling in plants: are-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. Plant Cell and Environment, 2005, Vol.28, p.1056-1071.
17. Feller U., Grafts-Brander S.I., Salvucci M.E. Moderately high temperatures inhibit ribulose-1.5-biphosphate carboxylase / oxygenase (Rubisco) activase-mediated activation of Rubisco // Plant Physiol, 1998, V.116, p.539-546.
18. Jeanjean R., Matthijs H.C.P., Onana B., Navaux M., Joset F. Exposure of the cyanobacterium *Synechosystis* sp. PCC 6803 to salt stress induces concerted changes in respiration and photosynthesis// Plant Cell Physiol. 1993, v.34, p.1073-1079.
19. Mano J., Higid E., Asada K. Ascorbate in Thylakoid Lumen Functions as an Alternative Electron Donor to Photosystem II and Photosystem I. Arch. Biochem. Biophys. 2004, v.429, p.71-80.
20. Schubert H., Hagemann V., Salt effects on 77K fluorescence and photosynthesis in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC. 6803 // FEMS Microbiol. Lett. 1990, v.71, p.169-172.
21. Pastenes C., Norton R. Effect of high temperature on photosynthesis in beans // Plant Physiol. 1996, v.112, p.1245-1251.
22. Wang W., Vinocur B., Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: toward genetic engineering for stress tolerance, Planta, 2003, v.218, p.1-14.

**C₃ VƏ C₄ NÖV BİTKİLƏRİN FOTOSİNTETİK APARATININ FUNKSIONAL
FƏALLIĞINA EKSTREMAL TEMPERATURUN
VƏ DUZLAŞMANIN TƏSİRİ**

N.Q.QƏMBƏROVA

XÜLASƏ

Uzun illər ərzində aparılan tədqiqatların təqdim olunmuş ümumiləşdirilmiş materialında müxtəlif genotipli C₃ və C₄ bitkilərin fotosintetik aparatının stressə qarşı davamlılığının mexanizminə dair nəticələr təsvir edilmişdir.

**EFFECTS OF EXTREMAL TEMPERATURE AND SALINIZATION ON
THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE FOTOSYNTHETIC APPARATUS
OF C₃ AND C₄ PLANTS**

N.Q.QAMBAROVA

SUMMARY

The results of studying of the mechanisms of the stress-stability of the photosynthetic apparatus of C₃ and C₄ plants with different genotypes were presented in the proposed generalized source carrying during many years.