

## **ПОРІГ ФОТОІНГІБУВАННЯ ФОТОСИНТЕЗУ ЯК КРИТЕРІЙ ГЕЛІОФІЛЬНОСТІ РОСЛИН**

Метод індукції флуоресценції хлорофілу *a* - інформативний індикатор, що характеризує світлові реакції фотосинтезу. Величина фотохімічного гасіння ( $qP$ ) флуоресценції хлорофілу *a* була використана для оцінки порогу фотоінгібування фотосинтезу. Настання світлового стресу визначали як істотне зниження фотохімічного гасіння ( $qP < 0,6$ ). Поріг фотоінгібування фотосинтезу для рослин, що виростили в умовах часткового затінювання, був в межах  $140 - 630 \text{ мкмольм}^{-2} \text{ с}^{-1}$ , тоді як для рослин з більш освітлених ділянок, складав  $750 - 1500 \text{ мкмольм}^{-2} \text{ с}^{-1}$ . Показано, що оцінка порогу фотоінгібування фотосинтезу методом індукції флуоресценції хлорофілу *a* може бути кількісним показником відношення рослин до світлового чинника.

*Ключові слова:* екофізіологія, флуоресценція хлорофілу, фотоінгібування, геліофільність

У багатьох ботанічних дисциплінах виникає потреба використання екологічних даних, які широко застосовують для фітоіндикації, а також, зокрема, для класифікації і ординації рослинності. Коротко фітоіндикацію можна визначити як “визначення по рослинності дискретних класів середовища” [1]. Одним з найбільш поширених підходів екологічного аналізу є шкально - бальна оцінка середовища і, відповідно, така ж оцінка толерантності видів [2,3,7]. Індикація режиму фактора середовища дається по превалюючих видах для цієї градації. Число факторів в різних авторів різне і в різних дослідженнях наводяться різні їх поєднання. Завжди види характеризують за вологістю, трофністю і кислотністю ґрунтів, в більшості випадків наводяться числа по вмісту азоту для ґрунтів, температурі і континентальності клімату, часто відношення до світла та деякі інші. Різні автори використовують різне число градацій для кожного фактора, а також різне число балів для оцінки толерантності виду. Що стосується світлового фактору, то його градація, в багатьох випадках, достатньо схематична.

Одним із центральних завдань екології рослин є розкриття причин в розподілі і багатстві видів. Екофізіологи досліджують як різноманітні морфологічні і фізіологічні характеристики дозволяють рослині виживати і успішно конкурувати в певних оточеннях, але не в інших.

Фотосинтез відіграє центральну роль у життєдіяльності рослинного організму, забезпечуючи його енергією, здатністю до репродукції і боротьби за існування. Фотосинтетична активність рослин є тим механізмом, за допомогою якого ресурси вводяться в екосистему. Фотосинтез суттєво залежить від кількості і якості світла, що досягає листкової пластинки зеленої рослини. Останнім часом для виявлення екофізіологічних імпринтів фотосинтетичного потенціалу рослин почали застосовувати метод індукції флуоресценції хлорофілу *a* [9].

Метою роботи було використання методу індукції флуоресценції хлорофілу *a* для експресної оцінки ступеня адаптованості фотосинтетичного апарату (ФСА) до рівня світлового фактора.

### **Матеріал і методика досліджень**

Рослинний матеріал збирали впродовж червня - липня 2006 року в урочищі Кожум'яки в м. Києві. Трав'янисті рослини викопували не пошкоджуючи кореневої системи, поливали, а пагони деревних видів відділяли від рослин, занурювали у воду і протягом 30-40 хв. доставляли в лабораторію.

Для дослідження були взяті наступні рослини: *Oxalis acetosella* L. (Кислиця звичайна), *Dryopteris carthusiana* (Vill.) Н.Р. Fuchs. (Щитник шартський), *Cerasus vulgaris* L. (Вишня звичайна), *Adiantum sp.* L. (Адіантум), *Aegopodium podagraria* L. (Яглиця звичайна), *Convallaria*

*majalis* L. (Конвалія звичайна), *Robinia pseudoacacia* L. (Акація біла), *Helianthus lactiflorus* Pers. (Соняшник яскравоквітковий), *Elytrigia intermedia* (Host) Nevsky. (Пирій середній), *Lamium maculatum* (L.)L. (Глуха кропива крапчаста), *Rumex stenophyllus* Ledeb. (Щавель вузьколистий), *Taraxacum officinale* Webb ex Wigg. (Кульбаба лікарська).

Флуоресценцію хлорофілу *a* в листках вимірювали за допомогою ХЕ-РАМ флуорометра ("Walz", Німеччина) за кімнатної температури. Для збудження флуоресценції хлорофілу *a* модульований світловий потік імпульсної ксенонової лампи пропускали крізь синьо-зелений фільтр BG-39 (5 мм, Schott). Листки адаптували до темряви протягом 10 хв. Мінімальний рівень флуоресценції адаптованих до темряви ( $F_0$ ) та світла ( $F'_0$ ) листків визначали при дії модульованого (2 Гц) світла низької інтенсивності ( $\sim 0,1$  мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$ ). Індукцію флуоресценції хлорофілу *a* ініціювали актинічним (діючим) світлом різної густини потоку фотонів. Максимальний рівень флуоресценції адаптованих до темряви ( $F_m$ ) та світла ( $F'_m$ ) листків визначали при дії насичуючого імпульсу (1 сек) галогенної лампи густиною потоку фотонів 5000 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$ . Рівень фотохімічного гасіння флуоресценції хлорофілу *a*,  $qP$  ( $qP = F'_m - F_s / (F'_m - F'_0)$ ) визначали за [12]. Визначення порогу фотоінгібування за рівнем  $qP$  проводили на 3-4-х листках, взятих не менше ніж з 2-х рослин з близьких місцезростань.

### Результати досліджень та їх обговорення

За умов, коли світловий потік перевищує рівень, необхідний для насичення фотосинтезу, виникає висока ймовірність фотоінгібування ФСА. Фотоінгібування визначають як світлозалежну редукцію ефективності фотосинтезу, яка проявляється, як правило, в екстремальних умовах [11]. Це явище пов'язане, перш за все, з пошкодженням комплексів фотосистеми II (ФСII) активними формами кисню, що генеруються при поглинанні рослинами надлишкового світла [4]. Найефективнішим механізмом захисту від фотоінгібування є нефотохімічна (теплова) дисипація надлишку енергії квантів світла, поглинутих світлозбиральними комплексами ФСII, яку відслідковують, як правило, за гасінням флуоресценції хлорофілу *a* ФСII, оскільки теплова дисипація збудженого хлорофілу конкурує з флуоресценцією і фотохімією [10]. Для більшості фізіологічних умов, головний компонент нефотохімічного гасіння, так зване  $qE$  гасіння, відбувається в антені і залежить від енергізації тилакоїдної мембрани [8]. Дисипація світлової енергії в тепло – швидкий процес, в якому може бути розсіяно 70–80 % поглиненої енергії [6]. Головним регуляторним сенсором, здатним відчувати надлишок світлової енергії, є рівень транстилакоїдного  $\Delta pH$  [8], який безпосередньо активує ксантофіловий цикл,  $qE$  гасіння. Одним з емпіричних критеріїв фотоінгібування ФСА рослин є зниження величини фотохімічного гасіння флуоресценції хлорофілу ( $qP$ ) нижче ніж 0,6 [8].  $qP$  відображає ступінь окисненості пластохінонового пула  $Q_A$ , тобто долю "відкритих" центрів ФСII за даних умов освітленості.

На рисунку наведена залежність рівня  $qP$  від густини потоку фотонів актинічного світла для листків різних рослин. Отримані дані показали, що фотоінгібування ФСА тіньолюбних рослин (*Dryopteris carthusiana*, *Adiantum sp.*, *Convallaria majalis*) відбувається при нижчій (140 – 450 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$ ) густині потоку фотонів, порівняно із світлолюбними видами (*Oxalis acetosella*, *Cerasus vulgaris*, *Aegopodium podagraria*, *Robinia pseudoacacia*, *Helianthus laetiflorus*, *Elytrigia intermedia*, *Lamium maculatum*, *Rumex stenophylleis*) (Табл.). Для останніх діапазон фотоінгібування коливався від 750 до 1500 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$ . Необхідно відмітити, що для таких рослин як *Aegopodium podagraria*, *Helianthus laetiflorus* і *Rumex stenophylleis* зниження ефективності фотосинтезу вимагало значно вищої інтенсивності діючого світла (рис). Значення параметру  $qP$  при даній щільності потоку фотонів було вищим за 0,6.

Для характеристики екологічних умов і розмаху толерантності рослин до цих умов з 30-х років 20 століття почали застосовувати шкально - бальні оцінки. [2, 3.7]. Проводиться градація рівнів (шкалування) екологічних факторів (температурний режим, вологість, багатство ґрунту, засолення, освітленість) та встановлюються межі толерантності видів згідно цих рівнів. Циганов, наприклад, використовує 9-бальну шкалу рівнів світлового фактора [7]. Згідно цієї шкали рослини розміщуються за принципом зменшення світлолюбності і зростання

тіневитривалості. Найменший бал отримали рослини відкритих просторів, тоді як рослини тіньових місць зростання характеризуються найвищим балом. В табл. наведені дані по порогу інгібування та межі толерантності за фітоіндикаційною шкалою освітленості – затіненості Циганова [7]. Як видно з таблиці отримані нами дані по інгібуванню фотосинтезу добре кореспондуються з оцінками геліоморфності за шкалою Циганова [7].

Характерні ознаки, що визначають фенотип, мають генетичну природу, проте, енвайрментальні фактори обумовлюють саме певну реалізацію фенотипу. Ряд видів мають генетично обумовлений світловий або тіньовий фенотип. Однак, багато видів завдяки великій внутрішній пластичності продукують світловий або тіньовий фенотипи в залежності від умов оточення.

Рівень освітлення під шатром лісу, на відміну від інших екологічних факторів, має дуже динамічний характер. Головними факторами, що визначають динаміку освітлення, є денна і сезонна зміна кута нахилу сонця та вітер, що постійно варіює мозаїку “вікон” у кронах верхніх ярусів.

Фотосинтез є суттєво інтегрованим і регульованим процесом, чутливим до змін умов оточення через необхідність тонко балансувати світлову енергію, поглинуту фотосистемами з енергетичними потребами метаболізму. Добре відомо, що рослини, які зростають в конкретних умовах, адаптують перебіг фотосинтезу саме до цих умов [13].

Параметри індукції флуоресценції хлорофілу, зокрема рівень фотохімічного гасіння (qP), дає можливість експресної оцінки ступеня геліофільності фенотипу, сформованого саме в конкретних місцезростаннях. Так, наприклад, ФСА *Convallaria majalis* (табл.), сформований в умовах більшого затінення, показує нижче значення порогу інгібування, порівняно з рослинами, взятими з більш освітленої частини ділянки зростання. Необхідно відмітити також добре відомий факт, що стресові чинники різної природи впливають на функціональні характеристики перебігу фотосинтетичного перетворення [5].

Таким чином, величина порогу фотоінгібування, отримана за показниками індукції флуоресценції хлорофілу *a* може слугувати кількісним критерієм відношення рослин до світла.

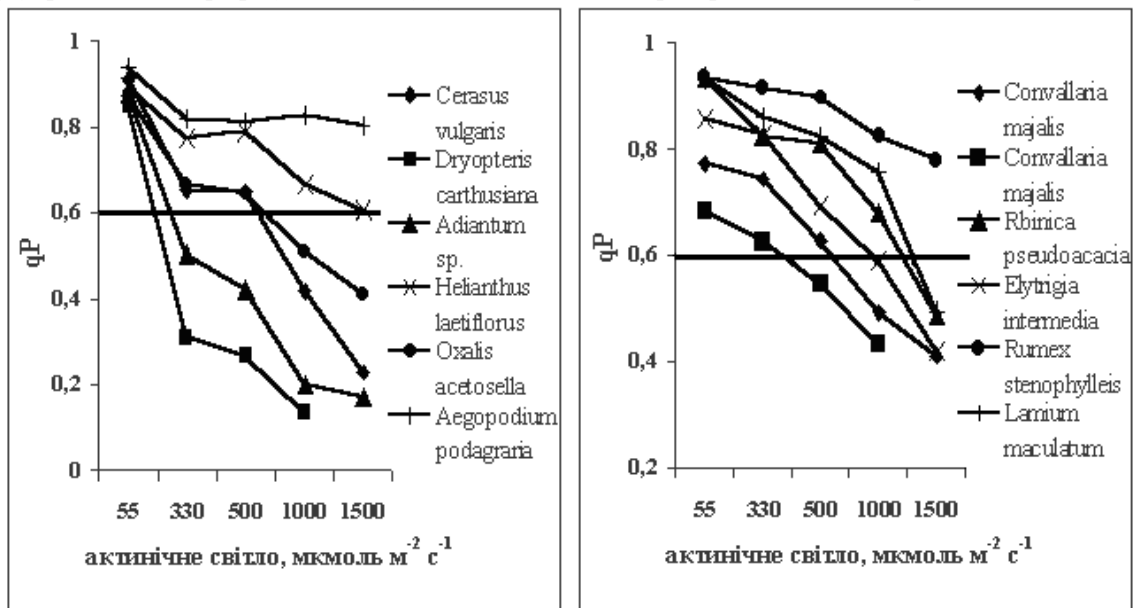


Рис. Вплив інтенсивності актинічного світла на величину фотохімічного гасіння флуоресценції хлорофілу (qP).

Поріг фотоінгібування різних видів рослин за величиною фотохімічного гасіння флуоресценції хлорофілу (qP)

Вид	Поріг фотоінгібування, мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>	Межі толерантності за Цигановим [4]
<i>Dryopteris carthusiana</i> (Vill.) Н.Р. Fuchs. (Щитник шартський)	140 – 210	3 – 9
<i>Adiantum sp.</i> (Адіантум)	220 – 280	3 – 7
<i>Convallaria majalis</i> L. (Конвалія звичайна)*	360 – 420	3 – 7
<i>Convallaria majalis</i> L. (Конвалія звичайна)	570 – 630	3 – 7
<i>Oxalis acetosella</i> L. (Кислиця звичайна)	640 – 700	3 – 9
<i>Cerasus vulgaris</i> L. (Вишня звичайна)	660 – 720	1 – 6
<i>Elytrigia intermedia</i> (Host) Nevski. (Пирій середній)	940 – 1000	1 – 6
<i>Robinia pseudoacacia</i> L. (Акація біла)	1170 – 1230	1 – 6
<i>Lamium maculatum</i> (L.) L. (Глуха кропива крапчаста)	1270 – 1330	3 – 7
<i>Rumex stenophylleis</i> Ledeb. (Щавель вужколистий)	>1500	1 – 3
<i>Aegopodium podagraria</i> L. (Яглиця звичайна)	>1500	1 – 8
<i>Helianthus lactiflorus</i> Pers. (Соняшник яскравоквітковий)	>1500	1 – 5

Примітка.\* Рослини зібрані з більш затіненої частини ділянки

1. Миркин Б. М. Фитоцелология: Принципы и методы / Б. М. Миркин, Г. С. Розенберг. – М. : Наука, 1978. –186 с.
2. Раменский Л. Г. Введение в почвенно-геоботаническое исследование земель / Л. Г. Раменский. – М. : Селхозгиз, 1938. –262.
3. Цыганов Д. Н. Фитоиндикация экологических режимов в подзоне хвойно-широколиственных лесов / Д. Н. Цыганов. –М. : Наука, 1983. –196 с.
4. Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions / K.Asada // Plant Physiol. –2006.–Vol. 141, № 2. – P. 391–396.
5. Bjorkmann O. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress. Interactions with light level O. Bjorkmann, S. B. Powles // Planta. –1984. –Vol. 161, № 2. – P. 490-504.
6. Demming-Adams B. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis / B. Demming-Adams, W. W Adams. // Trends Plant Sci. – 1996. – Vol. 1, №. 1. – P. 21–26.
7. Ellenberg H. Zeigerwerte der Gefasspflanzen Mitteleuropas / H. Ellenberg. – Gottingen : Goltze, 1974. – 97 S.
8. Horton P. Regulation of light harvesting in green plants / P. Horton, A. V. Ruban, R. G. Walters. // Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol. – 1996. – Vol. 47. – С. 655–684.
9. Lüttge U. Synecological comparisons sustained by ecophysiological fingerprinting of intrinsic photosynthetic capacity of plants as assessed by measurements of light response curves / U. Lüttge, F. R. Scarano // Revista Brasileira de Botanica. –2007. - Vol. 30, № 3. – P. 355-364.
10. Maxwell K. Chlorophyll fluorescence – a practical guide / K. Maxwell, G. N. Johnson // J. Experimental Bot. – 2000. – 51. – P. 659–668.
11. Powles S. B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light / S. B. Powles // Annu. Rev. Plant Physiol. – 1984. – Vol. 35, №1. – P. 15–44.
12. Schreiber U. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer / U. Schreiber, U. Schliwa, W. Bilger // Photosynth.Res. – 1986. – Vol. 10, № 1. – P. 51–62.

13. *Walters R. G.* Towards an understanding of photosynthetic acclimation / R. G. Walters // *J. Exp. Bot.* – 2005. – Vol. 56, № 2. – P. 435–447.

*A.A. Cиваш*

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, Киев

ПОРОГ ФОТОИНГИБИРОВАНИЯ ФОТОСИНТЕЗА КАК КРИТЕРИЙ ГЕЛИОФИЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ

Метод индукции флуоресценции хлорофилла *a* – информативный индикатор, характеризующий световые реакции фотосинтеза. Величина фотохимического тушения (qP) флуоресценции хлорофилла *a* была использована для оценки порога фотоингибирования фотосинтеза. Наступление светового стресса определяли как существенное снижение фотохимического тушения (qP < 0,6). Порог фотоингибирования фотосинтеза для растений, выросших в условиях частичного затенения, был в пределах 140 – 630 мкмольм<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, тогда как для растений с более освещенных участков, составлял 750 – 1500 мкмольм<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. Показано, что оценка порога фотоингибирования фотосинтеза методом индукции флуоресценции хлорофилла *a* может быть количественным показателем отношения растений к световому фактору.

*Ключевые слова: экофизиология, флуоресценция хлорофилла, фотоингибирование, гелиофильность*

*O.O. Syvash*

N.G. Kholodny Institute of Botany, Ukraine

THE THRESHOLD OF PHOTOINHIBITION OF PHOTOSYNTHESIS AS A CRITERION OF HELIOPHILITY OF PLANTS

Chlorophyll *a* fluorescence is the informative indicator characterizing light reactions of photosynthesis. The value of photochemical quenching (qP) of chlorophyll *a* fluorescence has been used to estimate the threshold of photoinhibition of photosynthesis. The onset of light stress was defined as a significant decrease of qP – empirically determined as < 0,6. The threshold of photoinhibition for low–light field grown plants was in the range of 140 – 630 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, whereas for sun plants it takes place under higher light intensity ~ 750 – 1500 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>. It has been shown that an assessment of the threshold of photoinhibition of photosynthesis by using of chlorophyll *a* fluorescence method can be a quantative indicator of relation of plants to light factor.

*Keywords: ecophysiology, chlorophyll fluorescence, photoinhibition, heliophility*

Рекомендує до друку

Н.М. Дробик

Надійшла 21.10.2010