

**ПРОМЕНИ В ХЛОРОФИЛНАТА ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ НА ТВЪРДА ПШЕНИЦА
ПРИ ВЪЗДЕЙСТВИЕ С НИСКИ ТЕМПЕРАТУРИ**

Златко Златев, Танко Колев

Аграрен Университет Пловдив, Агрономически факултет, 4000 Пловдив

Резюме

Златев, З., Т. Колев. 2010. Промени в хлорофилната флуоресценция на твърда пшеница при въздействие с ниски температури, FCS 6(3): 375-380

В лабораторни опити са проучени промените във функционалната активност на фотосинтетичния апарат на български сортове твърда пшеница, след въздействие с ниски температури. Анализирани са параметрите на хлорофилната флуоресценция в тъмнинно адаптирани и светлинно адаптирани листа. Установено е, че с най-висока толерантност към приложеното нискотемпературно въздействие са сортовете Явор, Белослава и Загорка, а с най-ниска – Импулс, Звездица и Деяна.

Ключови думи: Твърда пшеница - Хлорофилна флуоресценция - Нискотемпературен стрес

Abstract

Zlatev, Z., T. Kolev. 2010. Changes of chlorophyll fluorescence in durum wheat under low temperature stress, FCS 6(3): 375-380

Changes of functional activity of photosynthetic apparatus of Bulgarian durum wheat cultivars under low temperature stress are studied. Parameters of chlorophyll fluorescence in dark adapted and light adapted leaves are analyzed. It is established, that cultivars Yavor, Beloslava and Zagorka are more tolerant and cultivars Impuls, Zvezdica and Deyana are more sensitive to low temperature stress.

Keywords: Durum wheat - Chlorophyll fluorescence - Low temperature stress

УВОД

Високата потенциална продуктивност на съвременните сортове може да се реализира само при високо ниво на агротехниката и при оптимално съчетаване на екологичните фактори, което практически не се наблюдава. В хода на онтогенетичното си развитие растенията са подложени на неблагоприятното въздействие на факторите на околната среда, сред които ниските температури са едни от най-често срещаните.

Студоустойчивостта е наследствено качество на пшеницата, което се проявява през есенно-зимния период и характеризира способността ѝ да понася без значителни повреди студове до -15 °C при възела на братене, а през пролетта да възстановява своя растеж и развитие, без да понижава продуктивността си (Попов и Димитров, 1979).

Хлорофилната флуоресценция е чувствителен индикатор за фотохимичните процеси и функционалното състояние на считаната за по-чувствителна към стресови

въздействия ФС2. При физиологични температури флуоресценцията се излъчва главно от хлорофил *a* на ФС2 и отразява първичните процеси на фотосинтезата като поглъщане на светлината, разпределение и пренос на възбудната енергия и фотохимичните реакции във ФС2 (Krause and Weis, 1991). Поради функционалната връзка на ФС2 с останалите компоненти на фотосинтетичния апарат хлорофилната флуоресценция се разглежда като индиректен показател за състоянието на интегралния фотосинтетичен процес и на растителния организъм като цяло (Rohbiek, 2002).

Целта на настоящата разработка е да се проучат промените в хлорофилната флуоресценция на български сортове твърда пшеница, след въздействие с ниски температури.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията са проведени във фитостатни боксове на катедра "Физиология на растенията и биохимия" при Аграрен Университет-Пловдив. Проучени са 10 български сорта твърда пшеница. Растенията са отгледани по метода на почвените култури във вегетационни съдове. Във всеки съд са отгледани по 3 растения. 10 дни след поникване опитните растения са подложени на въздействие с ниски положителни температури от +3 °C в продължение на 7 дни. Анализите са извършени в края на нискотемпературното въздействие във втори лист, който е напълно завършил развитието си.

Параметрите на хлорофилната флуоресценция (ХФ) са определени в интактни листа с импулсно модулиран флуориметър MINI-PAM (H. Walz, Effeltrich, Germany) съгласно Schreiber *et al.* (1986). След 60-минутна тъмнинна адаптация на листата са определени:

- начална (нулева) флуоресценция (F_0) при интензивност на измерващата червена светлина $0.15 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ и честота 0.6 kHz ;
- максимална флуоресценция (F_m) при насищач импулс с продължителност 0.8 s и интензивност на светлината (ФАР) над $5500 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$;
- потенциална фотохимична активност на ФС2 (F_v/F_m).

В светлинно адаптирани листа са определени:

- стационарната флуоресценция (F);
- максималната флуоресценция (F_m') при насищач импулс с продължителност 0.8 s и интензивност на светлината (ФАР) над $5500 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

Допълнително са изчислени следните параметри (Van Kooten and Snel, 1990):

- действителна фотохимична активност на ФС2 ($Y = (F_m' - F)/F_m'$) (Genty *et al.*, 1989);
- фотохимично гасене, $qP = (F_m' - F)/(F_m' - F_0)$;
- нефотохимично гасене, $qN = (F_m - F_m')/(F_m - F_0)$;

Статистическата обработка на резултатите е извършена чрез дисперсионен анализ като достоверността на разликите е определена чрез *t*-тестът на Стюдент.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При растенията от проучваните сортове твърда пшеница, след въздействие с ниски температури, се установява нарастване на F_0 и понижаване в F_m . Тези изменения са най-силно изразени в растенията от сортове Деяна, Импулс, Звездаца, Предел (табл. 1). Промените в този параметър са незначителни при сортове Загорка, Белослава и Явор.

Отношението F_v/F_m , което е индикатор за максималната квантова ефективност на първичните фотохимични реакции в тъмнинно адаптирани листа, бележи съществено понижаване. Трябва да се отбележи обаче, че съществени нарушения в

потенциалната квантова ефективност на ФС2 се наблюдават при отклонение на отношението F_v/F_m от границите 0.75-0.85. Подобни промени в това съотношение се установяват при сортове Импулс, Звездица и Деяна.

Таблица 1. Параметри на хлорофилната флуоресценция в тъмнино адаптирани листа след 7-дневно въздействие с ниски температури
Table 1. Parameters of chlorophyll fluorescence in dark adapted leaves after 7-days exposure of low temperature

| Сорт Cultivar | Варианти Variants | F_0 | F_m | F_v/F_m |
|------------------------|----------------------|-----------|-------------|---------------|
| Загорка Zagorka | Контрола/Control | 587±48 | 2994±204 | 0.793±0.053 |
| | Ниски t/Low t | 625±56* | 2936±201 | 0,787±0.061 |
| Белослава Beloslava | Контрола/Control | 602±61 | 3021±239 | 0.795±0.062 |
| | Ниски t/Low t | 639 ±64 | 2992 ±211 | 0,788 ±0.072 |
| Явор Yavor | Контрола/Control | 611±57 | 3010±241 | 0.804±0.077 |
| | Ниски t/Low t | 634±60 | 2954 ±232 | 0,794 ±0.071 |
| Възход Vazhod | Контрола/Control | 573±47 | 3041±198 | 0.801±0.069 |
| | Ниски t/Low t | 635±56* | 2895±207* | 0,775±0.073 |
| Сатурн 1 Saturn 1 | Контрола/Control | 571±51 | 2958±212 | 0.797±0.069 |
| | Ниски t/Low t | 646 ±57* | 2860 ±238 | 0,762 ±0.077 |
| Импулс Impuls | Контрола/Control | 579±42 | 2883±241 | 0.791±0.073 |
| | Ниски t/Low t | 686 ±46** | 2421 ±252** | 0,717 ±0.075* |
| Звездица Zvezdica | Контрола/Control | 562±43 | 2971±261 | 0.800±0.079 |
| | Ниски t/Low t | 676±51** | 2536±275** | 0,723±0.078* |
| Деяна Deana | Контрола/Control | 586±40 | 3011±279 | 0.793±0.082 |
| | Ниски t/Low t | 696 ±52** | 2523 ±285** | 0,734±0.081* |
| Предел Predel | Контрола/Control | 571±39 | 2921±231 | 0.798±0.067 |
| | Ниски t/Low t | 649±46* | 2820±247 | 0,759±0.069 |
| Прогрес Progres | Контрола/Control | 582±37 | 2994±217 | 0.790±0.077 |
| | Ниски t/Low t | 645±41 | 2843±228 | 0,757±0.081 |

* P<0.5; ** P<0.1

F_0 – нулева флуоресценция; F_m – максимална флуоресценция; F_v/F_m – потенциална фотохимична активност на ФС2 (F_0 – ground fluorescence; F_m – maximal fluorescence; F_v/F_m – potential photochemical activity of PSII)

Квантовият добив на електронния транспорт (Υ) в светлинно адаптирани листа е значително понижен при сортовете Звездица, Импулс и Деяна. В края на сресовото въздействие се установява значително нарастване на qN (табл. 2).

Високите стойности на qP са свързани с наличието на Q_A в окислено състояние. При това е сравнително ниско и когато интензивността на светлината нараства бързо до стойности близки до светлинно насищане, qN нараства бързо и показва високи нива на енергийно разсейване (Plesnicar and Paucovic, 1991).

Хлорофилната флуоресценция е чувствителен индикатор за промените във фотохимичните процеси и функционалното състояние на считаната за почувствителна към стресови въздействия ФС2.

Във функционален смисъл се различават начална (нулева) – F_0 , максимална – F_m и вариабилна – F_v флуоресценция. F_0 отразява състоянието на антенния хлорофил a и загубите на възбудна енергия от пигментното легло до реакционните центрове на ФС2. F_0 се променя в случай, че настъпват структурни промени в пигментния апарат. F_m отразява степента на редукция на акцепторите във ФС2 (Q_A , Q_B , PQ пулове). F_v е показател за скоростта на електронния транспорт през РЦ на ФС2 и е чувствителен индикатор за промени в ултраструктурата на тилакоидните мембрани. Отношението F_v/F_m е индикатор за потенциалната функционална активност и

Таблица 2. Параметри на хлорофилната флуоресценция в светлинно адаптирани листа след 7-дневно въздействие с ниски температури
Table 2. Parameters of chlorophyll fluorescence in light adapted leaves after 7-days exposure of low temperature

| Сорт Cultivar | Варианти Variants | Y | qP | qN |
|------------------------|----------------------|-----------------|----------------|-----------------|
| Загорка Zagorka | Контрола/Control | 0.721±0.053 | 0.993±0.068 | 0.385±0.024 |
| | Ниски t/Low t | 0.661±0.045 | 0.893±0.047 * | 0.455±0.029 |
| Белослава Beloslava | Контрола/Control | 0.739±0.065 | 0.916±0.062 | 0.384±0.034 |
| | Ниски t/Low t | 0.649±0.052 * | 0.836±0.051 | 0.454±0.024 |
| Явор Yavor | Контрола/Control | 0.752±0.053 | 0.981±0.084 | 0.362±0.037 |
| | Ниски t/Low t | 0.672±0.048 * | 0.910±0.072 | 0.451±0.024 |
| Възход Vazhod | Контрола/Control | 0.721±0.058 | 0.974±0.075 | 0.436±0.034 |
| | Ниски t/Low t | 0.581±0.053 ** | 0.869±0.073 * | 0.556±0.029 * |
| Сатурн 1 Saturn 1 | Контрола/Control | 0.710±0.052 | 0.926±0.071 | 0.426±0.028 |
| | Ниски t/Low t | 0.590±0.047 * | 0.813±0.067 * | 0.566±0.031 * |
| Импулс Impuls | Контрола/Control | 0.718±0.066 | 0.947±0.071 | 0.371±0.026 |
| | Ниски t/Low t | 0.513±0.058 *** | 0.742±0.053 ** | 0.674±0.038 *** |
| Звездица Zvezdica | Контрола/Control | 0.734±0.059 | 0.931±0.081 | 0.377±0.021 |
| | Ниски t/Low t | 0.514±0.041 *** | 0.737±0.078 ** | 0.679±0.027 *** |
| Деяна Deana | Контрола/Control | 0.729±0.042 | 0.919±0.087 | 0.369±0.023 |
| | Ниски t/Low t | 0.520±0.045 *** | 0.713±0.083 ** | 0.666±0.034 *** |
| Предел Predel | Контрола/Control | 0.654±0.051 | 0.935±0.092 | 0.403±0.025 |
| | Ниски t/Low t | 0.581±0.044 * | 0.815±0.087 * | 0.606±0.027 ** |
| Прогрес Progres | Контрола/Control | 0.660±0.034 | 0.886±0.067 | 0.392±0.042 |
| | Ниски t/Low t | 0.560±0.029 * | 0.797±0.051 | 0.597±0.037 ** |

* P<0.5; ** P<0.1; *** P<0.001

Y – Действителна фотохимична активност на ФС2, qP – фотохимично гасене, qN – нефотохимично гасене (Y – actual photochemical activity of PSII; qP – photochemical quenching; qN – non-photochemical quenching)

квантовата ефективност на първичните фотохимични реакции на ФС2 в тъмнинно адаптирани листа (Rohбиек, 2002; Yordanov et al., 2003).

Според Baker and Horton (1987) най-малко два ясно разграничени феномена лежат в основата на промените в параметрите на хлорофилната флуоресценция. Единият е свързан с повишаване на нулевата флуоресценция (F_0), поради редукция на първичния пластохинонов акцептор на електрони (Q_A^-), който не може да се окисли напълно поради нарушен електронен транспорт във ФС2 (Velikova et al., 1999), или поради разделяне на светосъбиращите хлорофил a/b комплекси на ФС2 от коровия център на ФС2 (Copa et al., 1995). Вторият феномен е отговорен за гасенето на вариабилната (F_v) и максималната (F_m) флуоресценция. Гасенето на F_v показва съществени нарушения в реакционните центрове. Понижението на F_m е свързано главно с процеси водещи до намалена активност на ензими от кислород отделящия комплекс и вероятно с възникването на съпътстващ цикличен електронен транспорт във или около ФС2.

Установеното в настоящото проучване повишение на F_0 и понижение на F_m води до понижение в съотношението F_v/F_m (табл. 1) при растенията от проучваните сортове твърда пшеница. Съотношението F_v/F_m отразява максималната ефективност на улавяне на възбудната енергия от „отворените“ реакционни центрове на ФС2. Намалението в този параметър показва отрицателно метаболитно регулиране или фотоинхибиция. Това се дължи на факта, че значителна част от абсорбираната светлинна енергия не се използва във фотохимичните процеси, както е видно от

пониженото qP и повишението на qN . Промените в qP са идентични с тези в Y . Това показва, че при експерименталните условия Y зависи основно от реакционните центрове, които са фотохимически „отворени“ (qP) и в по-малка степен от ефективността с която абсорбирания фотон може да достигне до реакционните центрове.

При растенията от проучваните сортове наличието на значителна фотоинхибиция се подкрепя и от установеното значително понижени в квантовата ефективност на електронния транспорт (Y), който е мярка за фотохимичната активност на ФС2 при светлинно адаптирани листа.

Намалението в Y е свързано с нарастване на гасенето на възбудната енергия във ФС2 и обикновено се разглежда като показател за отрицателно метаболитно регулиране на електронния транспорт (Horton *et al.*, 1996). Следователно, намалението в Y може да се разглежда като индикатор за физиологична регулация на електронния транспорт чрез нарастване на гасенето на възбудната енергия в антенния комплекс на ФС2. Това предполага относително по-висока скорост на нецикличния електронен транспорт отколкото е необходима за поддържане на CO_2 асимилацията при дадените условия. Алтернативен акцептор на електрони могат да бъдат фотодишането и/или Мелеровата реакция (Noguyis and Baker, 2000). Намалението в показателите на фотосинтезата в листата на растенията от проучваните сортове твърда пшеница, както и промените в F_v/F_m означават, че нуждата от редуктори и АТФ намалява съществено и че това е основната причина за затварянето на реакционните центрове на ФС2. Същественото намаление на Y показва или повреди в реакционните центрове на ФС2 или индукция на бавно възстановяващо се гасене. Получените от нас резултати подкрепят твърдението, че фотоиндуцираните повреди в реакционните центрове на ФС2 при ниски положителни температури не са първопричината за подтисната асимилация на CO_2 в листата на растенията. Трябва да отбележим обаче, че такива повреди могат да бъдат резултат от вторични ефекти вследствие на приложеното въздействие.

ИЗВОДИ

Фотохимичната активност на ФС2 в подложените на нискотемпературен стрес растения е понижена в сравнение с контролните. От изследваните параметри на хлорофилната флуоресценция най-информативни за функционалното състояние на фотосинтетичния апарат на растенията са максималната фотохимична активност на ФС2 (F_v/F_m) и квантовият добив на електронния транспорт (Y).

Фотосинтетичният апарат на растенията от сортове Загорка, Белослава и Явор е по-толерантен към приложеното въздействие с ниски температури, като F_v/F_m остава практически без промяна, а Y и qP са понижени в по-малка степен. Фотосинтетичният апарат на растенията от сортове Звездица, Импулс и Деяна е по-чувствителен към приложеното въздействие.

За оценка на функционалното състояние на фотосинтетичния апарат на твърда пшеница към ниски температури в селекционната практика могат да бъдат използвани следните показатели на хлорофилната флуоресценция: максимална фотохимична активност на ФС2 (F_v/F_m), актуален квантов добив в светлинно адаптирани листа (Y) и фотохимично (qP) и нефотохимично (qN) гасене.

ЛИТЕРАТУРА

- Попов, П., Д. Димитров, 1979. Пшеницата в България. Земиздат, София. 64-79.
Baker N.R., Horton P., 1987. Chlorophyll fluorescence quenching during photoinhibition. In: Photoinhibition (D.J. Kyle, C.B. Osmond, C.J. Arntzen, Eds.), Elsevier Scientific Publisher, Amsterdam, 85-94.

- Сона А., Куиера Т., Масојндек Ј., Гејкен В., Маттоо А.К., Гиарди М.Т., 1995.** Long-term drought stress symptom: structural and functional reorganization of photosystem II. *In: Photosynthesis: from light to biosphere.* (M. Mathis, Ed.), Vol. IV, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht- London, 521-524.
- Genty B., Briantais J.M., Baker N.R., 1989.** The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta*, 990, 87-92.
- Horton P., Ruban A.V., Walters R.G., 1996.** Regulation of light harvesting in green plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 4, 655-684.
- Krause, G. H., E. Weis, 1991.** Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 42, 313-349.
- Ногуйс S., Baker N.R., 2000.** Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *J. Exp. Bot.*, 51, 1309-1317.
- Plesnicar M., Pancovic D., 1991.** Relationship between chlorophyll fluorescence and photosynthetic O₂ evolution in several *Helianthus* species. *Plant Physiol. Biochem.*, 29, 681-688.
- Рохбјек, К., 2002.** Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica*, 40:1, 13-29.
- Schreiber U., Schliwa U., Bilger W., 1986.** Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence with a new type of modulation fluorometer. *Photosynth. Res.*, 10, 51-62.
- Van Kooten O., Snel J.F.H., 1990.** The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth. Res.*, 25, 147-150.
- Velikova V., Tsonev T., Yordanov I., 1999.** Light and CO₂ responses of photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in bean plants after simulated acid rain. *Physiol. Plant.*, 107, 77-83.
- Yordanov I., Velikova V., Tsonev T., 2003.** Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulg. J. Plant Physiol.*, Special issue, 187-206.