

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА И БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПОТЕНЦИАЛОВ У ЛИСТЬЕВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

*Т. Гун-Аажав, С. Дамдинсурен, М. Цогбадрах,
О. С. Борданова, Д. Тумурбаатар*

Монгольский Государственный Университет. Улан-Батор

Исследования, проведенные в рамках сотрудничества между биофизическими кафедрами Московского Государственного Университета (МГУ) и Монгольского Государственного Университета (МоГУ), условно можно разделить на следующие три части: во-первых, исследование первичных процессов фотосинтеза высших растений, во-вторых, исследование биоэлектрических потенциалов и их связь с фотосинтезом и, в-третьих, исследование, разработка и применение биофизических методов для оценки особенностей и функциональных состояний организмов.

Целью первой части наших совместных исследований было получить новые информации по регуляции первичных процессов фотосинтеза и устойчивости фотосинтетического аппарата у высших растений к неблагоприятным факторам среды. Первым разделом этой части работы является исследование хроматических переходов флуоресценции у листьев. Для реализации поставленной задачи нами сконструирована трехлучевая установка для измерения хроматических переходов флуоресценции фотосинтезирующих объектов. Эксперименты проведены на листьях китайской розы.

Результаты этого эксперимента показывают, что уровень флуоресценции от измерительного света повышается под влиянием действующего света 2 (ДС2) в аэробных и анаэробных условиях. Под действием ДС1 уровень флуоресценции от измерительного света как увеличивается, так и уменьшается. В рамках Z-схемы первичных процессов фотосинтеза эти экспериментальные данные объясняются окислительно-восстановительным состоянием электронных акцепторов фотосистемы 2 (ФСII) и перераспределением энергии возбуждения между молекулами хлорофилл-белковых комплексов. В этих опытах также показано, что в аэробных условиях при большой интенсивности ДС2 под влиянием ДС1 индуцируется уменьшение флуоресценции. При уменьшении интенсивности ДС2 появляется двухфазная кинетика («перехлеста») хроматических переходов и при дальнейшем уменьшении интенсивности ДС2 вместо уменьшения флуоресценции появляется ее увеличение. Появление двухфазной кинетики хроматических переходов флуоресценции, индуцированной ДС1 боль-

шой интенсивности на фоне ДС2, объясняется «демпфирующим» действием цепи переноса, т.е. некоторым запаздывающим действием ФС1 на флуоресценцию по сравнению с действием ФСII [1,2,3].

Нами было проведено сравнительное исследование параметров быстрой и медленной индукции флуоресценции, кинетики послесвечения и выделения кислорода в зависимости от предыстории освещения (времени адаптации к темноте или к облучению дальним красным светом) и различных внешних условий. Для измерения этих параметров была сконструирована установка, позволяющая одновременно регистрировать интенсивность флуоресценции, кинетику затухания послесвечения (замедленная флуоресценция) в интервале времен 0,1–10 с, а также концентрацию кислорода в замкнутой камере, содержащей исследуемый образец. Объект исследования – высебки из листьев гороха и пшеницы.

Продемонстрировано наличие корреляции между кинетикой уменьшения выхода флуоресценции и интенсивностью быстрого (0,1 с) и медленного (1с) компонента послесвечения, с одной стороны, и их взаимосвязь с кинетикой выделения кислорода – с другой. Установлено, что в листе, адаптированном к темноте или к дальнему красному свету, началу интенсивного выделения O_2 предшествует лаг-фаза (2–6 мин в зависимости от образца). В течение лаг-периода наблюдается лишь незначительный рост концентрации O_2 обычно сразу после начала освещения и происходит некоторый спад интенсивности флуоресценции (первая часть кривой медленной индукции флуоресценции) и интенсивности послесвечения. Также экспериментально установлена четкая корреляция между началом интенсивного выделения кислорода интактными листьями и дальнейшим уменьшением выхода флуоресценции (вторая часть индукционной кривой). Установлена связь между временами затухания ($\tau_{1/2}$) децисекундного и секундного компонента послесвечения, содержанием кислорода в среде и скоростью фотосинтетического выделения кислорода. Анализ полученных результатов указывает на возможность использования кинетических параметров флуоресценции и послесвечения для оценки соотношения между псевдоциклическим и нециклическим транспортом электронов в хлоропластах, а также измерения концентрации кислорода в листе. Для выявления причин корреляционных зависимостей между кинетическими кривыми индукции флуоресценции, послесвечения и содержанием O_2 было исследовано влияние газового состава, температуры и ряда химических соединений (NaF , NaN_3 , $HgCl_2$, DCMU, АТР и др.) на кинетику выхода флуоресценции, интенсивности послесвечения и выделения кислорода в листьях пшеницы и гороха [4,5,6].

Исследование по влиянию УФ-радиации на структуры и функции фотосинтетического аппарата было проведено на листьях пшеницы сорта

«Орхона». Индукцию флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре, собранном по схеме Паркера. Быструю часть индукции флуоресценции записывали на осциллографе с памятью С8-13. Длительное послесвечение регистрировали на установке, собранной на основе цилиндрического фосфороскопа.

Проведенный нами анализ кинетики торможения функции реакционного центра (РЦ) ФСII в интактных листьях пшеницы при непрерывном облучении растения УФ-светом показал, что в ответе растения можно условно выделить две фазы, отличающиеся по скорости развития изменений в фотосинтетическом аппарате. Уже через несколько часов облучения замедлялось PS-тушение флуоресценции и уменьшалась величина этого тушения, что указывало на торможение реакций фотосинтеза. Постепенное снижение отношения $\Phi_{\text{пер}} / \Phi_0$ означало, что ингибируется фотохимическая активность РЦ ФСII. Падение фотосинтеза коррелировало с торможением фотосинтетического электронного транспорта, определяемого по уменьшению разницы замедленной люминесценции (ЗЛ) листьев в присутствии и в отсутствии диурона. Поэтому вероятной причиной снижения фотосинтеза может быть ингибирование электронного транспорта.

Кроме того, в это время, по нашим наблюдениям, возрастает ЗЛ при низкой освещенности, когда она представлена только медленным секундным компонентом ЗЛ, обусловленным обратным транспортом электронов в ФСII от Q^- на один из акцепторов водоразлагающего участка. С ростом дозы облучения этот процесс ускоряется, и через 40 ч воздействия ЗЛ возрастает вдвое. Поэтому можно предположить, что увеличение обратного электронного транспорта служит одной из причин снижения прямого транспорта электронов и фотосинтеза в целом [7–10].

Целью второй части наших совместных исследований по физико-химическим основам регуляции биологических процессов является исследование биоэлектрических потенциалов листьев и корней растений в зависимости от внешних и внутренних факторов, а также их роль в регуляции физиологических процессов. В исследованиях использован метод поверхностного отведения и измерения разности электрических потенциалов по поверхности листа растения нами и применялись неполяризующие хлоросеребряные электроды.

Нами изучены пространственное распределение и временное изменение разности биоэлектрических потенциалов и других некоторых электрических параметров (электрического тока и сопротивления) у листов высших растений. Экспериментально показано, что значение внутреннего электрического сопротивления проводящих пучков листа филлокактуса почти в полтора раза меньше, чем внутреннее электрическое сопротивление участков, не имеющих проводящих пучков, а значение биоэлектриче-

ского тока проводящих пучков листа почти в полтора раза больше, чем значение биоэлектрического тока участков, не имеющих проводящих пучков. Экспериментальные данные позволили нам предположить, что разность электрических потенциалов биологических объектов имеет более гомеостатический характер, чем внутреннее электрическое сопротивление и биоэлектрический ток.

Результаты исследования биоэлектрических потенциалов листьев в зависимости от процессов регенерации показывают, что интенсивность процесса регенерации корневой системы и значение разности электрических потенциалов листа относительно корня сильно взаимосвязаны и максимум регенерации соответствует наиболее положительному значению разности электрических потенциалов, а в момент завершения регенерации разность электрических потенциалов принимает наиболее отрицательное значение. Показано, что разность электрических потенциалов листьев растений характеризует состояние корневой системы и характер его изменения отражает ответную реакцию растения на действие внешних неблагоприятных факторов. Также обнаружено, что скорость регенерации корня растений зависит от pH среды, а само растение обладает способностью изменять кислотность среды до ее оптимального значения.

Нами изучены зависимость биоэлектрических потенциалов листьев высших растений от локального светового действия и корреляции между кривыми флуоресценции листьев. Показано, что в ответ на локальное действие света с длиной волны 630 нм переменный потенциал распространяется по растению от вершины к корню. Это, в свою очередь, переключает всю симпластную систему в другое состояние, аналогично возникновению ответной реакции на действие лазера на базальную систему человека. Также была изучена взаимозависимость между фотоиндуцированным изменением биоэлектрических потенциалов и индукцией флуоресценции листьев высших растений. Когда значение параметра индукции флуоресценции (отношение переменных и постоянных составляющих флуоресценции) достигает нуля, то фотоиндуцированное изменение биоэлектрических потенциалов уменьшается вдвое. На основе этих экспериментов мы пришли к заключению, что примерно половина значений фотоиндуцированного изменения биоэлектрических потенциалов связано с процессом фотосинтеза [11–14].

Как было выше отмечено, третьим направлением наших совместных исследований является исследование, разработка и применение новых биофизических методов для оценки физиологических состояний и особенностей организмов. Нами были разработаны более десяти новых биофизических методов, методик и установок, таких как: метод замедленной флуоресценции для определения жаро- и морозоустойчивости пшеницы; установка для регистрации кинетики замедленной флуоресценции фото-

синтезирующих объектов; установка для измерения содержания углекислого газа и т.д. [15–19]. Все вышеуказанные методы и установки широко используются в научно-исследовательских учебно-методических и практических целях.

Литература

1. Т.Гун-Аажав, В.А.Караваяев, А.К.Кукушкин. Исследование цепи электронного транспорта у высших растений с помощью флуоресценции. Сб. Проблема биофотохимии, М., 1974, С. 14–17.
2. Т.Гун-Аажав, А.К.Кукушкин, М.К.Солнцев. Исследование хроматических переходов флуоресценции листьев высших растений. Биофизика /АН СССР/. т. 20, С. 260–265, 1975.
3. Т.Гун-Аажав, А.К.Кукушкин. Исследование взаимодействия двух подсистем флуоресцентным методом. *Studia Biophysica*.60, Heft 3, p. 223–231, 1977.
4. С.Дамдинсурен, Т.Гун-Аажав. Установка для одновременного измерения обмена кислорода, быстрой и замедленной флуоресценции у листьев высших растений. Биофизика /АН СССР/ Т. 34, №6, с. 1021–1023. 1989.
5. С.Дамдинсурен, Т.Гун-Аажав, А.Н. Тихонов. Сравнительное исследование индукций флуоресценции, послесвечения и выделения кислорода в листьях высших растений. Тезисы докладов Всесоюзной конференции «Преобразование световой энергии в фотосинтезирующих системах и их моделях», С. 76–77. Пущино, 1989.
6. С.Дамдинсурен, Т.Гун-Аажав, С.П.Куприн. Связь параметров флуоресценции и послесвечения в листьях высших растений состоянием цепи электронного транспорта хлоропластов. Тезисы докладов Всесоюзной конференции «Преобразование световой энергии в фотосинтезирующих системах и их моделях», с. 77–78. Пущино, 1989.
7. О.С.Борданова, Т.Гун-Аажав, Т.В.Веселова, В.А.Веселовский. Структура и функциональная активность клеток на разных этапах их развития на примере листьев пшеницы. Научные доклады высших школ. Биологические науки. №1. С. 34–39.1986.
8. О.С.Борданова, Т.Гун-Аажав, Т.В.Веселова, В.А.Веселовский. Влияние ультрафиолетовой радиации на первичные фотосинтетические реакции у листьев пшеницы. Научные доклады высших школ. Биологические науки. №11. С. 27–33, 1988.
9. О.С.Борданова, Т.Гун-Аажав, Т.В.Веселова. Стимулирование ультрафиолетовой радиацией светоиндуцированного поглощения кислорода в листьях гороха. Ученые записки Монгольского Государственного Университета. №3 (121). С. 80–86. 1995.

10. Д.Тумурбаатр, А.К.Кукушкин. Изучение влияния интенсивности и спектрального состава освещения на индукционные кривые послесвечения. МУИС-ийн Эрдем шинжилгээний бичиг. Физик. №1 (104). С. 79–83, 1991.
11. Зацепина Г. Н., Цогбадрах М., Тульский С. В., “Влияние постоянного электрического поля и рН омывающего корня раствора на процесс регенерации листа и корня филлокактуса” Биофизика. 1990. Т. 36. Вып. 1. С. 133.
12. Зацепина Г. Н., Цогбадрах М., Тульский С. В., “Изменение постоянного электрического поля филлокактуса при локальном действии монохроматического света с $\lambda=630$ нм” Биофизика. 1990. Т. 36. Вып. 1. С. 171.
13. Цогбадрах М., Гун-Аажав Т., Мягмарсурэн Ш. “Изучение биоэлектрических потенциалов высших растений”. “Ученые записки Монгольского Университета”. №116 (2), с. 73–83. Улан-Батор, 1995.
14. Т.Гун-Аажав, М.Цогбадрах, Ч.Баттулга. Исследование корреляции интенсивности фотосинтеза и фотоиндуцированных изменений в биоэлектрических потенциалов листьев высших растений. (на монгольском языке). “Ученые записки Монгольского Университета”. №6 (130), с. 119–124. Улан-Батор, 1998.
15. Д.Тумурбаатар, Т.Гун-Аажав, В.А.Веселовский, В.С.Маренков. Метод определения жаро- и засухоустойчивости озимой пшеницы методом замедленной флуоресценции. Свидетельство о рационализаторском предложении. №12178. Улан-Батор, 1986.
16. С.И.Погосян, Д.Тумурбаатар, Т.Гун-Аажав. Флуорометр с двумя монохроматорами. Свидетельство о рационализаторском предложении. №12176. Улан-Батор, 1986.
17. Д.Тумурбаатар, Т.Гун-Аажав, Ц.Эрдэнэчимэг, А.Хучит. Установка для регистрации кинетики замедленной флуоресценции фотосинтезирующих объектов. Свидетельство о рационализаторском предложении. №12177. Улан-Батор, 1986.
18. С.Дамдинсурен, С.П.Куприн. Установка для измерения содержания углекислого газа. Свидетельство о рационализаторском предложении. №12183. Улан-Батор, 1986.
19. М.Дамдинсурен, Н.Алтанхуяг, А.Л.Чурин. Ксенионоволамповый источник возбуждения. Свидетельство о рационализаторском предложении. №12181. Улан-Батор, 1986.