

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТА И РАДИАЦИИ НА СЕМЕНА ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ

© 2018 г. О.В. Слатинская, Ф.Ф. Протопопов, Н.Х. Сейфуллина, Д.Н. Маторин, Ч.Н. Раденович*, В.В. Шутова**, Г.В. Максимов

Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119892, Москва, Ленинские горы, 1/12

E-mail: matorin@biophys.msu.ru, gmaximov@mail.ru

*Maize Research Institute, Zemun Polje, Belgrade, Slobodana Bajića 1, Serbia

E-mail: mri@mrizp.rs

**Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, 430005, Саранск, ул. Большевикская, 68

E-mail: dep-general@adm.mrsu.ru

Поступила в редакцию 14.03.18 г.

С помощью спектральных методов исследовано состояние пигментов чистой линии (zpr1225) и гибрида (zpr341) кукурузы (*Zea mays* L.) при облучении семязачатков ультрафиолетовым излучением и α -частицами. При облучении семян ультрафиолетовым излучением в диапазоне от 5,00 до 13,39 кДж/м² и α -частицами от 1,5 до 3,0 кГр наблюдается стимуляция роста растений и прорастания семян. Облучение семян высокими дозами α -частиц (15 кГр) приводит к ингибированию роста и развития растения. Действие излучения на семена способно менять состояние и функционирование пигментов листа. Облучение семян приводит к изменению конформации молекул каротиноидов (увеличение длины полиеновой цепи и доли молекул в 15-*cis*-конформации), причем эффект зависит от типа облучения (эффект больше при облучении семян α -частицами). Показано, что фотосинтетический аппарат у гибрида (zpr341) характеризуется относительно увеличенной фазой I–P на индукционной кривой быстрой флуоресценции и большей степенью окисления реакционного центра P700, что указывает на наличие большего пула акцепторов на акцепторной стороне фотосистемы I у гибрида кукурузы. Облучение семян ультрафиолетовым излучением и α -частицами вызывает ингибирование у листьев реакций в фотосистеме II, проявляющиеся в уменьшении квантового выхода электронного транспорта (Φ_{E0}), увеличении нефотохимического тушения (DI_0RC и Φ_{D0}) и в снижении энергизации мембран тилакоида (большей степени $\Delta\psi$). Наибольшее снижение при воздействии облучения показывал обобщающий индекс производительности фотосистемы II (PI_{ABS}). Индекс производительности PI_{ABS} может быть рекомендован для оценки состояния растений при селекционных исследованиях.

Ключевые слова: *Zea mays* L., ультрафиолетовое излучение, α -частицы, каротиноиды, комбинационное рассеяние, флуоресценция хлорофилла.

DOI: 10.1134/S0006302918040142

Для повышения качества посевного материала и роста растения широко используются различные способы предобработки семян: химические, физические, в том числе оптическое излучение [1]. Известно, что действие на семена

ультрафиолетового (УФ) излучения (как и α -частиц) стимулирует некоторые фотохимические процессы, активируя метаболизм или перекисное окисление липидов [2,3]. В связи с этим было важно выявить молекулярные изменения структуры и функции пигментов листа растения, выросшего из семян, обработанных непроникающим вглубь семян излучением (неионизирующее ультрафиолетовое излучение зоны В, далее – УФВ) и ионизирующее излучение α -частиц высоких энергий (далее – α -частицы).

Сокращения: УФ – ультрафиолетовый, УФВ – неионизирующее ультрафиолетовое излучение зоны В, КР – комбинационное рассеяние света, БФ – быстрая флуоресценция, ЗФ – замедленная флуоресценция, ФС I – фотосистема I, ФС II – фотосистема II.

Известно, что фотосинтетический аппарат высших растений содержит два типа пигментов – хлорофилл (хлорофилл *a* и хлорофилл *b*) и каротиноиды (каротины и ксантофиллы), которые участвуют в процессе переноса электрона по электрон-транспортной цепи [4,5]. При этом переносчики, восстановленные фотосистемой II (ФС II), служат донорами электронов для фотосистемы I (ФС I), а интенсивность флуоресценции хлорофилла зависит от редокс-состояния хинонного акцептора Q_A . Фотореакция ФС II восстанавливает Q_A , повышая уровень флуоресценции, а активность ФС I приводит к окислению Q_A и снижению флуоресценции [6,7]. Регистрация кинетики индукции переменной флуоресценции позволяет контролировать кинетику электронного транспорта между фотосистемами и часто используется при изучении влияния различных факторов на фотосинтетический аппарат (тепловой стресс [7,8], солевой стресс [9], обезвоживание [10] и УФ-излучения [11,12]). Для исследования изменений конформации молекул пигментов широко используется метод спектроскопии комбинационного рассеяния света (КР). В случае пигмента каротиноида КР-спектроскопия позволяет контролировать изменения конформации молекулы, оценивая вклад колебаний некоторых связей: вклад валентных колебаний C=C-связей (I_{1520}/I_{1006}); вклад валентных колебаний C–C-связей (I_{1156}/I_{1006}); изменение *cis-trans*-конформации каротиноида (I_{1156}/I_{1190}); переход атомов молекулы из плоской конфигурации в изогнутую (искривление молекулы вне плоскости полиеновой цепи, I_{960}/I_{1006}) [5].

Цель настоящей работы заключалась в исследовании изменения функционального состояния и конформации пигментов листа гибридов и чистой линии кукурузы после предобработки семян УФ-излучением и α -частицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили чистая линия кукурузы (*Zea mays* L.) zrp1225 и высокоурожайный гибрид zр341 (Институт кукурузы «Земун Поле», Белград, Сербия). Представляемые гибриды и линии характеризуются высокими показателями качества, урожайности и пригодности к возделыванию [2]. После облучения семена проращивали (10 штук до фазы третьего настоящего листа). Контролем служили необлученные семена. Качество семян оценивали согласно ГОСТ 13056.6–75. Установлено, что при облучении семян УФВ в диапазоне от 5,00 до 13,39 кДж/м² и α -частицами от 1,5 до 3,0 кГр наблюдается стимуляция роста рас-

тений и прорастания семян. На 5-й день после облучения α -частицами дозой 1,5 кГр у семян zр341 формируются корневые волоски, а при 3,0 кГр увеличивается рост придаточных корней. На 14-е сутки после облучения было установлено, что образцы, подвергшиеся облучению дозой УФВ в 4,46 кДж/м² и α -частиц в 3,0 кГр, обладают максимальной скоростью роста. Однако облучение семян высокой дозой α -частиц в 15 кГр приводит к резкому снижению параметров всхожести семян и скорости роста. При увеличении дозы УФВ-облучения семян до 8,93 и 13,39 кДж/м² выявлены две фазы роста: сначала снижение скорости роста корешков и стебля, с последующим их ростом.

В качестве источника УФ-излучения использовали облучатель, состоящий из трех люминесцентных эритемных ламп ЛЭ-30 (мощность УФВ-излучения 5,2 Вт/м², $\lambda_{\max} = 312$ нм, вклад УФВ-излучения в общую интенсивность излучения ламп 47,69%) [13]. Семена кукурузы размещали в чашке Петри и облучали сверху в течение 30, 60 и 90 мин (дозы 4,46, 8,93 и 13,39 кДж/м²). Облучение семян дозой в 1,5, 3,0 и 15 кГр осуществляли пучком α -частиц (энергия 30 МэВ/нуклон) 120-см циклотрона НИИЯФ МГУ с высоким значением линейной передачи энергии [14]. Величина линейной передачи энергии частиц на поверхности облучаемого биообъекта после прохождения частиц через 50 мкм алюминиевую фольгу составила около 28 МэВ/нуклон. Объект располагали на расстоянии 7 см от окна, потери по воздуху составляли около 3 МэВ/нуклон, а глубина пробега – около 4 мкм.

Содержание хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов (в 90%-м растворе ацетона) определяли на спектрофотометре Specord M40 (Carl Zeiss, Германия) и рассчитывали по формуле Хольма–Веттштейна [15].

Изменение конформации молекул каротиноидов контролировали методом комбинационного рассеяния на конфокальном микроскоп-спектрометре NTEGRA-SPECTRA (НТ-МДТ, Зеленоград, Россия) с возбуждением на 532 нм, фрагмент листовой пластинки помещали на предметное стекло, сигнал КР накапливали в течение 10 с при мощности лазера 5 мВт на образце [2].

Индукционные кривые быстрой (БФ) и замедленной (ЗФ) флуоресценции хлорофилла, а также редокс изменения Р700 регистрировали с помощью прибора Multi-function Plant Efficiency Analyser M-PEA-2 (Hansatech Instrument, Великобритания). Регистрацию БФ и ЗФ производили при чередовании действующего крас-

ного света ($I = 3000$ мкмоль квантов·м⁻²·с⁻¹, $\lambda = 625$ нм) и темновых интервалов малой длительности. Динамика индукционной кривой 3Ф отражала изменения интенсивности послесвечения в диапазоне 0,1–0,9 мс в темновых интервалах между импульсами действующего света. Изменения в модулированном отражении (MR – modulated reflections) при длине волны 820 нм использовали для оценки редокс-состояния P700, реакционного центра (РЦ) ФС I. Интенсивность модулированного света с длиной волны 820 ± 25 нм составляла 500 мкмоль квантов·м⁻²·с⁻¹. Полученные данные по MR_t нормировали на значение при $t = 0,07$ мс (MR_0). Общая продолжительность измерения составляла 60 с. Характеристики и протокол измерений на приборе М-РЕА-2 были подробно описаны ранее [7,16,17].

Для анализа первичных процессов фотосинтеза использовали «JIP-тест» (интенсивность при 20 мкс (F_0), 2 мс (F_1), 30 мс (F_1), а также F_M (максимальная интенсивность флуоресценции) [7]. Полученные данные использовали для расчета параметров относительной величины переменной флуоресценции в фазе J (V_j); усредненной величины начального наклона относительной переменной флуоресценции хлорофилла (M_0); потока энергии, поглощаемой одним активным РЦ (ABS/RC , также характеризует относительный размер антенны); потока энергии возбуждения, улавливаемой одним активным РЦ (TR_0/RC); общего количества энергии, рассеиваемой одним РЦ в виде тепла (DI_0/RC), максимального квантового выхода первичной фотохимии ФС II (F_v/F_M), вероятности переноса электрона за пределы Q_A (ψ_0); квантового выхода электронного транспорта (далее – Q_A (ϕ_{E_0})); вероятности, с которой электрон от переносчиков между двумя ФС редуцирует крайние акцепторы электрона на акцепторной стороне ФС I (Δ_{R_0}); квантового выхода восстановления акцепторов на акцепторной стороне ФС (ϕ_{R_0}); квантового выхода рассеивания энергии в тепло (ϕ_{D_0}); индекса производительности – показателя функциональной активности ФС II, отнесенного к поглощаемой энергии (PI_{ABS}); тепловой диссипации энергии в ФС II на единице поверхности фотосинтезирующего объекта в момент времени при $t = 0$ (DI_0/CS_0); показателя функциональной активности ФС II, отнесенного к единице площади освещаемой поверхности в момент времени при $t = 0$ (PI_{CS_0}) [16].

Для анализа и обработки полученных данных использовали пакет программ Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, США), Sta-

tistica v.10 (StatSoft Inc., США) и Origin Pro 2017 (OriginLab Corporation, США). Проверку статистических гипотез осуществляли с помощью непараметрического критерия для множества независимых переменных Краскела–Уоллиса. Уровень значимости принимали равным 0,05. Количество повторов опытных групп составило не менее шести, для контрольных групп – десять.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование изменений содержания пигментов в листьях кукурузы при действии УФ и α -частиц на семена линий и гибридов кукурузы. В норме пигментный состав листьев растений кукурузы (седьмые–двенадцатые сутки) чистой линии (zpr1225) и гибрида (zр341) мало отличались между собой: содержание хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов в листьях zpr1225 составляло $1,34 \pm 0,15$, $0,40 \pm 0,07$ и $0,45 \pm 0,04$ мг на грамм сырой ткани, а в zр341 – $1,59 \pm 0,11$, $0,50 \pm 0,03$ и $0,51 \pm 0,03$ мг на грамм сырой ткани соответственно. При действии на семена УФ и α -частиц наблюдаются изменения содержания пигментов в листьях (рис. 1). При облучении zpr1225 УФВ с дозой $4,46$ кДж/м² выявлено снижение содержания хлорофилла *a* и увеличение хлорофилла *b*. При увеличении дозы УФВ-облучения семян содержание хлорофилла *a* вновь возрастает, а хлорофилла *b* – снижается до уровня контроля. У образца zр341 после облучения УФВ происходит снижение содержания как хлорофилла *a*, так и хлорофилла *b*, что, вероятно, связано с различным онтогенезом растений и изменением размера световой пигментной антенны. Это подтверждается и изменением отношения хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* (рис. 2). Соотношение содержания хлорофиллов *a* и *b* при облучении семян zpr1225 УФВ сначала уменьшается при дозе $4,46$ кДж/м², а затем приближается к контролю. У гибрида zр341 соотношение хлорофиллов *a* и *b* также уменьшается при дозе УФВ $8,93$ кДж/м², а затем приближается к контролю. Отметим, что облучение семян α -частицами как чистой линии, так и гибридов немного уменьшает количество пигментов и соответственно соотношение хлорофиллов *a* и *b* при всех дозах (рис. 2). В эксперименте отношение содержания суммы хлорофиллов к каротиноидам у чистой линии (zpr1225) и гибрида (zр341) варьирует в пределах 88–92% и не зависит от дозы облучения, что свидетельствует об адаптации к облучению (рис. 2).

Таким образом, облучение семян кукурузы оказывает специфическое влияние не только на

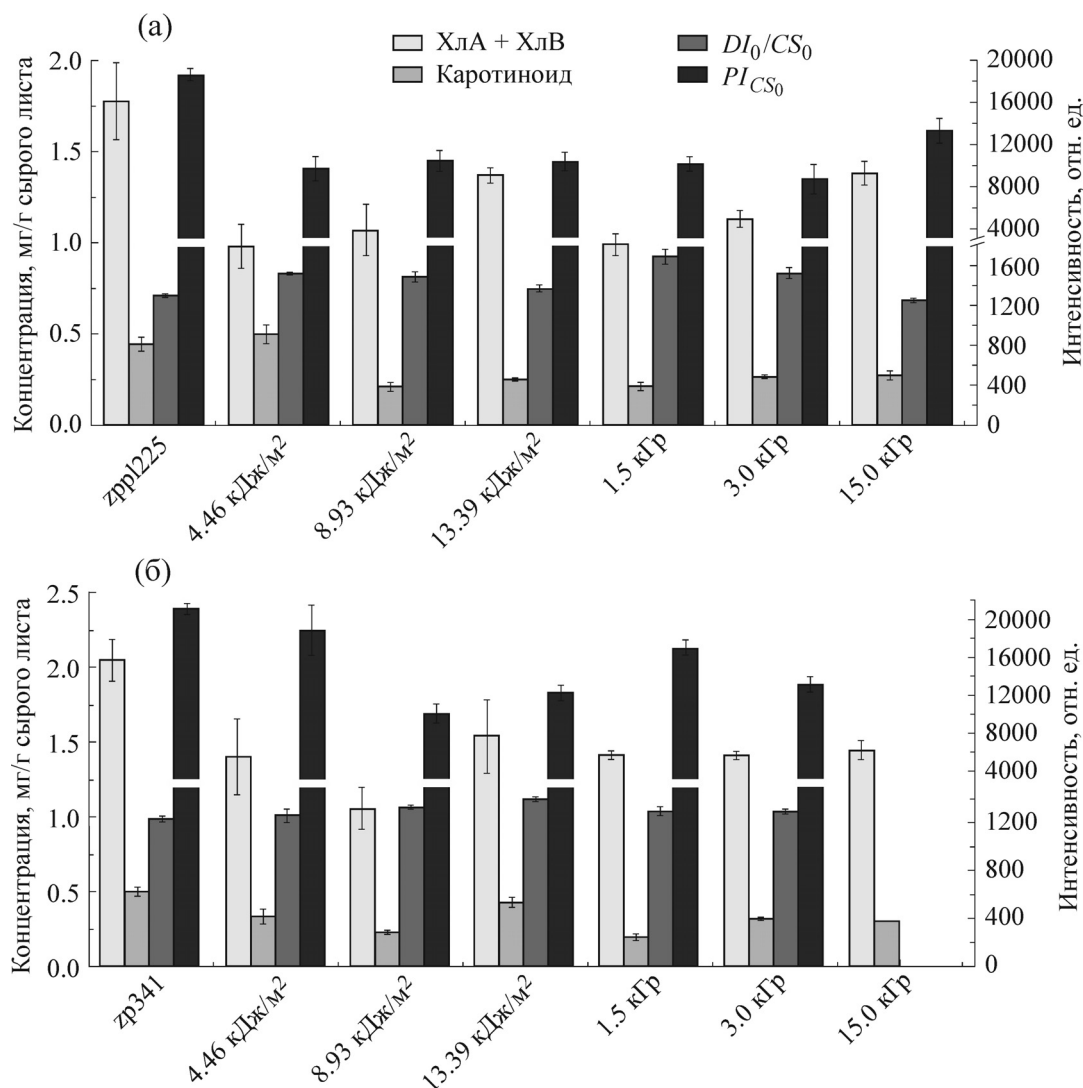


Рис. 1. Изменения содержания пигментов и параметров индукции флуоресценции (DI_0/CS_0 , PI_{CS_0}) листьев кукурузы после облучения семян чистая линия zrp1225 (а) и гибрид zp341 (б).

скорость прорастания семян, но и на характер онтогенеза растений. Изменение содержания хлорофилла в листьях может свидетельствовать об изменении работы фотосинтетического аппарата растений, выращенных из облученных семян.

Исследование функционирования фотосинтетического аппарата листа при УФ-облучении и действии α -частиц на семена. Для оценки работы фотосинтетического аппарата листа использовали метод индукции флуоресценции хлорофилла (рис. 3). Индукционные кривые БФ чистой линии и гибрида семян кукурузы соответствуют описанным в литературе [7,17]. После включения действующего света наблюдалось несколько характерных фаз индукции флуоресценции, так называемые О–J–I–P-переходы [6].

Известно, что начальный уровень флуоресценции О (Origin) соответствует интенсивности флуоресценции при «открытых» РЦ ФС II (F_0), когда все первичные акцепторы Q_A находятся в окисленном состоянии. Постепенное увеличение флуоресценции в наблюдаемое в фазе О–J обусловлено восстановлением Q_A^- , далее последующие фазы отражают накопление Q_A^- в результате восстановления акцепторов пула хинонов [7,18].

Сравнение чистой линии и гибрида выявило различия в работе фотосинтетического аппарата. На рис. 3а показаны индукционные кривые БФ, нормированные на F_0 . Наиболее значительным отличием является несколько увеличенная амплитуда фазы I–P у гибридной линии. Появление фазы I–P на индукционной кривой

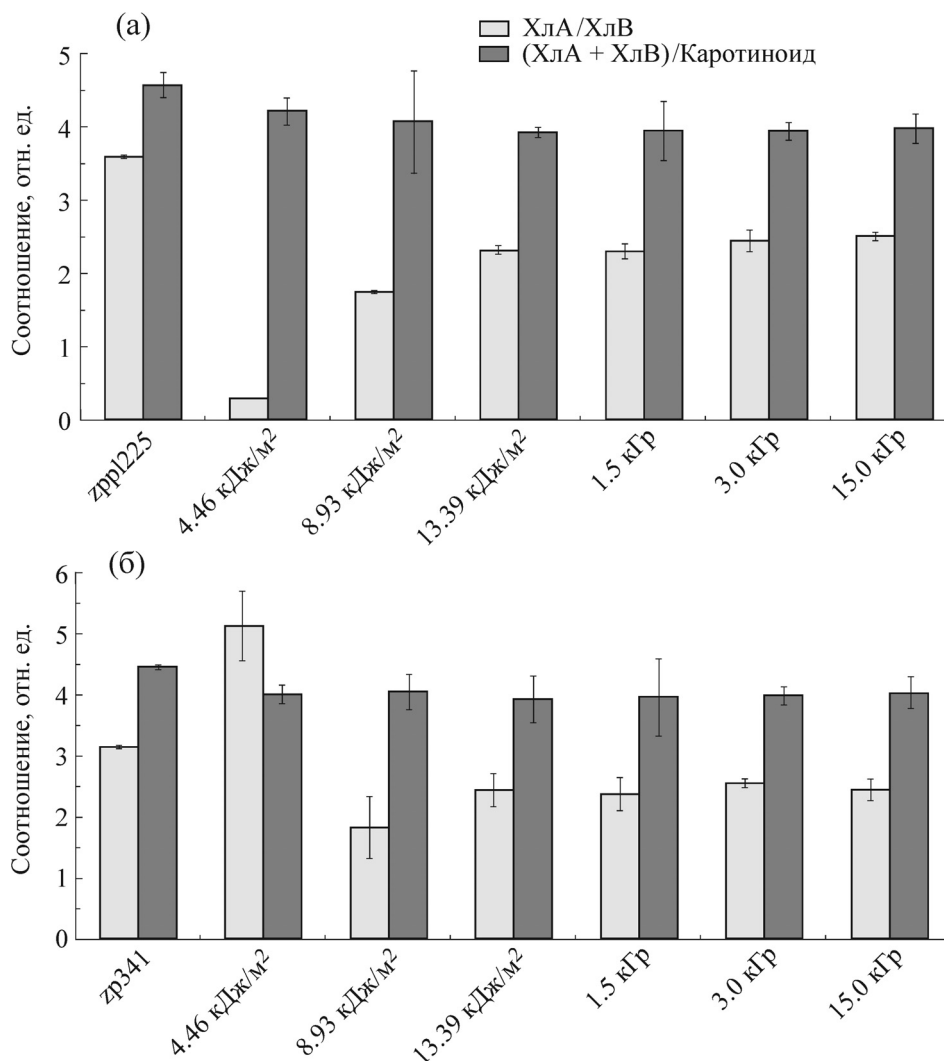


Рис. 2. Изменение соотношений содержания хлорофиллов *a* и *b* (ХлА/ХлВ) и содержания хлорофиллов к каротиноидам в листьях растений кукурузы после облучения семян кукурузы чистой линии zrpl225 (а) и гибрида zr341 (б).

связывают с заполнением первичных акцепторов ФС I, возрастание же данной фазы у гибрида zr341 может быть связано с увеличенным пулом первичных акцепторов ФС I.

Для более подробного анализа О–J–I–P-переходов использовали так называемый JIP-тест (рис. 3б). Видно, что максимальный квантовый выход (F_V/F_M) у гибрида немного отличается от чистой линии. Вероятность/эффективность переноса электрона далее Q_A (ψ_O) и связанный с ним параметр квантового выхода электронного транспорта (ϕ_{E_0}) также увеличены у гибрида. Вероятность/эффективность переноса электрона к акцепторам ФС I (δ_{R_0}) и связанный с ним параметр квантового выхода переноса электронов (ϕ_{R_0}) у гибрида были увеличены по сравнению с чистой линией на 18 и 20% соот-

ветственно. Сравнение индексов производительности ФС II (PI_{ABS}) чистой линии и гибрида показало, что у гибрида показатель функциональной активности ФС II находится на более высоком уровне.

Одновременная регистрация изменений редокс-состояния пигмента P700 ФС I и кинетики БФ позволяет оценить эффективность миграции электрона между обоими фотосистемами (рис. 3а). У адаптированного к темноте растения РЦ находятся преимущественно в восстановленном состоянии (MR_O), а при включении света стимулируется окисление центров P700 (амплитуда окисления $\Delta MR_{fast} = MR_O - MR_{min}$). Максимум накопления окисленных центров P700⁺ (точка $MR_{min} \sim 30$ мс) наблюдается между фазами J–I. Поступление электронов на акцепторную сторону с пластоцианина и далее от

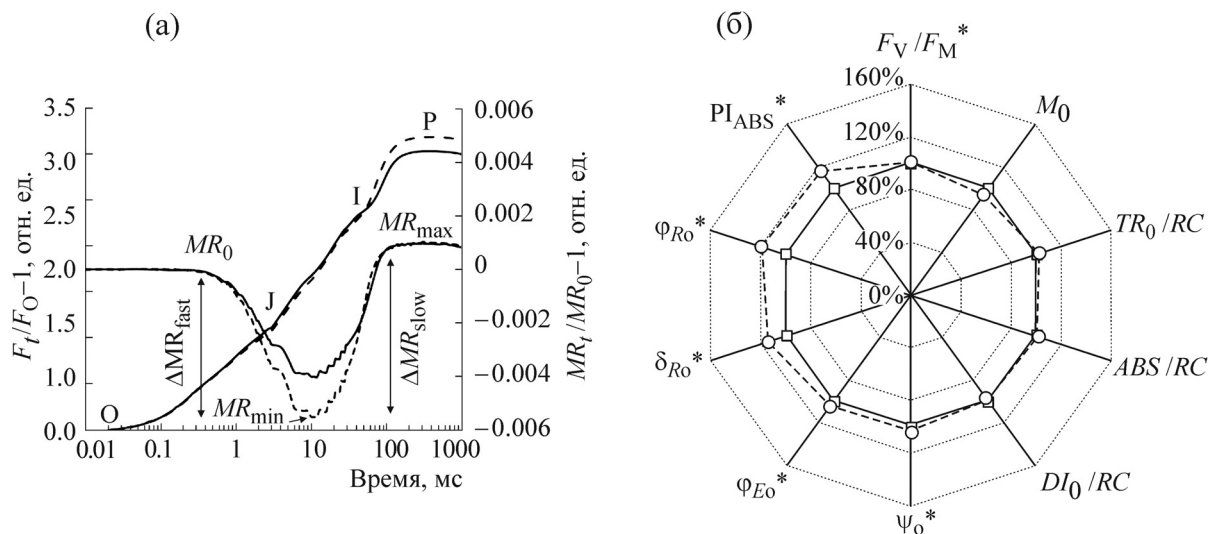


Рис. 3. Индукционные кривые БФ и светоиндуцированные переходы P700 РЦ ФС I (а) и диаграмма сравнения параметров ЛР-теста (б) у листьев кукурузы различных генотипов: инбредная линия zprp1225 (сплошная линия) и гибрид zpr341 (пунктирная линия). Звездочки указывают на статистически значимые различия ($P < 0,05$) между гибридом (zpr341) и инбредной линией (zprp1225).

пула пластохинонов вызывает восстановление окисленных центров P700 во временном промежутке между фазами J–P с выходом на плато MR_{max} . В дальнейшем наблюдается вторичное окисление центров P700, вызванное активацией ферментов цикла Кальвина [17]. Сравнение чистой линии (zprp1225) и гибрида (zpr341) показало, что амплитуда первичного окисления MR_{fast} немного увеличена у гибридной линии, т.е. они отличаются по количеству окисленных центров P700⁺ (в точке минимума MR_{min}), что может свидетельствовать о большей скорости окисления РЦ ФС I у гибрида (рис. 3а). Восстановление центров P700 и выход кривых на плато (MR_{max}) происходит синхронно у гибрида и чистой линии, но в то же время существуют различия в амплитуде восстановления (MR_{slow}), что позволяет сделать предположение об увеличенной скорости восстановления центров P700 у гибрида. Это коррелирует с большей эффективностью переноса электронов от ФС II по данным флуоресценции.

Известно, что интенсивность свечения ЗФ зависит как от количества предшественников ЗФ, так и от величины электрохимического градиента на тилакоидной мембране (мембранный электрический потенциал $\Delta\psi$ и трансмембранный протонный градиент ΔpH). Индукционную кривую ЗФ разделяют на «быструю» (10–50 мс; пики I_1 и I_2) и «медленную» фазу (при временах ~1 с; пики I_3 , I_4 и т. д.), причем пик I_1 совпадает с фазой возрастания J–I, а пик I_2 – с фазой I–P на O–J–I–P-кривой БФ. Наличие этих пиков обусловлено в большей

мере вкладом микросекундных и миллисекундных компонент кривой затухания ЗФ, а также усилением интенсивности ЗФ за счет образующегося потенциала на мембране ($\Delta\psi$), а пика I_3 – с образованием трансмембранного протонного градиента на мембране (ΔpH), который снижает энергию активации реакции обратной рекомбинации зарядов и усиливает интенсивность ЗФ [18–20]. Сравнение интенсивностей пиков на индукционной кривой ЗФ у чистой линии и гибрида не выявило существенных отличий (данные не показаны).

При облучении семян УФВ и α -частицами у листьев наблюдали снижение амплитуды переменной флуоресценции F_v ($F_v = F_M - F_0$) преимущественно за счет F_M , что свидетельствует об уменьшении величины константы скорости фотохимического возбуждения РЦ (qP). Вероятно, уменьшение F_M может свидетельствовать о возрастании нефотохимического тушения [16]. В табл. 1 и 2 показаны результаты «ЛР-теста» листьев растений чистой и гибридной линии, подвергавшихся воздействию облучений на стадии семян. Облучение семян вызывало на листьях гибрида и чистой линии достоверное увеличение эффективности захвата экситона РЦ (TR_0/RC), что вызывало увеличение роста амплитуды фазы O–J. Увеличение относительной фазы O–J ($V_J = 1 - \psi_0$) свидетельствует увеличение доли Q_B -невосстанавливающих центров ФС II [16,18]. Появление этих центров замедляет скорость реокисления Q_A^- , снижая вероятность переноса электрона далее

Таблица 1. Параметры ИР-теста, ЗФ и редокс-превращений P700 у облученных семян после прорастания на листьях третьего порядка у чистой линии кукурузы zrp1225

	Контроль		УФВ						α -Излучение					
			4,46 кДж/м ²		8,93 кДж/м ²		13,39 кДж/м ²		1,5 кГр		3,0 кГр		15 кГр	
F_V/F_M	0,762	100%	0,731*	96%	0,746*	98%	0,745*	98%	0,722*	95%	0,719*	94%	0,761	100%
ABS/RC	2,36	100%	2,88*	122%	2,81*	119%	2,59	110%	2,79*	118%	2,98*	126%	2,64	112%
DI_O/RC	0,558	100%	0,776*	139%	0,737*	132%	0,656	118%	0,788*	141%	0,839*	150%	0,618	111%
TR_O/RC	1,80	100%	2,10*	117%	2,06*	114%	1,95	108%	2,00*	111%	2,14*	119%	1,99	110%
Φ_{E_0}	0,712	100%	0,626*	88%	0,633*	89%	0,626*	88%	0,649*	91%	0,616*	87%	0,665	93%
Ψ_0	0,540	100%	0,457*	85%	0,472*	87%	0,467*	86%	0,469*	87%	0,442*	82%	0,505	94%
δ_{R_0}	0,376	100%	0,343	91%	0,370	98%	0,362	96%	0,369	98%	0,337	90%	0,407	108%
Φ_{R_0}	0,205	100%	0,157*	76%	0,174*	85%	0,169	82%	0,170	83%	0,151*	74%	0,208	101%
PI_{ABS}	3,40	100%	1,58*	46%	1,79*	53%	1,90*	56%	1,69*	50%	1,37*	40%	2,43	71%
DI_O/CS_O	1294	100%	1529*	118%	1438	111%	1361	105%	1619*	125%	1486	115%	1230	95%
PI_{CS_0}	18362	100%	3345*	18%	4807*	26%	4508*	25%	10057*	55%	7115*	39%	12698	69%
I_1	5733	100%	3875*	68%	4230*	74%	4128*	72%	4341*	77%	3806*	67%	4371*	77%
ΔMR_{fast}	0,0041	100%	0,0029	72%	0,0026	63%	0,0032	78%	0,0028	69%	0,0023	56%	0,0040	97%
ΔMR_{slow}	0,0052	100%	0,0036	69%	0,0037	72%	0,0039	75%	0,0036	70%	0,0029	56%	0,0048	92%

Примечание. Звездочки указывают на статистически значимые различия ($P < 0,05$) между опытной и контрольной группой.

Q_A (Ψ_0) и снижая квантовый выход электронного транспорта (Φ_{E_0}) за пределы Q_A^- в ФС II. Увеличение параметра ABS/RC в облученных листьях при относительно постоянном поглощении на поперечное сечение ABS/CS_O (не показано) косвенно показывает относительное уменьшение «активных» РЦ. Известно, что уменьшение «активных» РЦ приводит к повы-

Таблица 2. Параметры ИР-теста, ЗФ и редокс-превращений P700 у облученных семян после прорастания на листьях 3-го порядка у гибрида кукурузы zр341

	Контроль		УФВ						α -Излучение			
			4,46 кДж/м ²		8,93 кДж/м ²		13,39 кДж/м ²		1,5 кГр		3,0 кГр	
F_V/F_M	0,773	100%	0,756	98%	0,749*	97%	0,742*	96%	0,766	99%	0,761*	98%
ABS/RC	2,39	100%	2,76	115%	2,81*	118%	2,66	111%	2,51	105%	2,66*	111%
DI_O/RC	0,543	100%	0,674	124%	0,712*	131%	0,686*	126%	0,583	107%	0,637*	117%
TR_O/RC	1,85	100%	2,09	113%	2,09*	113%	1,97	107%	1,92	104%	2,02*	109%
Φ_{E_0}	0,737	100%	0,658	89%	0,646*	88%	0,673*	91%	0,699*	95%	0,657*	89%
Ψ_0	0,572	100%	0,498	87%	0,484*	85%	0,501*	88%	0,535*	94%	0,501*	88%
δ_{R_0}	0,426	100%	0,354	83%	0,341	80%	0,437	102%	0,409	96%	0,404	95%
Φ_{R_0}	0,243	100%	0,173	71%	0,165*	68%	0,215	88%	0,218*	89%	0,202*	83%
PI_{ABS}	4,11	100%	2,18	53%	1,93*	47%	2,25	55%	2,98	72%	2,38*	58%
DI_O/CS_O	1241	100%	1313	106%	1329	107%	1386	112%	1274	103%	1294	104%
PI_{CS_0}	12509	100%	4560	36%	4100*	33%	7052	56%	8671	69%	6425*	51%
I_1	4578	100%	4270*	93%	4153*	91%	4483	98%	4594	100%	4517	99%
ΔMR_{fast}	0,0055	100%	0,0037	68%	0,0032	59%	0,0039	72%	0,0041	74%	0,0045	82%
ΔMR_{slow}	0,0068	100%	0,0045	66%	0,0038	57%	0,0047	69%	0,0050	74%	0,0053	79%

Примечание. Звездочки указывают на статистически значимые различия ($P < 0,05$) между опытной и контрольной группой.

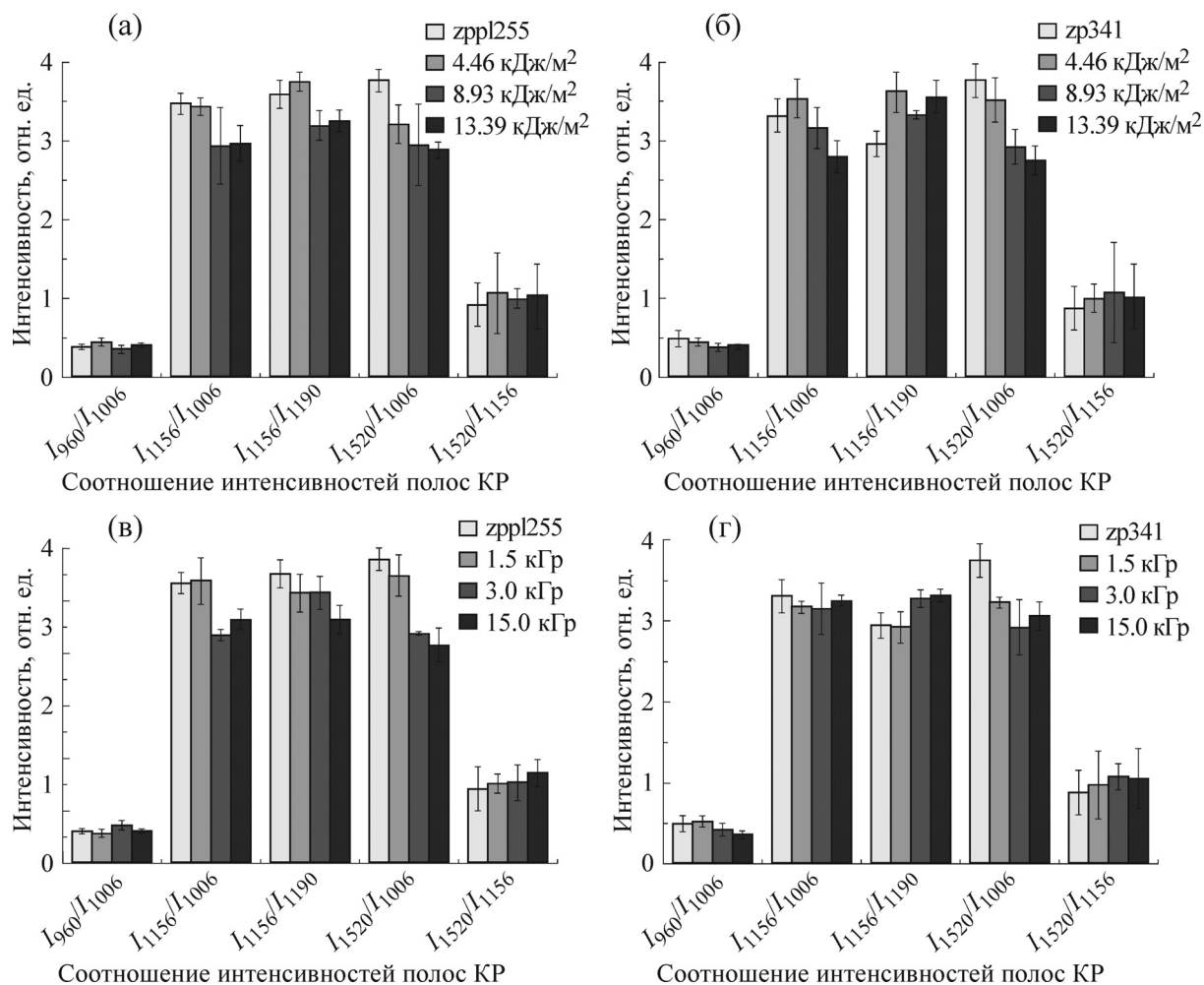


Рис. 4. Изменение параметров КР-спектра каротиноидов листьев кукурузы при облучении УФВ (а, в) и α -частицами (б, г).

шению диссипации энергии в тепло антенными комплексами [7]. Действительно, при воздействии УФВ и α -частицами происходит увеличение диссипации поглощенной энергии в тепло, что отражается в изменении параметров DI_O/RC , DI_O/CS_O и ϕ_{D_0} ($\phi_{D_0} = 1 - F_V/F_M$) [7]. После воздействия УФВ на семена выявлено достоверное снижение PI_{ABS} на листьях, кроме облучения семян гибрида zp341 дозой 4,46 кДж/м², при воздействии α -частиц на семена значения PI_{ABS} у листьев были ниже контроля.

При облучении семян наблюдали незначительные уменьшения амплитуды окисления P700 (ΔMR_{fast}) и восстановления (ΔMR_{slow}) у листьев кукурузы. Минимальные изменения от контроля выявлены у гибрида zp341 (табл. 2).

У чистой линии кукурузы при воздействии УФВ выявлено снижение всех пиков ЗФ при всех дозах облучения, однако максимальный эффект обнаружен в изменении пика I_1 . Воз-

действие α -частиц имело аналогичный характер, значительные изменения касались пика I_1 ЗФ у чистой линии. Тем самым можно сказать, что облучение семян вызывало снижение электрохимического градиента $\Delta\psi$ на тилакоидной мембране в результате ингибирования переноса электронов на донорной и акцепторной стороне ФС II [21].

Исследование конформационных изменения молекул каротиноидов листа при УФ-облучении и действия α -частиц на семена линий и гибридов кукурузы. В ходе исследования изменений конформации пигментов листа в КР-спектрах листьев были выявлены полосы, характерные для молекул каротиноидов в диапазоне частот 800–1800 см⁻¹: ν_1 (960 см⁻¹), ν_2 (1006 см⁻¹), ν_3 (1156 см⁻¹), ν_4 (1190 см⁻¹), ν_5 (1520 см⁻¹) [5] (рис. 4). Установлено, что при УФВ-облучении семян с дозами более 4,46 Дж/м² и 1,5 кГр у обоих генотипов снижается интенсивность ва-

лентных колебаний ($-C=C-$)-связей и отсутствуют изменения колебаний ($-C-C-$)-связей (при всех дозах облучения УФВ и до 15 кГр при облучении α -частицами). Вероятно, снижение величины соотношения I_{1520}/I_{1156} , свидетельствует об изменении конформации молекулы (увеличении длины полиеновой цепи каротиноида). Отметим, что в каротиноидах листьев zpp1225 уменьшение величины I_{1520}/I_{1156} было более выраженным при облучении α -частицами, чем при воздействии УФВ. Другой параметр изменения конформации молекулы (соотношение I_{960}/I_{1006}) не изменялся, что, вероятно, обусловлено отсутствием скручивания полиеновой цепи каротиноида. Итак, облучение семян оказывает влияние на конформацию молекулы пигмента (увеличение длины полиеновой цепи и доли молекул каротиноидов в 15-*cis*-конформации). Облучение семян дозой в 15 кГр приводит к снижению интенсивности соотношения I_{960}/I_{1006} каротиноидов листа, что, вероятно, свидетельствует о появлении новой конформации молекулы за счет поворота полиеновой цепи вне плоскости водорода. Отметим, что выявленные изменения молекул каротиноидов невелики (менее 15%).

Таким образом, облучение семян УФВ в диапазоне от 5,0 до 13,39 кДж/м² и при облучении α -частицами от 1,5 до 3,0 кГр наблюдается стимуляция роста растений и прорастания семян. Облучение семян высокими дозами α -частиц (15 кГр) приводит к ингибированию роста и развития растения. Действие излучения на семена способно менять не только развитие растения, но и состояние, и функционирование пигментов листа. Например, облучение семян приводит к изменению конформации молекулы каротиноидов фотосистемы (увеличение длины полиеновой цепи и доли молекул в 15-*cis*-конформации), причем эффект зависит от типа облучения (эффект больше при облучении семян α -частицами).

Показано отличие в фотосинтетической активности чистой линии и гибрида кукурузы: у гибрида были немного повышены параметры максимального квантового выхода (F_v/F_m), квантового выхода электронного транспорта далее Q_A (Φ_{E_0}). Наблюдались также высокие показатели квантового выхода восстановления первичных акцепторов электронов на акцепторной стороне ФС I (Φ_{R_0}) и большая степень окисления P700 (MR_{min}), что указывает на значимую разницу в работе ФС II (PI_{ABS}) и наличие большего пула акцепторов на акцепторной стороне ФС I у гибрида кукурузы. Обнаружено, что при воздействии облучения УФ и

α -частицами ингибирование ФС II связано с уменьшением квантового выхода электронного транспорта (Φ_{E_0}) и усилением диссипации энергии в тепло активными реакционными центрами (DI_0/RC) и возрастанием квантовой эффективности рассеивания энергии в тепло (Φ_{D_0}). Показано, что облучение снижает энергизацию фотосинтетических мембран ($\Delta\psi$), что, вероятно, связано со снижением скорости нециклического электронного транспорта на фотосинтетических мембранах. Снижение скорости окисления P700 при облучении, вероятно, вызвано ингибированием переноса электронов на акцепторную сторону ФС I.

Метод индукции флуоресценции является неинвазивным и широко используемым методом для скрининга состояния растений и для оценки толерантности к различным стресс-факторам [22]. Ранее отмечалось, что индекс производительности PI_{ABS} является очень чувствительным параметром для различных культур и для большого круга стрессовых факторов окружающей среды [23,24]. Наши результаты показали, что индекс производительности PI_{ABS} являлся наиболее чувствительным параметром при сравнении гибридов и при воздействии излучений на семена кукурузы. Этот параметр индукции флуоресценции может быть рекомендован для оценки состояния растений в селекционных исследованиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. П. Максименко, Лесное хозяйство **6**, 31 (1997).
2. Е. В. Тютяев, В. В. Шутова, Г. В. Максимов и др., Физиология растений и генетика **47** (2), 147 (2015).
3. А. П. Дубров, *Действие ультрафиолетовой радиации на растения* (АН СССР, М., 1963).
4. П. Кэри, *Применение спектроскопии КР и РКР в биохимии* (Мир, М., 1985).
5. D. Lazár and G. Schansker, *Photosynthesis in silico*, **85**, 483 (2009).
6. R. J. Strasser, et al., *Biochim. Biophys. Acta – Bioenergetics* **1797** (6–7), 1313 (2010).
7. L. S. Chen, P. Li, and L. Cheng, *Environ. Exp. Bot.* **66** (1), 110 (2009).
8. P. Mehta, A. Jajoo, S. Mathur, and S. Bhart, *Plant Physiol. Biochem.* **48** (1), 16 (2010).
9. C. Jedmowski, A. Ashoub, and W. Bruggemann, *Acta Physiol. Plantarum* **35** (2), 345 (2013).
10. A. H. Teramura and J. H. Sullivan, *Photosynth. Res.* **39** (3), 463 (1994).
11. S. Kataria, A. Jajoo, and K. N. Guruprasad, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* **137**, 55 (2014).
12. М. Я. Ахалая, Е. Н. Гончаренко и А. А. Байжуманов, *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **141** (2), 180 (2006).

13. В. М. Лебедев, Г. В. Максимов, Е. Г. Максимов и др. Изв. РАН. Сер. физ. **78** (7), 842 (2014).
14. J. Merlin, Pure Appl. Chem. **57**, 785 (1985).
15. В. Н. Гольцев и др. *Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений* (Институт компьютерных исследований, Ижевск, 2014).
16. A. A. Bulychev, et al., J. Bioenerg. Biomembr. **45** (1–2), 37 (2013).
17. R. J. Strasser, M. Tsimilli-Michael, and A. Srivastava, in *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*, Ed. by G. C. Papaioorgiou and Govindjee (Springer, Netherlands, 2004), pp. 321–362.
18. H. M. Kalaji, et al., Plant Physiol. Biochem. **81**, 16 (2014).
19. V. Goltsev, et al., Photosynth. Res. **101** (2–3), 217 (2009).
20. A. Oukarroum, V. Goltsev, and R. J. Strasser, PloS One **8** (3), 59433 (2013).
21. Д. Н. Маторин и А. Б. Рубин, *Флуоресценция хлорофилла высших растений и водорослей* (ИКИ-РХД., М.–Ижевск, 2012).
22. C. D. Jiang, et al., Photosynthetica **44**, 454 (2006).
23. D. Christen, et al., Environ. Exp. Bot. **60**, 504 (2007).
24. A. Oukarroum, et al., Environ. Exp. Bot. **60**, 438 (2007).

Study of the State of Photosynthetic Pigments when Hybrid Maize Seeds Exposed to Ultraviolet Radiation

O.V. Slatinskaya*, F.F. Protopopov*, N.Kh. Seifullina*, D.N. Matorin*, C.N. Radenovic**, V.V. Shoutova***, and G.V. Maksimov*

*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119892 Russia

**Maize Research Institute, Zemun Polje, Slobodana Bajića 1, Belgrade, 11185 Serbia

***National Research Mordovia State University, Bolshevistskaya ul. 68, Saransk, Republic of Mordovia, 430005 Russia

Using spectral methods, we have investigated the state of the pigments of inbred (zppl225) and hybrid (zp341) maize (*Zea mays* L.) on exposure of seeds to ultraviolet radiation and α -particles. Exposure to different ultraviolet radiation doses from 5 to 13.39 kJ/m² and α -particles from 1.5 to 3 kGy elicited stimulation of plant growth and seed germination. Seed exposure to a high dose of α -particles (15 kGy) leads to inhibition of plant growth and development. The effects of radiation on seeds can change the state and function of the pigments present in the leaves. Seed irradiation induces a change in the conformation of carotenoid molecules (increasing the length of the polyene chain and part of the molecule in 15-*cis* conformation), the effect depends on the type of irradiation (the effect was of greater magnitude when seeds were exposed to α particles). It is shown that the photosynthetic apparatus in the hybrid (zp341) maize is characterized by a relatively increased phase of I–P on the induction curve of fast fluorescence and a higher degree of oxidation of the P700 reaction center, indicating a larger pool of acceptors on the acceptor side of the photosystem I in the hybrid maize. Seed exposure to ultraviolet radiation and α -particles causes inhibition in the leaves of reactions in photosystem II, observed as a decrease in the quantum yield of electron transport (ϕE_0), an enhancement of non-photochemical quenching (DI_0/RC and ϕDo) and a decrease of the energy of thylakoid membranes ($\Delta\psi$ more). The greatest decrease induced by radiation was determined on the basis of a generalized index of photosystem II production (PI_{ABS}). The PI_{ABS} production index can be recommended for assessing plant status based on studies of genetic differences.

Key words: *Zea mays* L., ultraviolet radiation, alpha particles, carotenoid, Raman spectroscopy, chlorophyll fluorescence