

УДК 634.6:58.036.5:581.132

DOI: 10.36305/0513-1634-2020-137-133-138

## ВЛИЯНИЕ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР НА СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВЕЧНОЗЕЛЕННЫХ ВИДОВ РОДА *OSMANTHUS* LOUR.

Татьяна Борисовна Губанова

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН,  
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, Никитский спуск, 52

E-mail: gubanova-65@list.ru

Представлены результаты исследований фотосинтетических процессов в однолетних листьях двух видов рода *Osmanthus* – *Osmanthus x fortunei* и *O. fragrans* в условиях холодного периода на Южном берегу Крыма и при контролируемом действии отрицательных температур. Показано, что основные параметры ИФХ в однолетних листьях *O. x fortunei* в течение зимних месяцев характеризовались относительно большей стабильностью, по сравнению с *O. fragrans*. Действие температуры  $-8,0^{\circ}\text{C}$  в течение 8 часов на листья вида у *O. fragrans* стало причиной снижения коэффициента спада флуоресценции до нижней границы нормы витальности и значительному возрастанию процессов тепловой диссипации световой энергии. Установлено, что температура  $-10,0^{\circ}\text{C}$  является критической для листьев *O. fragrans*, что свидетельствует о его более низкой морозостойкости. Изменения в состоянии ФС II зависит как от продолжительности, так и от интенсивности низкотемпературного воздействия. Выявлено, что у более резистентного вида *O. x fortunei* относительно продолжительное действие температуры  $-10^{\circ}\text{C}$  и короткое  $-8^{\circ}\text{C}$  оказывает сходное влияние на состояние фотосинтетического аппарата, что вероятно, связано с особенностями активации защитных механизмов.

**Ключевые слова:** *Osmanthus Lour.*; индукция флуоресценции хлорофилла; морозостойкость; фотосинтез

### Введение

При решении задач интродукции, проблема низкотемпературной устойчивости приобретает особую актуальность. Результаты исследований морозостойкости вечнозеленых листовых интродуцентов важны как в теоретическом, так и в практическом аспектах, поскольку позволяют выявить особенности механизмов адаптации их фотосинтетического аппарата к отрицательным температурам, а также установить потенциальную морозостойкость видов растений. Одним из существенных моментов в процессе отбора видов растений с высокой устойчивостью к стрессовым условиям окружающей среды являются экспериментальные подходы, позволяющие в условиях *in vivo* следить за их физиологическим состоянием и наблюдать ответную реакцию, а также делать оценку их потенциальных возможностей выживать в этих неблагоприятных условиях. В настоящее время в научной литературе имеется обширная информация о течении фотосинтетических процессов при действии стрессоров различной природы [1, 2, 6]. Что же касается влияния отрицательных температур на параметры индукции флуоресценции хлорофилла (ИФХ) у вечнозеленых, то в данном случае, большая часть работ посвящена хвойным растениям [7, 8, 10]. Информация о реакции листовых – отрывочна. В частности, в Никитском ботаническом саду в 70-е годы проводились исследования дневного ритма фотосинтетической активности у некоторых вечнозеленых интродуцентов в годичном цикле. Авторами был сделан вывод об относительно высокой фотосинтетической активности в зимнее время у *O. fragrans* и ее снижении у *O. x fortunei* [5]. В рамках исследований морозостойкости некоторых вечнозеленых видов семейства Oleaceae получены данные о том, что отрицательные температуры оказывают существенное влияние на уровень максимальной флуоресценции и эффективность световой фазы

фотосинтеза у представителей родов *Olea* и *Ligustrum*. Установлено, что при наличии условий, необходимых для прохождения второй стадии закалывания, фотосинтетический аппарат в меньшей степени повреждается отрицательными температурами у вечнозеленых видов рода *Ligustrum*, в отличие от генотипов *O. europaea* [3]. В связи с этим, цель наших исследований заключалась в выявлении особенностей течения фотосинтетических процессов у двух видов рода *Osmanthus*, в условиях действия отрицательных температур различной интенсивности и продолжительности.

### Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследований были выбраны два вида рода *Osmanthus*: *Osmanthus x fortune* Cagniere и *O. fragrans* Lour. Интенсивность флуоресценции хлорофилла измеряли в течение холодного периода (ноябрь-март 2019-2020 гг.) у листьев текущей генерации, отобранных с однолетних побегов. Для выявления влияния отрицательных температур различной интенсивности и продолжительности воздействия была проведена серия экспериментов по искусственному промораживанию:  $-8^{\circ}\text{C}$  в течение 8 и 12 часов (варианты 1 и 2, соответственно);  $-10^{\circ}\text{C}$  в течение 8 и 12 часов (вариант 3 и 4). Опыты осуществляли в климатической камере ТТС 256 (Германия, 2014) с предварительной закалкой при  $0^{\circ}\text{C}$ , градиент изменения температуры –  $2^{\circ}\text{C}$ . Контролем служили листья, не подвергавшиеся низкотемпературному воздействию, предварительно адаптированные в лабораторных условиях ( $+18^{\circ}\text{C} \dots +20^{\circ}\text{C}$ ) в течение 12 часов. ИФХ измеряли с помощью портативного хронофлуориметра «Флоратест» (Украина, 2010) [4, 9]. Состояние ФС II оценивали по следующим параметрам фотоиндукционной кривой:  $F_0$  – базовый уровень флуоресценции;  $F_m$  – максимальное значение флуоресценции;  $F_{st}$  – стационарный уровень флуоресценции. А также использовали расчетные параметры флуоресценции:  $F_v = F_m - F_0$  – варибельная флуоресценция;  $(F_m - F_{st})/F_{st}$  – характеристика тепловой диссипации энергии возбужденных молекул хлорофилла;  $F_v/F_{st}$  – коэффициент спада флуоресценции (индекс жизнеспособности);  $F_v/F_m$  – эффективность световой фазы фотосинтеза;  $F_v/F_0$  – соотношение констант скоростей первичной фотохимической реакции и общей скорости нефотохимических потерь энергии возбуждения в ФС II. Все эксперименты были проведены в 3-х кратной повторности. Для статистической обработки использовали программу MS Excel 2007. Достоверность различий между вариантами оценивали по t-критерию Стьюдента при 5% уровне значимости. В таблицах и на графиках представлены средние значения определений и их стандартные ошибки.

### Результаты и их обсуждение

Согласно данным агрометеостанции «Никитский сад», холодный период 2019-2020 г. характеризовался относительно теплыми погодными условиями: средняя температура ноября превышала климатическую норму на  $2,5^{\circ}\text{C}$ , декабря и января – на  $2,4^{\circ}\text{C}$  и  $1,9^{\circ}\text{C}$ , соответственно, а в феврале – на  $2,0^{\circ}\text{C}$ . В марте был зафиксирован рекордно высокий температурный фон, за весь период наблюдений (с 1930г.) – среднемесячная температура воздуха превысила климатическую норму на  $4,0^{\circ}\text{C}$  и составляла  $9,3^{\circ}\text{C}$ . Значительные понижения температуры воздуха, до  $-7,1^{\circ}\text{C} \dots -8,6^{\circ}\text{C}$  отмечались в конце первой декады февраля. В указанных погодных условиях были выявлены сходства и различия в работе фотосинтетического аппарата у изучаемых видов. Так, максимальная активность ФС II наблюдалась в ноябре у обоих видов, снижение основных параметров ИФХ у *O. fragrans* – в декабре, а у *O. x fortune* – феврале (рис. 1). Необходимо отметить, что величины базовой, максимальной и варибельной флуоресценции у *O. x fortune* плавно снижались в течение зимних

месяцев и возрастали в марте. В тоже время, у *O. fragrans* параметры ИФХ в марте практически не отличались от таковых в ноябре. Полученные данные позволяют сделать предположение о более высокой чувствительности фотосинтетического аппарата однолетних листьев *O. fragrans*, по сравнению с *O. x fortunei*.

В результате анализа влияния отрицательных температур различной продолжительности и интенсивности на течение фотосинтетических процессов в листьях двух видов рода *Osmanthus* установлено, что листовый аппарат *O. x fortunei* характеризуется более высокой морозостойкостью. В частности, у *O. fragrans* в следствие действия температуры  $-8,0^{\circ}\text{C}$  в течение 8 часов, коэффициент спада флуоресценции снизился на 45% и достиг нижней границы нормы витальности, в то время как у *O. x fortunei* этот параметр уменьшился на 24%.

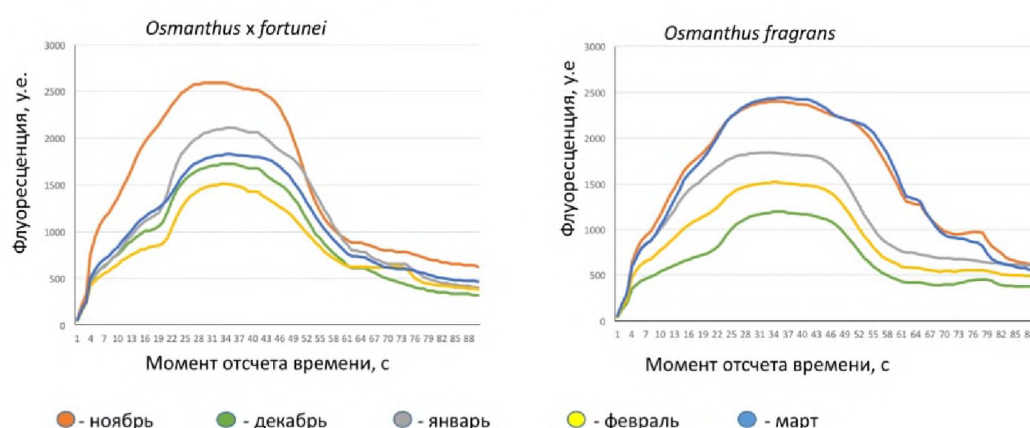


Рис. 1 Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла у видов *O. fragrans* и *O. x fortunei* во время холодного периода 2019-2020 г.

Указанные условия привели к значительному падению уровня максимальной флуоресценции и величины вариабельной у обоих видов – в среднем на 35% и 40%, соответственно. Процессы тепловой диссипации световой энергии возросли в большей степени у вида *O. fragrans* (на 52%), а у *O. x fortunei* – на 27%, что является показателем достаточно эффективной работы ФСII у этого вида в условиях низкотемпературного стресса (табл. 1).

Таблица 1

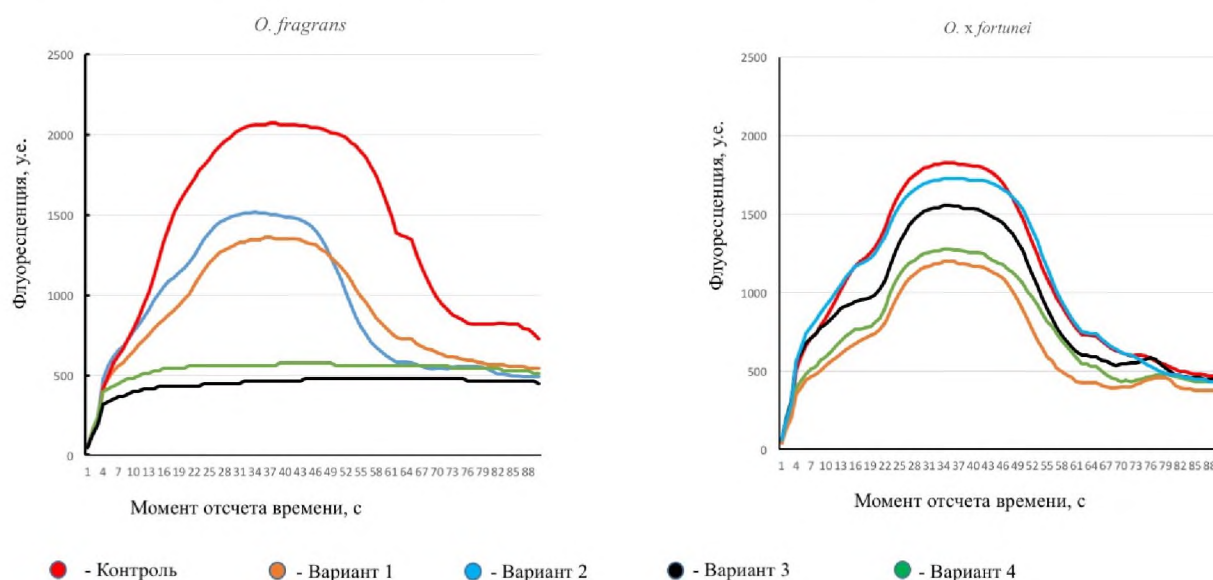
Изменения параметров ИФХ у *O. x fortunei* и *O. fragrans* при действии отрицательных температур

Параметры ИФХ время	<i>O. x fortunei</i>							
	$F_0$	$F_m$	$F_{st}$	$F_v$	$F_v/F_{st}$	$(F_m - F_{st})/F_{st}$	$F_v/F_m$	$F_v/F_0$
контроль	560±16	1828±32	464±11	1268	2,73	2,94	0,69	2,26
-8°C 8 часов	400±12	1200±25	384 ±13	800	2,08	2,13	0,67	2,00
-8°C 12 часов	656±14	1728±37	472±16	1072	2,27	2,66	0,62	1,63
-10°C 8 часов	560±13	1560±28	472±13	1000	2,12	2,31	0,64	1,79
-10°C 12 часов	392±12	1280±39	440±12	888	2,02	1,91	0,69	2,27
	<i>O. fragrans</i>							
	$F_0$	$F_m$	$F_{st}$	$F_v$	$F_v/F_{st}$	$(F_m - F_{st})/F_{st}$	$F_v/F_m$	$F_v/F_0$
контроль	476±15	2072±27	540±18	1596	2,96	2,84	0,77	3,35
-8°C 8 часов	424±12	1360±28	568 ±16	936	1,65	1,39	0,69	2,20
-8°C 12 часов	560±11	1520±34	548 ±14	960	1,75	1,39	0,63	1,71
-10°C 8 часов	*	*	*	*	*	*	*	*
-10°C 12 часов	*	*	*	*	*	*	*	*

Примечание: \* – исследования не проводились в связи с гибелью листа.

Действие температуры  $-8,0^{\circ}\text{C}$  в течение 8 часов вызвало значительное уменьшение соотношения констант скоростей реакций фотохимической и нефотохимической дезактивации энергии возбуждения (на 35%) у вида *O. fragrans*, что свидетельствует о наличии нарушений в кислород-выделяющем комплексе [10, 11].

Более длительное действие температуры  $-8,0^{\circ}\text{C}$  (12 часов) вызвало менее интенсивные изменения в течении быстрой фазы ИФХ у вида *O. x fortunei*, что вероятно, связано с развитием адаптационного синдрома, но при этом способствовало значительному снижению параметра  $F_v/F_0$ , определяющего как эффективность фотоокисления воды, так и процессов формирования гасящих флуоресценцию состояний пигмента РЦ,  $P680^{+}$ . Анализ параметров кривой ИФХ показал, что увеличение продолжительности действия температуры  $-8^{\circ}\text{C}$  на фотосинтетический аппарат *O. fragrans* привело к увеличению энергетических потерь при ее миграции по пигментной матрице ( $F_0$ ) и снижению соотношения максимальной и базовой флуоресценции, что свидетельствует о разрушении ФСII. При усилении интенсивности температурного воздействия ( $-10^{\circ}\text{C}$ ), вне зависимости от его продолжительности, была зафиксирована гибель листьев на однолетних побегах у вида *O. fragrans*, что подтверждается отсутствием выраженных пиков на кривой ИФХ (рис. 2).



**Рис. 2** Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла у видов *O. fragrans* и *O. x fortunei* при действии отрицательных температур различной интенсивности и продолжительности

В экспериментах по искусственному промораживанию при  $-10^{\circ}\text{C}$ , в течение 8 и 12 часов было установлено, что у вида *O. x fortunei* изменения параметров ИФХ при относительно коротком воздействии данной температуры, были близки к продолжительному действию  $-8^{\circ}\text{C}$ . А влияние температуры  $-10^{\circ}\text{C}$  в течение 12 часов оказалось сходным с таковым при восьми часовой экспозиции температуры  $-8^{\circ}\text{C}$ . Такая картина, вероятно, связана с особенностями течения адаптационных процессов. В частности, сходство реакции фотосинтетического аппарата на продолжительное действие температуры  $-10^{\circ}\text{C}$  и более короткое –  $-8^{\circ}\text{C}$  может быть объяснено скоростью прохождения адаптивных процессов и количеством времени, необходимого для их завершения.



### Выводы

Анализ параметров ИФХ в течение холодного периода 2019-2020 г на ЮБК у двух видов рода *Osmanthus* показал, что фотосинтетический аппарат *O. x fortune* характеризуется более стабильной работой в зимние месяцы в отличие от вида *O. fragrans*. В контролируемых условиях установлено, что фотосинтетический аппарат вида *O. x fortune* обладает более высокой морозостойкостью.

Действие температуры  $-8,0^{\circ}\text{C}$  на однолетние листья *O. fragrans* вызывает значительные нарушения в работе ФС II, что позволяет считать данную температуру критической для этого вида. Показано, что степень изменений параметров ИФХ зависит от продолжительности и интенсивности низкотемпературного воздействия. У устойчивого вида *O. x fortune* выявлено сходство реакции фотосинтетического аппарата на относительно продолжительное действие температуры  $-10,0^{\circ}\text{C}$  и короткого  $-8,0^{\circ}\text{C}$ , что вероятно связано с особенностями активации защитных механизмов.

*Исследования выполнены на оборудовании ЦКП «Физиолого-биохимические исследования растительных объектов» (ФБИ РО) ФГБУН "НБС-НИЦ" (г. Ялта, Россия)*

### Список литературы

1. Гаевский Н.А., Моргун В.Н. Использование переменной и замедленной флуоресценции хлорофилла для изучения фотосинтеза растений // Физиология растений – 1993. – Т. 40. – № 1. – С. 119-127.
2. Гольцев В.Н., Кузманова М.А., Каладжи Х.М., Аллахвердиев С.И. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений. – Ижевск-Москва: Институт компьютерных исследований, 2014. – 220 с.
3. Губанова Т.Б. Влияние отрицательных температур на фотосинтетическую активность у некоторых вечнозеленых видов семейства Oleaceae // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2019. – №70. – С. 158-167.
4. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. – К.: Альтерпрес, 2002. – 188 с.
5. Куликов Г.В., Ярославцева З.П., Чемарин Н.Г. О зимнем фотосинтезе у вечнозеленых листовных растений в Крыму // Бюллетень ГНБС – 1974. – Вып. 3 (25). – С. 23-26.
6. Bassett C.L. Water Use and Drought Response in Cultivated and Wild Apples // Abiotic Stress – Plant Responses and Applications in Agriculture: Edited by K. Vahdati and C. Leslie. – 2013. – P. 249.
7. Demmig-Adams B. Linking the xanthophyll cycle with thermal energy dissipation // Photosynthesis Research. – 2003. – Vol. 76. – P. 73-80.
8. Demmig-Adams B., Adams W.W. Photoprotection in ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation // New Phytologist. – 2006. – Vol. 172. – P. 11-21.
9. Romanov V.A., Galelyuka I.B., Sarakhanle. V. Portable fluorometer Floratest and specifics of its application // Sensor Electronics and Microsystem Technol. – 2010. – Vol. 1 (7). – № 3. – P. 39-44.
10. Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Qiang S., Goltsev V. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis* // Biochim. Biophys. Acta. – 2010. – Vol. 1797. – P. 1313-1326.
11. Pereira W.E., De Siqueira D.L., Martinez C.A., Puiatti M. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress // J. Plant Physiol. – 2002. – Vol. 157. – P. 513-520.

Статья поступила в редакцию 30.07.2020 г.

**Gubanova T.B. Impact of negative temperatures on the state of the photosynthetic apparatus of evergreen species of *Osmanthus* Lour. genus // Bull. Of the State Nikita Botan. Gard. – 2020. – № 137. – P. 133-138.**

The results of studies of photosynthetic processes in annual leaves of two species of the genus *Osmanthus* – *Osmanthus* x *fortunei* and *O. fragrans* in the cold period on the Southern coast of the Crimea and under the controlled action of negative temperatures are presented. It is shown that the main parameters of chlorophyll fluorescence induction (CFI) in annual leaves of *O. x fortunei* was relatively more stable during the winter months compared to *O. fragrans*. The effect of temperature -8,0°C for 8 hours on the leaves of the species in *O. fragrans* caused a decrease in the fluorescence decay coefficient to the lower limit of the norm of vitality and a significant increase in the processes of thermal dissociation of light energy. It is established that the temperature is -10°C is critical for the leaves of *O. fragrans*, which indicates its lower frost resistance. Changes in the state of PSII depend on both the duration and intensity of low-temperature exposure. It was found that for the more resistant species of *O. x fortunei* a relatively long-term effect of -10,0°C and a short one of -8,0°C temperature have a similar effect on the state of the photosynthetic apparatus, which is probably due to the activation of protective mechanisms.

**Key words:** *Osmanthus* Lour; chlorophyll fluorescence induction; frost resistance; photosynthesis