

ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОДОУДЕРЖИВАЮЩИХ СВОЙСТВ ЛИСТЬЕВ ПЕРСИКА В ПРОЦЕССЕ ОБЕЗВОЖИВАНИЯ

Ю.В. ИВАЩЕНКО, кандидат биологических наук; А.В. СМЫКОВ,
кандидат сельскохозяйственных наук

В селекционной практике всегда существовала необходимость всесторонней и объективной оценки материала по наиболее существенным хозяйственным признакам. Одним из таких признаков является засухоустойчивость растений, которую в значительной степени определяет водоудерживающая способность листьев. В свою очередь функции листового аппарата основаны на фотосинтетических процессах, изменения которых объективно диагностируются методами флуориметрии [1,6].

Известно, что дефицит влаги влияет на эффективность фотохимического расщепления молекул воды, которое сопровождается изменением светопоглощающей способности листьев и непродуктивным излучением света в виде флуоресценции [5]. В связи с этим задачей данной работы явилось изучение влияния обезвоживания на интенсивность флуоресценции листьев персика с целью разработки методических аспектов оценки засухоустойчивости растений.

Объекты и методы исследований

Объектами исследований были листья 30 радиомутантных форм персика сорта Советский (MV1, MV2) с хозяйственно-ценными признаками: повышенной морозостойкостью, сдержанным ростом, поздним цветением, ранним созреванием, крупными плодами, полученные в результате гамма-облучения формирующихся вегетативных почек в дозах 20, 30, 50 Гр и повторного облучения 20 Гр.

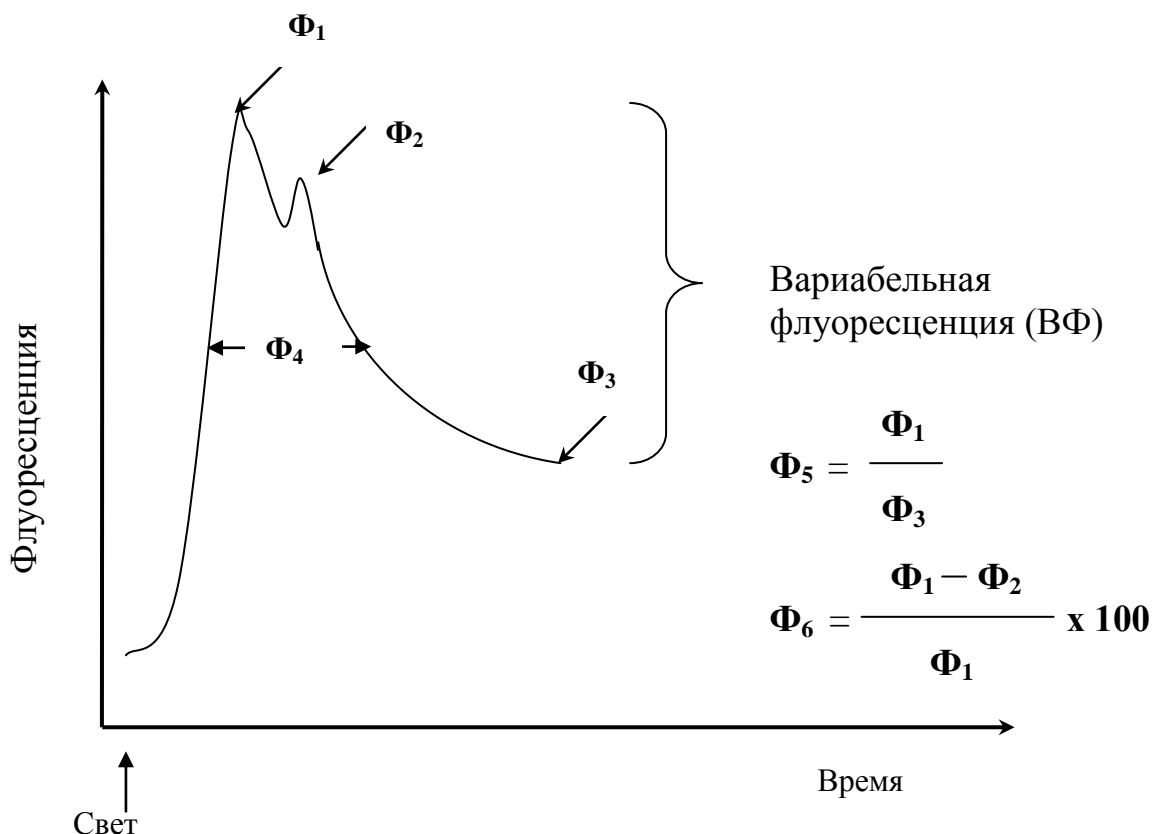


Рис. 1. Параметры фотоиндукционной кривой листьев персика: Φ₁ – максимальный уровень флуоресценции (отн. ед.), Φ₂ – промежуточный (отн. ед.), Φ₃ – стационарный (отн. ед.), Φ₄ – время полунарастания вариабельной флуоресценции (с), Φ₅, Φ₆ – показатели, характеризующие изменение стационарного и промежуточного уровней относительно максимального уровня.

Облученные почки одновременно с необлученными (контрольными) окулировали на миндале. Для сравнения использовали сорт персика Кудесник с низкой засухоустойчивостью. Облиственные однолетние побеги длиной 20-30 см брали с плодоносящих растений в Степном отделении Никитского ботанического сада, доставляли в лабораторию и выдерживали во влажной среде в течение суток. Таким образом, начальная оводненность для всех листьев достигала 100 %. Период отбора листьев в степных районах Крыма является наиболее стрессовым по условиям почвенной и воздушной засухи, поэтому существует объективная возможность ранжировать растения по чувствительности к засухе. В качестве показателя водоудерживающей способности использовали степень подавления вариательной флуоресценции в течение 24, 36, 48 часов обезвоживания. Принципы измерения флуоресценции детально описаны в литературе [3]. Вариательная флуоресценция (ВФ) – участок фотоиндукционной кривой Φ_1 - Φ_3 (рис. 1), важный функциональный показатель, характеризующий интегральные процессы, начиная с момента поглощения квантов света и заканчивая образованием простейших органических веществ. Каждый из параметров ФИК (Φ_1 - Φ_6) может характеризовать чувствительность фотосинтетического аппарата к степени обезвоживания листа. Φ_1 – параметр, проявляющийся в течение 3-8 с от начала попадания света на адаптированный к темноте лист и свидетельствующий о наиболее непродуктивном этапе в усвоении квантов света. Чем больше величина Φ_1 тем значительней потери поглощенной энергии света в виде флуоресценции. Однако, параметр Φ_1 в ВФ информативен, так как показывает потенциальные возможности фотосинтетического аппарата, указывая на относительное количество светопоглощающих структур, способных улавливать энергию с целью дальнейшей ее передачи при благоприятных условиях на «реакционные центры» [4]. Параметр Φ_2 , выделяющийся в структуре ВФ как промежуточный «пик» (5-10 с от начала освещения), также косвенно характеризует чувствительность фотосинтетического аппарата листа к обезвоживанию, поскольку связан с проявлением деятельности механизмов, функционирующих на основе разложения молекулы воды. Параметр Φ_3 в целом является результатом установления через 250-300 с после воздействия света стабильного уровня фотосинтеза. Чем меньше его значение, тем более эффективно функционируют фотосистемы листа. Каждый из параметров ФИК регистрируется в зависимости от интервала времени, который вычисляется с момента включения света и характеризует реактивность фотосинтетического аппарата. Параметр Φ_4 призван количественно оценить степень этой активности. Чем меньше значение Φ_4 , тем более реактивен фотосинтетический аппарат. При определении оводненности листьев измеряли их массу гравиметрическим методом, а для контроля водоудерживающей способности листьев использовали общепринятую методику [2].

Результаты и обсуждение

Как правило, показатели фотоиндуцированной кривой (ФИК) и наличие ВФ используют как тест функциональной активности фотосинтетического аппарата. В случае отсутствия ВФ констатируют гибель листа или полное прекращение фотосинтеза.

В начале экспериментов фиксировали ФИК отчлененных от побега листовых пластин до обезвоживания (табл.1). Кинетика их ФИК развивалась у большинства листьев по траектории, которая характеризовалась нормальной формой. По параметру Φ_1 наиболее контрастными оказались мутантные формы персика 379, 4015, 38 176, 4140, 64164. Большинство анализируемых форм не проявили существенных различий,

Таблица 1

Флуоресценция листьев мутантных форм персика сорта Советский до обезвоживания

Мутантная форма	Доза облучения, Гр	Показатели фотоиндуцированной кривой, отн. ед.					
		Φ_1	Φ_2	Φ_3	Φ_4	Φ_5	Φ_6
379	20	161 ± 13	129 ± 25	64 ± 6	23 ± 3	2,52 ± 0,1	20,0 ± 10,0
403	50	156 ± 55	138 ± 50	55 ± 16	31 ± 5	2,80 ± 0,3	11,8 ± 0,8
3943	50	88 ± 5	79 ± 5	36 ± 7	32 ± 7	2,47 ± 0,3	9,8 ± 1,4
4010	50	90 ± 18	81 ± 14	39 ± 3	26 ± 3	2,32 ± 0,3	10,0 ± 3,8
4014	50	81 ± 6	72 ± 5	36 ± 5	32 ± 5	2,26 ± 0,3	10,7 ± 1,0
4015	50	59 ± 10	54 ± 9	28 ± 2	28 ± 7	2,13 ± 0,4	7,9 ± 1,4
4020	50	71 ± 11	64 ± 10	30 ± 5	31 ± 1	2,36 ± 0,1	8,8 ± 0,8
4027	50	82 ± 15	75 ± 13	34 ± 9	36 ± 7	2,47 ± 0,2	8,8 ± 0,8
4058	50	111 ± 38	100 ± 47	54 ± 25	32 ± 18	2,08 ± 0,3	10,5 ± 3,5
35179	50	96 ± 14	81 ± 20	36 ± 5	27 ± 3	2,65 ± 0,4	14,7 ± 3,3
38176	30	142 ± 25	126 ± 23	56 ± 13	29 ± 6	2,57 ± 0,2	11,3 ± 1,5
38192	30	142 ± 21	126 ± 20	59 ± 8	25 ± 4	2,39 ± 0,2	10,9 ± 4,4
44140	50	131 ± 20	116 ± 17	49 ± 9	23 ± 2	2,68 ± 0,3	11,0 ± 1,9
64164	20	75 ± 5	65 ± 5	32 ± 5	18 ± 4	2,32 ± 0,3	11,0 ± 1,7

что свидетельствует о выравнивании их функций в начальный период световой индукции. Влияния дозы облучения на качественные показатели параметра не обнаружено. Повышенный максимальный уровень Φ_1 у форм 379, 38 176, 44140 может характеризовать их фотосинтетический потенциал в виде комплекса условий (интегрального содержания активных форм хлорофилла и пула светособирающих молекул). Сохраняется тенденция в отношении высокого уровня параметров Φ_2 и Φ_3 у всех вышеуказанных форм. Однако, для всех параметров ВФ наблюдается высокое варьирование, что затрудняет проведение тестирования чувствительности форм персика к обезвоживанию.

Существуют также трудности в интерпретации показателя Φ_4 . При нарастании обезвоживания в кинетике ФИК проявляются такие временные компоненты, которые приводят к изменению угла наклона различных ее участков. В данных условиях удается определить Φ_4 с большой долей погрешности. Как правило, это приводит к искажению результатов. Показатель Φ_6 в процессе исследований проявил нестабильность, поскольку «пик» Φ_2 , значение которого служит основой для вычисления Φ_6 , может нивелироваться, и точно определить его значение невозможно.

Относительной стабильностью отличается показатель Φ_5 . Следует отметить его пригодность для определения водоудерживающей способности листьев. Он вычисляется по соотношению параметров Φ_1 и Φ_3 . Для мутантных форм 379, 403, 38176, 44140 подтверждается наличие высокого фотосинтетического потенциала и востребованность его в фотосинтетических процессах. Следует выделить форму 35179, которая по показателю Φ_5 превалирует над другими формами и поэтому является перспективной в отношении фотоактивности структур пигментного комплекса. Из всех исследуемых форм самое низкое соотношение параметров показателя Φ_5 проявили формы 4014, 4015, 4058.

Для подтверждения информативности показателя Φ_5 в одном из экспериментов проводили сравнительное определение подавления показателя Φ_5 на неповрежденных,

полностью оводненных до 100% -ной влажности листьях и в процессе различного периода обезвоживания между сортами индикаторами Советский (засухоустойчивый) и Кудесник (незасухоустойчивый), а также мутантными формами (рис.2).

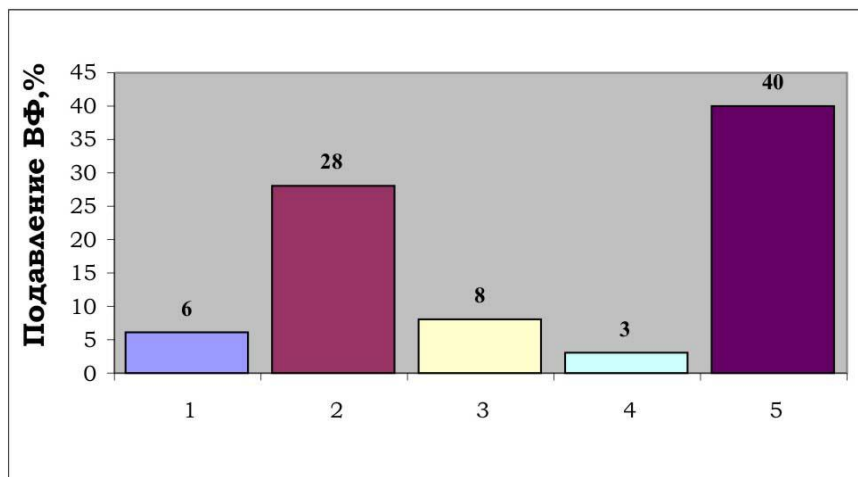


Рис. 2 Изменение показателя Φ_5 в процессе обезвоживания (24 часа) :1- сорт Советский, 2 - сорт Кудесник, 3 - форма 4010, 4 - форма 4058, 5 - форма 35179.

Необходимо отметить, что показатель Φ_5 определяли до и после обезвоживания. Степень водоудерживающей способности листьев по сути оценивали (в процентах) в результате подавления ВФ на основании формулы:

$$\frac{\Phi_5 - \Phi_0}{\Phi_5} \cdot 100,$$

где Φ_5 – значение до обезвоживания,
 Φ_0 – после 24 часов обезвоживания.

В результате исследований проявилась закономерность: чем меньше подавление ВФ, тем выше водоудерживающая способность листьев.

Параллельно с регистрацией фотоиндукционной кривой проводимое обезвоживание листьев сортов-индикаторов засухоустойчивости и мутантных форм показывает, что суточные естественные потери влаги составляют у большинства исследуемых образцов 23-25% от изначального 100%-ного увлажнения, за исключением сорта Кудесник, у которого этот показатель превысил 48% (рис.3). Листья этого сорта потеряли в 2,8 раза больше влаги, чем листья сорта Советский. Отмечена повышенная потеря влаги у формы 35179 в результате более длительного периода высушивания листьев. Флуоресцентные характеристики сортов индикаторов и форм изменяются более контрастно по сравнению с изменением веса обезвоженных листьев. В течение суточного высушивания различия между сортами Советский и Кудесник по подавлению ВФ составляли 5,6 ед., а для мутантных форм повышались до 40 ед.

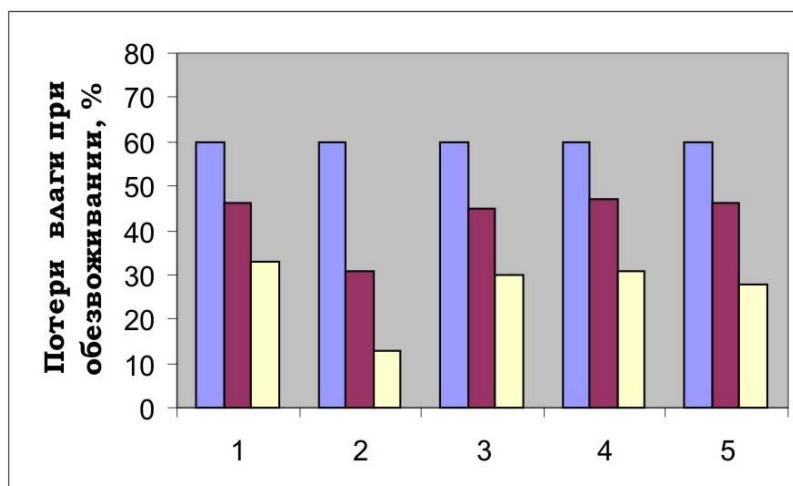


Рис. 3. Водоудерживающая способность сортов и мутантных форм персика в зависимости от длительности обезвоживания (1- сорт Советский, 2 - сорт Кудесник, 3 - форма 4010, 4 - форма 4058, 5 - форма 35179):

- - до обезвоживания
- - 24 часа обезвоживания
- - 48 часов обезвоживания.

В связи с этим можно констатировать, что флуориметрический способ определения степени водоудерживающей способности листьев был более чувствительным. С целью апробации полученных результатов было проведено массовое тестирование мутантных форм персика сорта Советский на водоудерживающую способность (табл. 2). В зависимости от величины подавления флуоресценции применяли три градации водоудерживающей способности: низкая (37,0-68,0), средняя (28,0-42,0), высокая (1,0-25,0). Среди изученных растений 8 форм (403, 638, 4010, 4016, 35179, 38177, 38192, 64164) характеризовались высокой, 11 форм (378, 3712, 3743, 3814, 3926, 4014, 4027, 6330, 6387, 6566, 34207) средней и 8 форм (372, 379, 393, 639, 3831, 4058, 39199, 44140) низкой водоудерживающей способностью. Прямая зависимость между величиной дозы облучения и водоудерживающей способностью не проявилась. Среди растений с высокой водоудерживающей способностью наибольшую стабильность признака показали формы: 403, 4010, 4016, 6312, 38176, 38192. Некоторые мутантные формы с низким подавлением флуоресценции, но с большим его варьированием были отнесены в группу со средней водоудерживающей способностью. Отдельные формы (4010, 4016, 38176) характеризовались не только минимальным подавлением ВФ, но даже более высокими показателями по сравнению с периодом до высушивания листьев.

Таким образом, у многих радиомутантных форм сорта Советский наблюдались большие различия по подавлению флуоресценции, и проявилось существенное снижение этого показателя по сравнению с контрольным сортом Советский в 1,9-10,8 раз. Выявленная взаимосвязь между подавлением флуоресценции и водоудерживающей способностью позволила выделить 8 мутантных форм с высокой водоудерживающей способностью.

Таблица 2

Подавление вариабельной флуоресценции и водоудерживающая способность листьев мутантных форм персика сорта Советский

Сорт, форма	Доза облучения, Гр	Подавление флуоресценции *, $\frac{\Phi_5 - \Phi_0}{\Phi_5} \cdot 100, \%$	Водоудерживающая способность
Советский	0	52,7 ± 6,9	Низкая
372	20	30,5 ± 15,7	Низкая
376	20	19,6 ± 10,6	Средняя
378	20	23,6 ± 14,7	Средняя
379	20	49,1 ± 9,3	Низкая
393	50	47,4 ± 6,7	Низкая
403	50	26,1 ± 1,4	Высокая
638	50	19,1 ± 8,2	Высокая
639	50	43,1 ± 11,0	Низкая
3712	20	30,4 ± 17,2	Средняя
3743	20	32,3 ± 9,2	Средняя
3814	20	27,5 ± 6,0	Средняя
3831	20	54,5 ± 12,9	Низкая
3926	50	35,8 ± 12,7	Средняя
4010	50	4,9 ± 3,6	Высокая
4014	50	32,5 ± 10,0	Средняя
4016	50	27,5 ± 1,9	Высокая
4020	50	57,9 ± 8,8	Низкая
4027	50	34,7 ± 11,4	Средняя
4058	50	46,3 ± 3,0	Низкая
6312	50	25,0 ± 3,2	Высокая
6330	30 + 20	31,5 ± 10,8	Средняя
6387	50	17,1 ± 13,0	Высокая
6566	30	18,2 ± 18,0	Средняя
34207	20	33,5 ± 15,6	Средняя
35179	50	24,4 ± 8,4	Высокая
38176	30	14,3 ± 3,2	Высокая
38192	30	23,1 ± 0,0	Высокая
39199	30	40,6 ± 12,1	Низкая
44140	50	44,0 ± 17,9	Низкая
64164	20	22,7 ± 7,1	Высокая

* Объяснение см. в тексте.

Выводы

Способ флуориметрического определения степени водоудерживающей способности листьев может быть использован для сравнительной оценки различных форм и сортов персика, а также в комплексе с другими методами оценки засухоустойчивости листового аппарата для повышения объективности отбора перспективных по данному признаку растений.

Список литературы

1. Бухов Н.Г. Применение измерений кинетики фотоиндуцированных изменений флуоресценции хлорофилла в физиологии растений // Спектроскопические методы исследования в физиологии и биохимии. - Л.: Наука, 1987. - С. 29-33.
2. Еремеев Г.Н., Лищук А.И. Методические указания по отбору засухоустойчивых сортов и подвоев плодовых растений.- Ялта, 1974.- 18 с.
3. Иващенко Ю.В., Семин В.С. Зависимость интенсивности флуоресценции листьев некоторых многолетних растений от скорости и амплитуды нарастания температуры // Физиология и биохимия культурных растений.- 1991.- Т.23., № 2.- С. 112-117.
4. Нестеренко Т.В., Сидько Ф.Я. О количественном описании медленной индукции флуоресценции хлорофилла в онтогенезе листьев высших растений // Физиология растений.- 1993.- Т.40, № 1.- С.10-15.
5. Орт Д. и др. Фотосинтез. - М.: Мир, 1987.- Т.1. -728 с.
6. Malkin S., Armond P.A., Mooncy H.A., Fork D.C. Fotosystem II photosynthetic unit sizes from fluorescence induction in leaves // Plant physiology. - 1981. - Vol. 67. - P. 570-579.

Fluorimetric characteristic of water-holding properties of peach leaves in the process of dehydration

Ivashchenko Yu. V., Smykov A.V.

The researches on comparative evaluation of methods of fluorimetric analysis of water-holding ability of leaves and their level of drying during the day period of dehydration of peach varieties "Sovetsky" ' its 30 mutant forms' variety "Kudesnik" have been given . The mutant forms' having the higher level of water-holding abilities then variety "Sovetsky" have been selected. The perspective method of fluorimetric analysis of leaves has been suggested.