

ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, БИОФИЗИКА

УДК 581.141:581.132

Г. Н. Смоликова, В. Н. Лебедев, В. Е. Лопатов, В. А. Тимощук, С. С. Медведев

ДИНАМИКА ФОТОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФОТОСИСТЕМЫ II ПРИ ФОРМИРОВАНИИ СЕМЯН *BRASSICA NIGRA* L.*

Методом флуориметрии изучена динамика активности фотосистемы II (ФС II) в створках стручков, семенной кожуре и семядолях зародыша горчицы черной *Brassica nigra* L. на ранней и средней стадиях зеленой спелости семян. С использованием импульсного модулирующего флуориметра Junior-PAM (Heinz Walz GmbH, Germany) проведена оценка максимального квантового выхода Fv/Fm , эффективного квантового выхода $Y(II)$ и коэффициента фотохимического тушения флуоресценции хлорофиллов qP . Показано, что активность ФС II менялась в процессе созревания семян: значения Fv/Fm , $Y(II)$ и qP снижались в створках стручков и семенной кожуре, однако повышались в семядолях зародыша. При переходе семядолей от ранней к средней стадии зеленой спелости плотность переноса электронов по электрон-транспортной цепи ФС II увеличивалась и достигала максимума при более высоких уровнях ФАР. Повышение активности работы ФС II в формирующихся семядолях зародыша может быть связано с адаптацией хлоропластов к функционированию в условиях более высокой освещенности, вероятно, вследствие увеличения светопропускаемости семенной кожур и перикарпия на поздних стадиях зеленой спелости семян. Библиогр. 29 назв. Ил. 3.

Ключевые слова: *Brassica nigra* L., семена, хлороэмбриофиты, эмбриогенез, фотосинтез, фотосистема II, PAM-флуориметр.

G. N. Smolikova¹, V. N. Lebedev², V. Ye. Lopatov², V. A. Timoshchuk², S. S. Medvedev¹

DYNAMICS OF THE PHOTOSYSTEM II PHOTOCHEMICAL ACTIVITY IN THE DEVELOPING *BRASSICA NIGRA* L. SEEDS

¹ St. Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034, Russian Federation

² Herzen State Pedagogical University of Russia, 48, nab. Reki Moyki, St. Petersburg, 191186, Russian Federation

Dynamics of the PS II activity in the pod walls, seed coat and embryo cotyledons at early and middle maturation stages of *Brassica nigra* L. has been studied using the Junior-PAM fluorometer (Heinz Walz GmbH, Germany). The maximum quantum yield Fv/Fm , effective quantum yield $Y(II)$ and coefficient of photochemical fluorescence quenching qP have been evaluated. We demonstrated maturation-dependent fluctuation of the PS II activity in the different part of seeds: Fv/Fm , $Y(II)$ and qP decreased in the pod walls and seed coat, but increased in the cotyledons of embryo. During transition from early to middle stage of maturation, the maximal electron transport rate of PS II in the cotyledons increased

Г. Н. Смоликова (galina.smolikova@gmail.com), С. С. Медведев (ssmedvedev@mail.ru): Санкт-Петербургский государственный университет, Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7/9; В. Н. Лебедев (antares-80@yandex.ru), В. Е. Лопатов (vassuph15@gmail.com), В. А. Тимощук (vassuph15@gmail.com): Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Российская Федерация, 191186, Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, 48.

* Работа выполнена при финансовой поддержке НИР СПбГУ № 1.38.233.2014 и гранта РФФИ № 14-04-01-624 с использованием оборудования ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

and reached the maximum at higher level of photosynthetic active radiation. Improving the efficiency of PS II in the developing cotyledons of the embryo can be attributed to adaptation of the chloroplasts to a higher light probably due to the increase of light transmission through the seed coat and pericarp at later stages of seed maturation. Refs 29. Figs. 3.

Keywords: *Brassica nigra* L., seeds, chloroembryos, embryogenesis, photosynthesis, photosystem II, PAM-fluorometer.

Введение

Вопрос о возможной фотохимической активности зеленого зародыша и других частей семени уже давно волнует эмбриологов растений. Еще в 1879 г. М. Ш. Флао (M. Ch. Flahault) пытался выяснить, выполняют ли зеленые пигменты зародыша такие же функции, что и хлорофилл листа, и показал, что тонкие срезы зародышей *Viola tricolor*, *Acer pseudoplatanus* и *Viscum album* при освещении способны выделять пузырьки кислорода [1].

Дальнейшие исследования показали, что органические соединения, необходимые для развития зеленых зародышей и формирования семени, поступают не только из тканей материнского растения, но могут самостоятельно синтезироваться зелеными зародышами [2–7]. В зависимости от наличия или отсутствия хлорофиллов в зародышах покрытосеменные растения даже делят на две группы: *хлороэмбриофиты* и *лейкоэмбриофиты* [6, 8–12]. В 1969 г. М. С. Яковлев впервые разделил покрытосеменные растения на хлоро- и лейкоэмбриофиты [8]. В монографии «Покрытосеменные растения с зеленым и бесцветным зародышем (хлоро- и лейкоэмбриофиты)» М. С. Яковлев и Г. Я. Жукова проанализировали содержание хлорофиллов в зародышах зрелых семян 1094 видов из 182 семейств покрытосеменных растений и сделали вывод о том, что пигменты присутствуют у 428 видов из 72 семейств [9]. Позднее для семян с зеленым зародышем был предложен термин «chloroembryos» [10].

Семена хлороэмбриофитов содержат фотохимически активные хлоропласты, которые обладают способностью к фотосинтезу [5, 6, 13]. Особенность «темновых» реакций фотосинтеза у формирующихся семян заключается в том, что основным источником углерода является сахароза, поступающая из материнского растения [4–6]. Поэтому функционирование хлоропластов в основном направлено на синтез НАД(Ф)·Н и АТФ, которые расходуются на превращение сахарозы в ацетил-КоА, жирные кислоты и далее в жиры [5, 14]. Таким образом, специфика «эмбрионального» фотосинтеза заключается в том, что он направлен прежде всего на накопление в формирующихся семенах запасных питательных веществ, а не моносахаридов, как в листьях [12]. Интерес к изучению механизмов фотосинтеза зеленых семян в последние годы возрос в связи с производством растительных масел и особенно биотоплива на основе жиров (масел), а также продуктов их этерификации [15].

Все основные фотосинтетические комплексы хлоропластов: фотосистема II, фотосистема I и их антенные комплексы, комплекс цитохромов *b6f* и АТФ-синтаза, присутствуют в семенах в необходимой стехиометрии и приспособлены к функционированию в условиях низкой освещенности [7]. Поэтому зеленые зародыши обладают достаточно высокой фотохимической активностью, несмотря на экранирование их от света плодовыми и семенными оболочками [4–7, 16]. Однако все еще остается много вопросов о том, как происходит возбуждение хлорофиллов и как

происходят световые реакции фотосинтеза в хлоропластах зародышей семян, часто покрытых прочными и плохо проницаемыми для света тканями перикарпия и семенной кожуры.

Одним из наиболее распространенных методов изучения активности фотосинтетических процессов является РАМ-флуориметрия, основанная на импульсной амплитудной модуляции (Pulse Amplitude Modulation). РАМ-флуориметры позволяют проводить точные измерения фотохимического квантового выхода фотосистем на основе кинетики тушения флуоресценции хлорофиллов (преимущественно хлорофиллов *a*), входящих в состав светособирающих комплексов и реакционных центров фотосистем [17–21]. Применение РАМ-флуориметрии привело к значительному прогрессу в понимании механизмов световых реакций фотосинтеза, поскольку регистрация флуоресценции хлорофиллов осуществляется *in vivo* и не требует пробоподготовки исследуемых объектов.

Целью настоящей работы являлось изучение динамики фотохимической активности фотосистемы II в створках стручков, семенной кожуре и семядолях зародыша горчицы в процессе созревания семян.

Материал и методика

Объектами исследования служили семена горчицы черной (*Brassica nigra* L.) сорта Tubra (к-2643) из коллекции ФБНУ «Федеральный научный центр Всероссийского института генетических ресурсов имени Н. И. Вавилова». Растения выращивали в 2014 г. на делянках биостанции РГПУ им. А. И. Герцена (пос. Вырица, Гатчинский р-н, Ленинградская обл.). Семена собирали с главных побегов растений 11 июля, 25 июля и 11 августа, что соответствовало началу ранней стадии зеленой спелости, концу ранней стадии зеленой спелости и средней стадии зеленой спелости семян. В качестве контроля использовали активно вегетирующие зеленые листья растений горчицы черной.

Параметры фотосинтеза регистрировали в листьях, створках стручков, семенных оболочках и семядолях при помощи модулирующего импульсного флуориметра Junior-РАМ (Heinz Walz GmbH, Германия). Стручки отделяли от материнского растения и выдерживали 30 мин для темновой адаптации. Хлорофиллы ФС II возбуждали светодиодом при длине волны 450 нм. Детекция флуоресценции осуществлялась PIN-фотодиодом, защищенным фильтром типа «long-pass» (длина волны при 50%-ном пропускании — 645 нм). Максимальная плотность светового потока составляла 10 000 мкмоль фотонов/(м²·с), продолжительность светового импульса — 0,6 с [22]. Параметры флуоресценции рассчитывали, используя программу WinControl.

Параметры флуоресценции хлорофиллов (ФлХ): **F₀** — базовый уровень ФлХ при низкой интенсивности света, не вызывающей фотохимических реакций; **F_m** — максимальный уровень ФлХ, вызванный импульсом света после адаптации тканей к темноте; **F_m'** — максимальный уровень ФлХ, вызванный импульсом света после адаптации тканей к свету; **F_v** — «вариабельность» ФлХ, рассчитывается как разность **F₀** и **F_m**; **F_v'** — «вариабельность» ФлХ, рассчитывается как разность **F₀** и **F_m'**; **F_v/F_m** — максимальный фотохимический квантовый выход ФС II после адаптации тканей к темноте; **Y(II)**, или **F_v' / F_m'** — эффективный фотохимический квантовый

выход ФС II после адаптации тканей к свету; qP , или $(Fm' - Ft) / (Fm' - Fo)$ — коэффициент фотохимического тушения ФлХ; qN , или $(Fm - Fm') / (Fm - Fo)$ — коэффициент нефотохимического тушения ФлХ; ETR — плотность транспорта электронов по электрон-транспортной цепи тилакоидных мембран.

Измерения проводили в трех биологических и трех аналитических повторностях. Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Excel 2000 с использованием стандартного пакета анализа данных. На графиках представлены средние арифметические значения величин и стандартная ошибка среднего.

Результаты

Максимальный фотохимический квантовый выход ФС II. Одной из основных характеристик работы фотосистем является квантовый выход фотохимического превращения энергии или фотохимический квантовый выход. Этот показатель определяют как соотношение количества квантов, используемых в разделении зарядов, к общему количеству квантов, поглощенных свето-собирающими комплексами (ССК).

Максимальный фотохимический квантовый выход ФС II (Fv/Fm) регистрировали после адаптации тканей к темноте [23]. После темновой адаптации тканей ФлХ очень низка и условно принимается за ноль. При регистрации сначала включают источник «измерительного» света с длиной волны 630 нм, в результате чего ФлХ достигает значения Fo . Интенсивность «измерительного» света настолько мала, что реакционные центры фотосистемы ФС II остаются «открытыми». Затем дают короткую вспышку света (импульс) высокой интенсивности с длиной волны 450 нм. В результате ФлХ достигает максимального значения Fm .

На рис. 1, а видно, что на ранней стадии зеленой спелости семян в створках стручков показатель Fv/Fm был близок к показателю Fv/Fm активно вегетирующих зеленых листьев и составлял 0,8 отн. ед. Однако далее, на средней стадии зеленой спелости семян, он снижался до 0,4 отн. ед.

В семенной кожуре на ранней стадии зеленой спелости семян показатель Fv/Fm был ниже, чем в створках стручков, и составлял 0,6 отн. ед. (рис. 1, б). На средней стадии зеленой спелости он был равен 0,5 отн. ед.

У семядолей зародыша наблюдалась обратная тенденция. На ранней стадии зеленой спелости показатель Fv/Fm был равен 0,4 отн. ед., однако по мере созревания семян он повышался до 0,5 отн. ед. (рис. 1, в).

В результате на средней стадии созревания семян максимальный квантовый выход ФС II был примерно равным в створках стручков, в семенной кожуре и в семядолях зародыша и составлял 0,4–0,5 отн. ед. по сравнению с 0,8 отн. ед. в активно вегетирующих зеленых листьях этих же растений.

Эффективный фотохимический квантовый выход ФС II. Для оценки эффективности функционирования фотосинтетического аппарата важно знать, какая часть энергии возбуждения молекул хлорофиллов, входящих в состав фотосистем, используется в процессе электронного транспорта.

В адаптированной к свету ткани импульс света индуцирует всплеск ФлХ до максимального уровня Fm' , который всегда меньше Fm [24]. Адаптация к свету приводит к снижению ФлХ за счет увеличения тепловой диссипации. В результате

эффективный фотохимический квантовый выход всегда ниже максимального фотохимического квантового выхода, измеряемого в адаптированном к темноте состоянии.

В начале ранней стадии зеленой спелости семян в створках стручков показатель $Y(II)$ был близок к показателям зеленых листьев и составлял 0,8 отн. ед. (рис. 1, а). Однако далее, на средней стадии зеленой спелости, он резко снижался до 0,1 отн. ед.

В семенной кожуре показатель $Y(II)$ на всех исследованных стадиях созревания семян был равен 0,15–0,2 отн. ед. (рис. 1, б).

У семядолей зародыша на ранней стадии зеленой спелости показатель $Y(II)$ был очень низким и составлял всего 0,02 отн. ед. (рис. 1, в). Однако на средней стадии зеленой спелости он возрастал до 0,15 отн. ед., что соответствовало уровню клеток перикарпия и семенной кожуре.

Коэффициент фотохимического тушения ФлХ. Значение ФлХ зависит от ряда процессов, каждый из которых приводит к снижению уровня сигнала. Различают два типа тушения флуоресценции — фотохимическое (зависящее от окислительно-восстановительного состояния первичного акцептора ФС II пластохинона Q_A) и нефотохимическое (определяемое уровнем тепловой диссипации энергии возбуждения).

В основе фотохимического тушения ФлХ лежит тот факт, что в зависимости от окислительно-восстановительного состояния Q_A уровень флуоресценции хлорофиллов может отличаться в несколько раз: увеличиваться при восстановлении Q_A и уменьшаться при его окислении [25].

В условиях адаптации к свету лишь часть пластохинонов находится в восстановленном состоянии. В результате применения вспышки света высокой интенсивности все пластохиноны переходят в восстановленное состояние, и уровень ФлХ увеличивается до F_m . После выключения действующего света пул пластохинонов полностью окисляется. При этом интенсивность ФлХ снижается

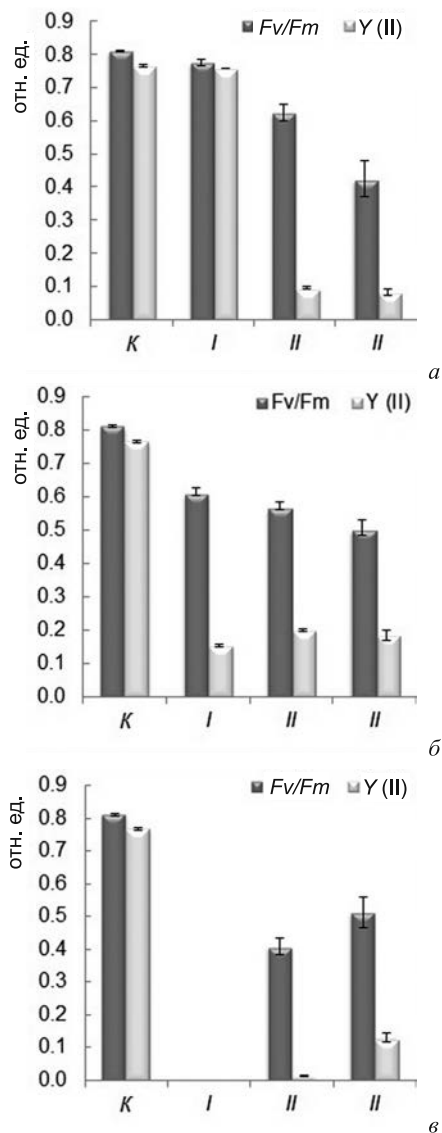


Рис. 1. Максимальный фотохимический квантовый выход ФС II (F_v/F_m) и эффективный фотохимический квантовый выход ФС II ($Y(II)$) в створках стручков (а), семенной кожуре (б) и семядолях зародыша (в) созревающих семян горчицы черной:

I — начало ранней стадии зеленой спелости, II — конец ранней стадии зеленой спелости, III — средняя стадия зеленой спелости. K — активно вегетирующие зеленые листья. То же для рис. 2, 3.

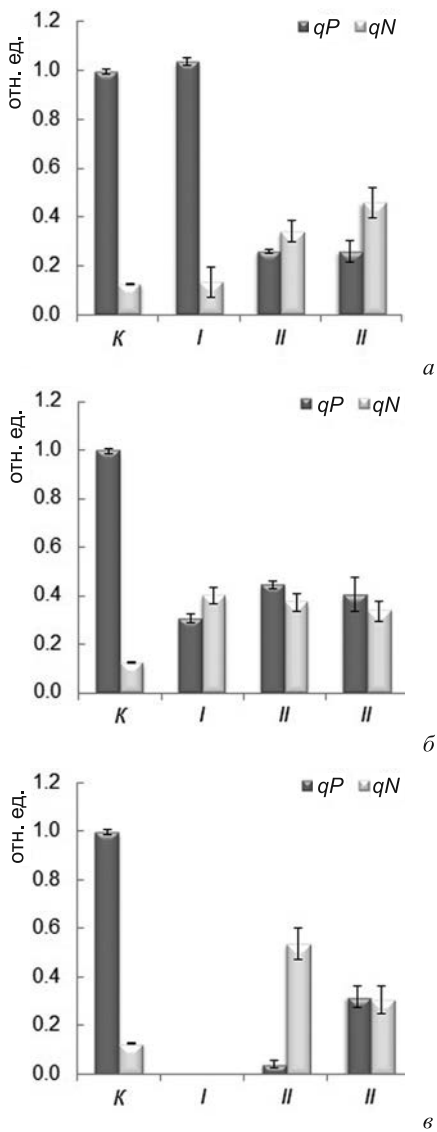


Рис. 2. Коэффициенты фотохимического (qP) и нефотохимического (qN) тушения флуоресценции хлорофиллов в створках стручков (а), семенной кожуре (б) и семядолях зародыша (в) созревающих семян горчицы черной

тонного градиента на тилакоидных мембранах (ΔpH). Это индуцирует переключение функций каротиноидов с аккумулялирования энергии света на ее рассеивание, которое происходит в виолаксантиновом цикле [27, 28].

Для расчета нефотохимического тушения флуоресценции был предложен коэффициент qN [26]. Поскольку фотохимическое и нефотохимическое гашение флу-

до Fo' . Чтобы оценить долю окисленных Q_A , используют коэффициент фотохимического тушения qP [26]. При этом величина qP отражает степень окисленности пула Q_A и зависит как от притока электронов от феофитина к Q_A , так и от их оттока от Q_A на вторичный акцептор ФС II — Q_B .

Анализ данных, приведенных на рис. 2, показывает, что динамика qP полностью совпадает с динамикой эффективного квантового выхода $Y(II)$.

Наиболее высокий показатель qP наблюдался в створках стручков в начале ранней стадии зеленой спелости семян (рис. 2, а). Он был практически равен аналогичному показателю в листьях и составлял 0,9 отн. ед. Однако на последующих стадиях созревания семян qP в створках стручков снижался до 0,2–0,3 отн. ед.

В семенной кожуре на всех исследованных стадиях созревания семян показатель qP был примерно одинаков и составлял от 0,3 до 0,4 отн. ед. (рис. 2, б).

У семядолей зародыша коэффициент qP на ранней стадии зеленой спелости был очень низким и составлял 0,04 отн. ед. (рис. 2, в). Однако далее, на средней стадии зеленой спелости, он повышался до 0,35 отн. ед., что соответствовало его уровню в клетках перикарпия и семенной кожуре.

Коэффициент нефотохимического тушения ФЛХ. Для того чтобы избежать повреждения реакционных центров светом, интенсивность которого превышает возможности электронного транспорта, растения вынуждены частично диссипировать энергию поглощенных квантов света в виде тепла. Механизмы теплового рассеивания энергии связаны прежде всего с взаимопревращением ксантофиллов. Сильный импульс света вызывает резкий скачок протонного градиента на тилакоидных мембранах (ΔpH). Это индуцирует переключение функций каротиноидов с аккумулялирования энергии света на ее рассеивание, которое происходит в виолаксантиновом цикле [27, 28].

оресценции хлорофиллов являются конкурентными, то очевидно, что чем выше показатель qP , тем ниже должен быть показатель qN . Анализ полученных нами данных полностью подтвердил этот эффект (см. рис. 2).

При этом хотелось бы обратить внимание на то, что у семян на ранней стадии зеленой спелости на фоне низких показателей qP (0,04 отн. ед.) показатель нефотохимического тушения флуоресценции qN был очень высоким (0,5 отн. ед.) (см. рис. 2, в). На средней стадии зеленой спелости семян эти показатели в семядолях уравнивались: уровень qP возрстал с 0,04 до 0,3 отн. ед., а уровень qN падал с 0,5 до 0,3 отн. ед.

Плотность переноса электронов по электрон-транспортной цепи тилакоидных мембран в зависимости от фотосинтетически активной радиации. Классические световые кривые фотосинтеза характеризуют зависимость интенсивности фотосинтеза от освещенности. При низкой интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) выделение CO_2 в процессе дыхания выше, чем его поглощение при фотосинтезе. На световой кривой можно выделить точку, в которой количество углекислоты, поглощаемой при фотосинтезе, сравнивается с выделяемым в результате дыхания. Эта точка называется *световым компенсационным пунктом*. После светового компенсационного пункта увеличение освещенности вызывает постепенное возрастание интенсивности фотосинтеза. На этом участке интенсивность фиксации лимитируется только мощностью светового потока. При дальнейшем увеличении интенсивности света кривая выходит на плато, что свидетельствует о насыщении процесса связывания углекислоты. В этих условиях процесс фотосинтеза уже лимитируется только содержанием CO_2 .

Световые кривые, получаемые при помощи флуориметров, характеризуют зависимость между плотностью переноса электронов по электрон-транспортной цепи (ЭТЦ, Electron Transport Rate, ETR) и фотосинтетически активной радиацией. По мере увеличения интенсивности ФАР плотность переноса электронов увеличивается. При этом реакционные центры ФС II остаются «открытыми». Когда интенсивность ФАР превышает способность темновых реакций фотосинтеза усваивать накопленную энергию в виде НАД(Ф)·Н и АТФ, электроны начинают накапливаться, скорость окисления пулов пластохинонов снижается и реакционные центры ФС II «закрываются». Этот процесс регулируется скоростью фиксации CO_2 с участием РУБИСКО. В момент «закрытия» реакционных центров происходит так называемое «насыщение» фотосинтеза и дополнительное освещение не приводит к возрастанию плотности переноса электронов по ЭТЦ тилакоидных мембран. Поэтому при слишком сильной интенсивности ФАР или слишком длительном освещении, перенос электронов по ЭТЦ может начать снижаться — это явление известно как фотоингибирование фотосинтеза [29].

На рис. 3 приведены световые кривые, характеризующие зависимость плотности переноса электронов по ЭТЦ от интенсивности ФАР в стручках, семенных оболочках и семядолях горчицы черной. Момент выхода световой кривой на плато свидетельствует о «насыщении» фотосинтеза.

Можно видеть, что в створках стручков этот показатель снижался от начала ранней стадии зеленой спелости семян к ее концу от 800 до 600 мкмоль фотонов/ $(m^2 \cdot c)$. На средней стадии зеленой спелости он составлял уже 300 мкмоль фотонов/ $(m^2 \cdot c)$. При этом в начале ранней стадии максимальная плотность электронов со-

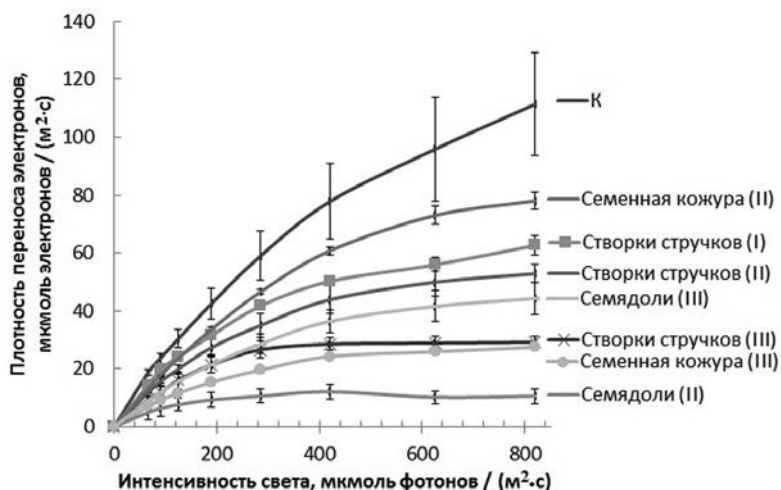


Рис. 3. Зависимость плотности переноса электронов от интенсивности фотосинтетически активной радиации в створках стручков, семенной кожуре и семядолях зародыша созревающих семян горчицы черной

ставляла 60, в конце ранней стадии — 50, а на средней стадии — 30 мкмоль электронов/(м²·с).

В семенной кожуре в конце ранней стадии зеленой спелости максимальная плотность электронов была наиболее близка к показателям активно вегетирующего зеленого листа и достигала 80 мкмоль электронов/(м²·с) при потоке 700 мкмоль фотонов/(м²·с). Но затем, на средней стадии зеленой спелости, наблюдалось резкое снижение этого показателя до 27 мкмоль электронов/(м²·с) при потоке 400 мкмоль фотонов/(м²·с).

У семядолей зародыша в конце ранней стадии зеленой спелости «насыщение» фотосинтеза наступало при 200 мкмоль фотонов/(м²·с), а максимальная плотность электронов составляла всего 10 мкмоль электронов/(м²·с). Однако далее, на средней стадии зеленой спелости семян, этот показатель увеличивался до 40 мкмоль электронов/(м²·с) при потоке 700 мкмоль фотонов/(м²·с).

Обсуждение

Анализ фотохимической активности ФС II в створках стручков, семенных оболочках и семядолях горчицы черной проводили путем возбуждения хлорофиллов, находящихся в свето-собирающих комплексах и реакционных центрах ФС II, под действием импульса света с длиной волны 450 нм и последующей регистрации кинетики тушения флуоресценции. Максимальный фотохимический квантовый выход ФС II измеряли сразу после темновой адаптации растительных тканей. В периоды темноты хлорофиллы не возбуждаются, в результате реакционные центры фотосистемы находятся в так называемом «открытом» состоянии [20]. «Открытое» состояние реакционного центра фотосистемы означает, что первичный акцептор электронов пластохинон Q_A находится в окисленном состоянии и способен с мак-

симальной эффективностью преобразовывать энергию возбуждения хлорофиллов в фотохимическую энергию [25].

Установлено, что на ранней стадии зеленой спелости семян в створках стручков и семенной кожуре максимальный фотохимический квантовый выход ФС II был наиболее высоким. Однако далее он постепенно снижался. Уменьшение Fv/Fm отождествляют с повреждением комплексов ФС II [18]. Поэтому можно говорить о постепенном разрушении фотосинтетического аппарата в створках стручков и семенной кожуре по мере созревания семян. При этом у семядолей зародыша показатель Fv/Fm , наоборот, повышался до его уровня в клетках перикарпия и семенной кожуре и составлял примерно 0,5 отн. ед. Вероятно, в то время как хлоропласты створок стручков и семенной кожуре теряли свою активность, роль семядолей в этом процессе возрастала.

Эффективный фотохимический квантовый выход $Y(II)$ измеряли после адаптации растительных тканей к свету. Сильный импульс света резко увеличивает поток электронов по ЭТЦ, акцепторы электронов не успевают их принять, в результате чего реакционные центры фотосистем «закрываются» и не могут выполнять фотохимическую работу. «Закрытое» состояние реакционного центра означает, что первичные акцепторы электронов пластохиноны Q_A находятся в восстановленном состоянии [25].

Показано, что в начале ранней стадии зеленой спелости семян в створках стручков эффективный фотохимический квантовый выход $Y(II)$ был близок к показателю активно вегетирующих зеленых листьев. Однако к концу ранней стадии и далее на средней стадии зеленой спелости семян в створках стручков этот показатель резко снижался. В семенной кожуре на всех исследованных стадиях показатель $Y(II)$ был примерно равен, а у семядолей резко возрастал. В результате на средней стадии зеленой спелости эффективный квантовый выход ФС II в створках стручков, семенной кожуре и семядолях зародыша уравнивался и составлял 0,1–0,2 отн. ед.

Увеличение эффективного квантового выхода связано с повышением эффективности фотохимического гашения флуоресценции хлорофиллов вследствие акцептирования электронов реакционными центрами ФС II. Динамика коэффициентов фотохимического (qP) и нефотохимического (qN) тушения флуоресценции хлорофиллов и соответствовала динамике показателя $Y(II)$. Коэффициент фотохимического тушения флуоресценции qP при переходе семядолей от ранней стадии зеленой спелости к средней также повышался до уровня в плодовых и семенных оболочках и был равен примерно 0,3 отн. ед. По значению показателя qP косвенно судят о степени окисленности пула пластохинонов Q_A в ФС II. Повышение этого показателя в семядолях с 0,04 до 0,3 отн. ед. означает, что количество окисленных Q_A в момент освещения повышалось от 4 до 35%.

Исследование зависимости между плотностью переноса электронов по ЭТЦ и интенсивностью ФАР позволило установить, когда происходило так называемое «насыщение» фотосинтеза в разных типах тканей семян. «Насыщение» фотосинтеза происходит в момент, когда интенсивность ФАР превышает способность темновых реакций фотосинтеза усваивать накопленную энергию в виде НАД(Ф)·Н и АТФ, электроны накапливаются, скорость окисления пулов пластохинонов снижается и реакционные центры ФС II «закрываются». При этом кривая

зависимости между плотностью переноса электронов по ЭТЦ и интенсивности ФАР выходит на плато.

Нами было показано, что в створках стручков при переходе от ранней стадии зеленой спелости к средней максимальная плотность переноса электронов по ЭТЦ ФС II снижалась до 30 мкмоль электронов/(м²·с) при 300 мкмоль фотонов/(м²·с). В семенной кожуре также происходило снижение этого показателя до 27 мкмоль электронов/(м²·с) при 400 мкмоль фотонов/(м²·с).

При этом у семядолей зародыша наблюдалась обратная тенденция: на средней стадии зеленой спелости максимальная плотность переноса электронов увеличилась и была примерно в два раза выше, чем в тканях перикарпия и семенной кожуре.

В 2005 г. Л. Борисюк с коллегами с использованием Imaging-PAM флуориметра (Heinz Walz GmbH, Германия) показали, что на стадии «early-storage» плотность переноса электронов в ФС II в семядолях хлорофиллоносного зародыша *Glycine max* достигала 10 мкмоль электронов/(м²·с) при 200 мкмоль фотонов/(м²·с) [16]. Это согласуется с нашими данными, полученными для семядолей зародыша горчицы черной в конце ранней стадии зеленой спелости семян. Такая низкая эффективность ФС II в семядолях объясняется затрудненным доступом света и адаптацией этих органов зародыша к функционированию в условиях низкой освещенности.

На зародышах бобового растения *Sesbania sesban* (Jacq.) W. Wight также было показано, что максимальная эффективность ФС II наступала при значительно более низких величинах плотности переноса электронов по сравнению с зелеными листьями [6]. При этом активность ФС II была одинаковой на протяжении всего периода созревания семян *S. sesban*, а активность ФС I возрастала. Более высокую активность ФС I по сравнению с ФС II в зародышах семян связывают с тем, что внутрь семени проникает в основном дальний красный свет, который лучше улавливается свето-собирающими комплексами ФС I [7].

Однако данные наших экспериментов указывают на то, что при переходе семян горчицы черной от ранней стадии зеленой спелости к средней активность ФС II в семядолях менялась. В начале ранней стадии наиболее высокая активность ФС II наблюдалась в створках стручков, в конце — в семенной кожуре, а на средней стадии — в семядолях. Вероятно, уже на средней стадии зеленой спелости в клетках перикарпия и семенной кожуре начинаются деструктивные процессы, сопровождающиеся изменением структуры клеток, лизисом клеточного содержимого и деградацией содержащихся в них хлорофиллов. Повышение активности работы ФС II в формирующихся семядолях зародыша может быть связано с адаптацией хлоропластов к функционированию в условиях более высокой освещенности, вероятно, вследствие увеличения светопроницаемости тканей, окружающих зародыш.

Литература

1. Flahault M. Ch. Sur la présence de la matière verte dans les organes actuellement soustraits à l'influence de la lumière // Bull. Soc. Bot. France. 1879. Vol. 26. P. 249–259.
2. Periasamy K., Vivekanandan M. Photosynthesis in the chloroembryo of *Cyamopsis tetragonaloba* Tanu // Ann. Bot. 1981. Vol. 47. P. 793–797.
3. Eastmond P., Kolacna L., Rawsthorne S. Photosynthesis by developing embryos of oilseed rape (*Brassica napus* L.) // J. Exp. Bot. 1996. Vol. 47. P. 1763–1769.

4. *Asokanathan P.S., Johnson R. W., Griffith M., Krol M.* The photosynthetic potential of canola embryos // *Physiol. Plant.* 1997. Vol. 101. P. 353–360.
5. *Ruuska S.A., Schwender J., Ohlrogge J.B.* The capacity of green oilseeds to utilize photosynthesis to drive biosynthetic processes // *Plant Physiol.* 2004. Vol. 136. P. 2700–2709.
6. *Puthur J. T., Shackira A. M., Saradhi P.P., Bartels D.* Chloroembryos: a unique photosynthesis system // *J. Plant Physiol.* 2013. Vol. 170. P. 1131–1138.
7. Adjustments of embryonic photosynthetic activity modulate seed fitness in *Arabidopsis thaliana* / Allorent G., Osorio S., Vu J.L., Falconet D., Jouhet J., Kuntz M., Fernie A.R., Lerbs-Mache S., Macherel D., Courtois F., Finazzi G. // *New Phytol.* 2015. Vol. 205. P. 707–719.
8. *Yakovlev M. S.* Embryogenesis and some problems of phylogenesis // *Rev. Cytol. Biol. Veg.* 1969. Vol. 32, N 2. P. 325–330.
9. *Яковлев М. С., Жукова Г.Я.* Покрытосеменные растения с зеленым и бесцветным зародышем (хлоро- и лейкоэмбриофиты). Л.: Наука, 1973. 116 с.
10. *Periasamy K, Vivekanandan M.* Photosynthetic functions and induction of etiolation in chloroembryos of *Dolichos lablab* L. // *J. Plant Physiol.* 1986. Vol. 123. P. 395–399.
11. *Смоликова Г.Н., Ламан Н.А., Борискевич О.В.* Роль хлорофиллов и каротиноидов в устойчивости семян к абиотическим стрессорам // *Физиология растений.* 2011. Т. 58, № 6. С. 817–825.
12. *Смоликова Г.Н., Медведев С.С.* Фотосинтез в семенах хлороэмбриофитов // *Физиология растений.* 2016. Т. 63, № 1. С. 3–16.
13. *Kremnev D., Strand A.* Plastid encoded RNA polymerase activity and expression of photosynthesis genes required for embryo and seed development in *Arabidopsis* // *Front. Plant Sci.* 2014. Vol. 5. P. 385–397.
14. *Allen D.K., Ohlrogge J.B., Shachar-Hill Y.* The role of light in soybean seed filling metabolism // *Plant J.* 2009. Vol. 58. P. 220–234.
15. *Kulkarni M. G., Dalai A. K., Bakhshi N.N.* Utilization of green seed canola oil for biodiesel production // *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 2006. Vol. 81. P. 1886–1893.
16. *Borisjuk L., Nguyen T.H., Neuberger T., Rutten T., Tschiersch H., Claus B., Feussner I., Webb A.G., Jakob P., Weber H., Wobus U., Rolletschek H.* Gradients of lipid storage, photosynthesis and plastid differentiation in developing soybean seeds // *New Phytol.* 2005. Vol. 167, N 3. P. 761–776.
17. *Гаевский Н.А., Моргун В.Н.* Использование варибельной и замедленной флуоресценции в изучении фотосинтеза растений // *Физиология растений.* 1993. Т. 40, № 1. С. 119–127.
18. *Корнеев Д. Ю.* Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. К.: Альтерпрес, 2002. 188 с.
19. *Murchie E. H., Lawson T.* Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good practice and understanding some new applications // *J. Exp. Bot.* 2013. Vol. 64, N 13. P. 3983–3998.
20. *Kalaji H.M., Schansker G., Ladle R.J.* et al. Frequently asked questions about *in vivo* chlorophyll fluorescence: practical issues // *Photosynth. Res.* 2014. Vol. 122. P. 121–158.
21. Linking chlorophyll *a* fluorescence to photosynthesis for remote sensing applications: Mechanisms and challenges / Porcar-Castell A., Tyystjärvi E., Atherton J., Van Der Tol C., Flexas J., Pfündel E. E., Moreno J., Frankenberg C., Berry J. A. // *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65, N 15. P. 4065–4095.
22. *Junior-PAM Chlorophyll Fluorometer: Operator's Guide* / ed. by E. Pfündel. Germany: Heinz Walz GmbH, 2007. 58 p.
23. *Kitajima M., Butler W.L.* Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone // *Biochim Biophys Acta.* 1975. Vol. 376. P. 105–115.
24. *Genty B., Briantaies J.-M., Baker N. R.* The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence // *Biochimica et Biophysica Acta.* 1989. Vol. 990. P. 87–92.
25. *Loriaux S.D., Avenson T.J., Welles J.M., Mcdermitt D.K., Eckles R. D., Riensche B., Genty B.* Closing in on maximum yield of chlorophyll fluorescence using a single multiphase flash of sub-saturating intensity // *Plant, Cell and Environment.* 2013. Vol. 36. P. 1755–1770.
26. *Schreiber U.* Detection of rapid induction kinetics with a new type of high frequency modulated chlorophyll fluorometer // *Photosynth Res.* 1986. Vol. 9, N 1–2. P. 261–272.
27. *Jahns P., Holzwarth A.R.* The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II // *Biochimica et Biophysica Acta.* 2012. Vol. 1817. P. 182–193.
28. *Смоликова Г.Н., Медведев С.С.* Каротиноиды семян: синтез, разнообразие и функции // *Физиология растений.* 2015. Т. 62, № 1. С. 3–16.
29. *Nixon P.J., Michoux F., Yu J., Boehm M., Komenda J.* Recent advances in understanding the assembly and repair of photosystem II // *Annals of Botany.* 2010. Vol. 106. P. 1–16.

References

1. Flahault M. Ch. Sur la présence de la matière verte dans les organes actuellement soustraits à l'influence de la lumière. *Bull. Soc. Bot. France*, 1879, vol. 26, pp. 249–259.
2. Periasamy K., Vivekanandan M. Photosynthesis in the chloroembryo of *Cyamopsis tetragonaloba* Tanu. *Ann. Bot.*, 1981, vol. 47, pp. 793–797.
3. Eastmond P., Kolacna L., Rawsthorne S. Photosynthesis by developing embryos of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *J. Exp. Bot.*, 1996, vol. 47, pp. 1763–1769.
4. Asokanthan P. S., Johnson R. W., Griffith M., Krol M. The photosynthetic potential of canola embryos. *Physiol. Plant.*, 1997, vol. 101, pp. 353–360.
5. Ruuska S. A., Schwender J., Ohlrogge J. B. The capacity of green oilseeds to utilize photosynthesis to drive biosynthetic processes. *Plant Physiol.*, 2004, vol. 136, pp. 2700–2709.
6. Puthur J. T., Shackira A. M., Saradhi P. P., Bartels D. Chloroembryos: a unique photosynthesis system. *J. Plant Physiol.*, 2013, vol. 170, pp. 1131–1138.
7. Allorent G., Osorio S., Vu J. L., Falconet D., Jouhet J., Kuntz M., Fernie A. R., Lerbs-Mache S., Macherel D., Courtois F., Finazzi G. Adjustments of embryonic photosynthetic activity modulate seed fitness in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.*, 2015, vol. 205, pp. 707–719.
8. Yakovlev M. S. Embryogenesis and some problems of phylogenesis. *Rev. Cytol. Biol. Veg.*, 1969, vol. 32, no. 2, pp. 325–330.
9. Yakovlev M. S., Zhukova G. Ia. Pokrytosemennye rasteniia s zelenym i bestsvetnym zarodyshem (khloro-i leikoembriofity) [Angiosperms with green and colorless embryo (chloro- and leucoembryophytes)]. Leningrad, Nauka Publ., 1973. 116 p. (In Russian)
10. Periasamy K., Vivekanandan M. Photosynthetic functions and induction of etiolation in chloroembryos of *Dolichos lablab* L. *J. Plant Physiol.*, 1986, vol. 123, pp. 395–399.
11. Smolikova G. N., Laman N. A., Boriskevich O. V. Role of chlorophylls and carotenoids in seed tolerance to abiotic stressors. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2011, vol. 58, no. 6, pp. 965–973.
12. Smolikova G. N., Medvedev S. S. Photosynthesis in the seeds of chloroembryophytes. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2016, vol. 63, no. 1, pp. 1–12.
13. Kremnev D., Strand A. Plastid encoded RNA polymerase activity and expression of photosynthesis genes required for embryo and seed development in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.*, 2014, vol. 5, pp. 385–397.
14. Allen D. K., Ohlrogge J. B., Shachar-Hill Y. The role of light in soybean seed filling metabolism. *Plant J.*, 2009, vol. 58, pp. 220–234.
15. Kulkarni M. G., Dalai A. K., Bakhshi N. N. Utilization of green seed canola oil for biodiesel production. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 2006, vol. 81, pp. 1886–1893.
16. Borisjuk L., Nguyen T. H., Neuberger T., Rutten T., Tschiersch H., Claus B., Feussner I., Webb A. G., Jakob P., Weber H., Wobus U., Rolletschek H. Gradients of lipid storage, photosynthesis and plastid differentiation in developing soybean seeds. *New Phytol.*, 2005, vol. 167, no. 3, pp. 761–776.
17. Gaevskii N. A., Morgun V. N. Ispol'zovanie variabel'noi i zamedlennoi fluorestsentsii v izuchenii fotosinteza rastenii [Using a variable and delayed fluorescence in the study of photosynthesis in plants]. *Fiziologiya rastenii* [Russian Journal of Plant Physiology], 1993, vol. 40, no. 1, pp. 119–127. (In Russian)
18. Korneev D. Iu. Informatsionnye vozmozhnosti metoda induksii fluorestsentsii khlorofilla [Information possibilities of the method of chlorophyll fluorescence induction]. K., Al'terpres Publ., 2002. 188 p. (In Russian)
19. Murchie E. H., Lawson T. Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good practice and understanding some new applications. *J. Exp. Bot.*, 2013, vol. 64, no. 13, pp. 3983–3998.
20. Kalaji H. M., Schansker G., Ladle R. J. et al. Frequently asked questions about *in vivo* chlorophyll fluorescence: practical issues. *Photosynth. Res.*, 2014, vol. 122, pp. 121–158.
21. Porcar-Castell A., Tyystjärvi E., Atherton J., Van Der Tol C., Flexas J., Pfündel E. E., Moreno J., Frankenberg C., Berry J. A. Linking chlorophyll *a* fluorescence to photosynthesis for remote sensing applications: Mechanisms and challenges. *J. Exp. Bot.*, 2014, vol. 65, no. 15, pp. 4065–4095.
22. *Junior-PAM Chlorophyll Fluorometer: Operator's Guide*. Ed. by E. Pfündel. Germany, Heinz Walz GmbH, 2007. 58 p.
23. Kitajima M., Butler W. L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *Biochim Biophys Acta.*, 1975, vol. 376, pp. 105–115.
24. Genty B., Briantaies J.-M., Baker N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1989, vol. 990, pp. 87–92.

25. Loriaux S. D., Avenson T. J., Welles J. M., Mcdermitt D. K., Eckles R. D., Riensche B., Genty B. Closing in on maximum yield of chlorophyll fluorescence using a single multiphase flash of sub-saturating intensity. *Plant, Cell and Environment*, 2013, vol. 36, pp. 1755–1770.
26. Schreiber U. Detection of rapid induction kinetics with a new type of high frequency modulated chlorophyll fluorometer. *Photosynth Res.*, 1986, vol. 9, no. 1–2, pp. 261–272.
27. Jahns P., Holzwarth A. R. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 2012, vol. 1817, pp. 182–193.
28. Smolikova G. N., Medvedev S. S. Seed Carotenoids: Synthesis, Diversity, and Functions. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2015, vol. 62, no. 1, pp. 1–13.
29. Nixon P. J., Michoux F., Yu J., Boehm M., Komenda J. Recent advances in understanding the assembly and repair of photosystem II. *Annals of Botany*, 2010, vol. 106, pp. 1–16.

Статья поступила в редакцию 18 июня, принята в печать 7 июля 2015 г.

Сведения об авторах:

Смоликова Галина Николаевна — кандидат биологических наук, доцент
Лебедев Виталий Николаевич — кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
Лопатов Василий Евгеньевич — студент
Тимошук Валентина Александровна — студент
Медведев Сергей Семенович — доктор биологический наук, профессор

Smolikova Galina N. — Ph.D., Associate Professor
Lebedev Vitaliy N. — Ph.D., Associate Professor
Lopatov Vasily Ye. — student
Timoshchuk Valentina A. — student
Medvedev Sergei S. — Doctor of Biology, Professor