

Аверчева
Ольга Владимировна

**Физиологические эффекты узкополосного красно-синего
освещения растений
(на примере китайской капусты *Brassica chinensis* L.)**

Специальность: 03.01.05 – Физиология и биохимия растений

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Москва
2010

Работа выполнена на кафедре физиологии растений биологического факультета Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова и в Государственном научном центре РФ – Институте медико-биологических проблем РАН

Научные руководители:

доктор технических наук
Беркович Юлий Александрович

кандидат биологических наук, доцент
Жигалова Татьяна Викторовна

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор
Тараканов Иван Германович

доктор биологических наук, профессор
Кренделёва Татьяна Евгеньевна

Ведущая организация

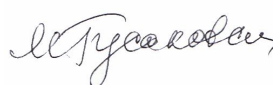
Институт биофизики СО РАН

Защита диссертации состоится 16 апреля 2010 г. в 15 ч. 30 мин. на заседании Диссертационного совета Д 501.001.46 при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, Ленинские горы, д.1, МГУ, Биологический факультет, аудитория М-1.
Факс (495) 939-43-09

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке биологического факультета МГУ им.М.В.Ломоносова

Автореферат разослан 16 марта 2010 г.

Учёный секретарь Диссертационного совета,
кандидат биологических наук



М.А. Гусаковская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Энергия фотосинтетически активной радиации (ФАР) используется растением для синтеза органических веществ в ходе фотосинтеза. Кроме того, через систему фоторецепторов свет оказывает регуляторное действие на структуру и функциональную активность фотосинтетического аппарата (ФСА), процессы роста и развитие растений, определяя фотоморфогенез, фотопериодические реакции, фототропизмы и фотонастии. Избыточная энергия света может оказывать повреждающее действие на растение.

Проблема воздействия отдельных спектральных составляющих и интенсивности падающего на растение света широко изучалась во второй половине XX века. При исследованиях спектрального состава света растения освещали узкополосным светом в различных частях диапазона длин волн ФАР, для получения которого обычно использовали различные типы светофильтров (поглощающие, интерференционные и др.) (Воскресенская и др., 1965, 1975, 1987; Протасова, 1958). Однако энергия выделенной фильтром узкой полосы светового спектра составляла не более нескольких процентов энергии исходного светового потока, остальная часть излучения первичного источника, преобразуясь в тепло, вызывала интенсивный нагрев светофильтра, который переизлучал инфракрасную радиацию на растения, что могло нарушить тепловой режим в посеве. Вследствие этого большинство описанных экспериментов по выращиванию растений на узкополосном свете проводили при плотности падающего на растения потока фотонов (ППФ), не превышающем 50-100 мкмоль/(м² с). Результаты, полученные при столь низких плотностях светового потока, часто оказывались недостаточными для понимания и описания светофизиологических зависимостей в интенсивной светокультуре растений. Альтернативным методом при фотофизиологических исследованиях было использование цветных газоразрядных ламп, в которых с помощью различных люминофоров добивались увеличения энергии излучения в выбранной узкой области ФАР. Однако спектры излучения таких ламп всегда содержали добавочные линии в других областях ФАР, что затрудняло интерпретацию данных о влиянии узких полос света на физиологические параметры растений. Таким образом, технические ограничения не всегда позволяли корректно исследовать физиологические эффекты узкополосного света на растения в условиях интенсивной светокультуры.

За последние годы широкое распространение получили новые узкополосные источники освещения – светоизлучающие диоды (СД), выполненные на основе полупроводниковых кристаллов. При пропускании электрического тока различные кристаллы испускают световые волны в узкой спектральной полосе, характерной для каждого вида кристаллов. Это делает СД, с одной стороны, удобным инструментом для исследования воздействия спектрального состава света на рост и развитие растений, а с другой стороны, открывает перспективы создания оптимальных спектров для освещения различных видов растений в светокультуре. Кроме того, светодиоды обладают рядом технических преимуществ перед другими источниками освещения: они экономичны, долговечны, слабо нагреваются и безопасны. По сообщениям фирм-производителей, светоотдача светодиодов в ближайшей перспективе может быть повышена до величин, превышающих таковые для всех известных источников искусственного освещения (Krames et al., 1999; Tamulaitis 2005).

Существующие в настоящее время разновидности СД способны излучать световые кванты практически в любой части видимого спектра. Применение люминофоров позволяет ещё более разнообразить набор спектральных характеристик излучения от светильников на базе СД. Это делает перспективным применение светодиодных светильников для выращивания растений в интенсивной светокультуре при условии научного обоснования выбора оптимальных цветовых комбинаций для конкретных видов и сортов растений. В последние годы была показана принципиальная возможность

выращивания ряда культур (пшеница, соя, зеленные овощи) под светодиодными светильниками, состоящими из красных СД с добавлением синих (около 10% по плотности потока фотонов) (Hoenecke et al., 1992; Goins et al., 1997; Dougher, Bugbee, 2001; Yorio et al., 2001). Вместе с тем выявлены неоднозначная и/или негативная реакция разных видов растений на действие узкополосного сине-красного спектра, а также особенности морфогенетического действия света различных спектральных полос (Yorio et al., 2001). Кроме того, практически отсутствуют данные о физиологических эффектах узкополосного освещения при плотностях светового потока, превышающих 100-200 мкмоль/(м² с).

Проведение всесторонней физиологической оценки воздействия светодиодных светильников с различными узкополосными спектрами излучения на рост и развитие растений и на состояние фотосинтетического аппарата представляет значительный интерес для решения фундаментальных проблем физиологии растений, связанных с пониманием механизмов действия отдельных спектральных составляющих облучения на процессы жизнедеятельности растений. Исследования такого рода актуальны также для разработки научных рекомендаций по выращиванию растений в светокультуре, в т.ч. в космических витаминных оранжереях, создаваемых в настоящее время в России.

Цель и задачи исследования. Целью представляемой работы явилось исследование особенностей физиологического состояния фотосинтетического аппарата, роста и развития растений китайской капусты (*Brassica chinensis* L.) при использовании освещения с узкополосным спектральным составом в зависимости от плотности светового потока.

Для достижения этой цели в опытах при заданных условиях освещения были поставлены следующие задачи:

1. определить ряд морфометрических параметров роста и развития растений, сроки цветения и завершения жизненного цикла;
2. исследовать мезоструктуру листа и ультраструктуру хлоропластов;
3. охарактеризовать состояние фотосинтетических мембран хлоропластов: пигментный состав, работу электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) и способность поддерживать ΔpH ;
4. изучить состояние сопрягающей системы хлоропластов;
5. провести анализ антиоксидантных систем клеток.

Научная новизна работы. Впервые дана комплексная характеристика роста, развития и структурно-функционального состояния фотосинтетического аппарата растений при освещении узкополосным светом от светильника на основе СД. Показано, что выращивание растений при освещении светом лишь с двумя узкими спектральными полосами – красной (650 нм) и синей (470 нм), при соотношении красной и синей составляющих по потоку квантов 7:1 (по падающей энергии 2,48:1) приводит к системным изменениям в организме растения. Обнаружено, что в таких условиях происходит изменение ростовых и морфогенетических процессов, энергетики фотосинтеза и адаптивных механизмов у исследованного объекта. В частности, происходит угнетение роста, синтеза сахаров и фотосинтетического фосфорилирования, наблюдается отсутствие перехода к генеративной стадии развития. Показано, что при данном спектральном составе растения иначе адаптируются к выращиванию при низкой плотности светового потока и к резкому повышению уровня освещения в процессе вегетации.

Практическая значимость работы. Показано, что внедряемая в практику фирмами-изготовителями конфигурация светодиодных светильников для светокультуры способна существенно изменять процессы фотосинтеза и роста растений. Представляемая работа вносит вклад в развитие научных основ современной светокультуры растений. Полученные экспериментальные результаты могут быть использованы при создании светодиодных светильников для выращивания растений в закрытом грунте и в замкнутых системах жизнеобеспечения. Данные, свидетельствующие об особенностях роста,

развития и морфогенеза у растений китайской капусты, а также энергетических реакций фотосинтеза при узкополосном спектре света, могут быть использованы в курсах лекций по физиологии растений.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были представлены на 9 конференциях, включая VI съезд Общества физиологов растений России (Сыктывкар, 2007), V съезд Российского фотобиологического общества (Пушино-на-Оке, 2008), XVI конгресс Федерации европейских обществ биологии растений (Тампере, Финляндия, 2008), 17-й Симпозиум Международной академии астронавтики «Человек в космосе» (Москва, 2009), V съезд Общества физиологов растений России (Апатиты, 2009), 4-ю конференцию Польского общества экспериментальной биологии растений (Краков, 2009).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 14 работ.

Объём и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, изложения полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 137 листах, содержит 9 таблиц и 10 рисунков. Список литературы включает 256 наименований, в том числе 203 на иностранном языке.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ

Во введении раскрыта актуальность темы диссертационной работы, сформулирована цель работы и определены основные задачи исследования.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Обзор литературы состоит из трёх разделов и включает данные о влиянии спектрального состава и интенсивности света на процессы роста и развития растений, а также на структурную организацию и активность ФСА. Отдельно представлены данные о действии на растения узкополосного спектра освещения. Несмотря на большое количество исследований действия спектрального состава света на рост и фотосинтез растений, действие узкополосного светодиодного освещения на растения остаётся недостаточно изученным. Обнаружен ряд эффектов такого облучения на рост, развитие и ФСА растений, но целостной картины этих эффектов нет. Показаны существенные видовые различия в реакции растений на такой спектр облучения.

Глава 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объект и условия выращивания растений

Объектом исследования являлась китайская капуста (*Brassica chinensis* L.), сорт Веснянка, селекции ВНИИССОК (код 9904085 в Государственном реестре селекционных достижений). Данный сорт показал наилучшие результаты из испытанных сортов при выращивании в прототипах космических оранжерей, вследствие чего является перспективным кандидатом для выращивания в космической оранжерее (Беркович и др., 2005). Растения выращивали на пористых металлокерамических трубках с использованием питательного раствора Чеснокова в дозе 0,5 нормы с добавлением микроэлементов по Хогланду при водном потенциале на уровне оси трубок (-1,0) кПа при температуре $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности воздуха $25 \pm 5\%$.

Для выращивания растений использовали два источника освещения. Растения контрольного варианта росли под дуговой натриевой лампой высокого давления ДНаТ-400 со стандартным отражателем (НЛ; далее в тексте свет от этой лампы мы будем называть «белым»). Растения опытного варианта - под светильником, составленным из красных и синих светодиодов (СД) с максимумами спектров испускания по паспорту 650 нм и 470 нм, соответственно, при соотношении красной и синей составляющих по потоку квантов 7:1 (по падающей энергии ($\text{Вт}/\text{м}^2$) 2,48:1) (Ерохин, Беркович, 2005; Аверчева и

др., 2009). Подробное описание конструкции плат светильника дано в работе (Ерохин, Беркович, 2005). Спектры испускания использованных светильников представлены на рис. 1. Растения выращивали в условиях непрерывного освещения при различной плотности потока квантов на уровне верхнего листа: около 400 (391 ± 24) мкмоль/(м² с) и около 100 (107 ± 9) мкмоль/(м² с); далее в тексте данные уровни освещения обозначены как «нормальный» и «низкий», соответственно, согласно рекомендациям работы (Ерохин, Беркович, 2005). Кроме того, часть растений после 12-суточного выращивания при низком уровне освещения переносили на нормальный уровень (далее в тексте – «переменный» уровень освещения) и наблюдали адаптацию ФСА к новым световым условиям. Для анализов использовали растения в возрасте 15 суток и 27-28 суток.

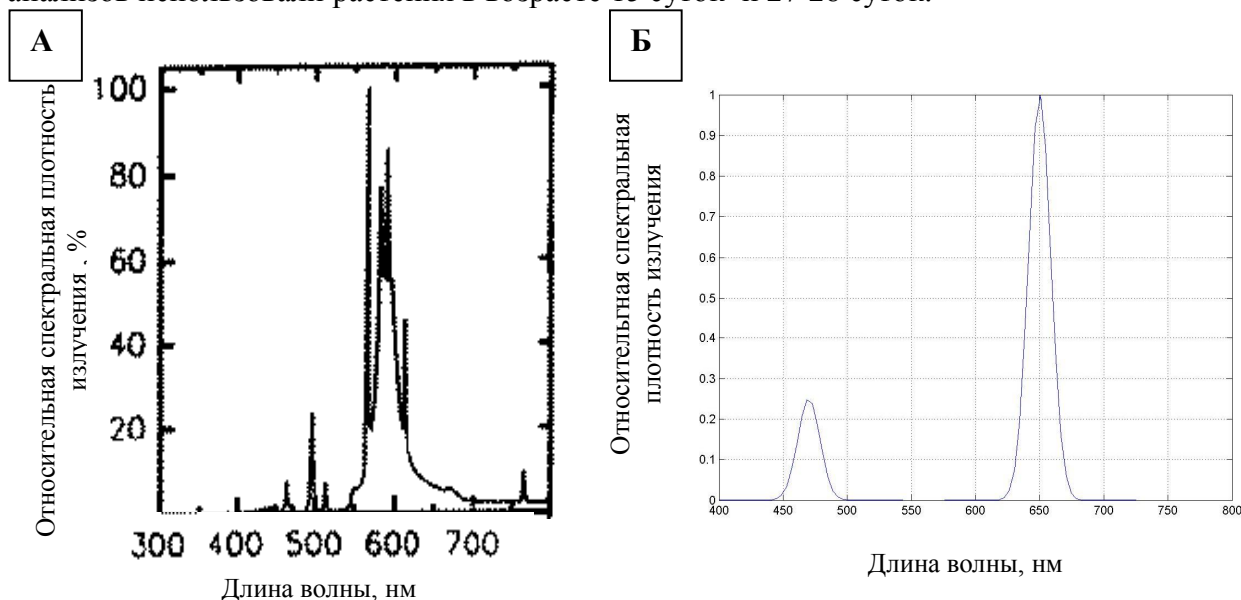


Рис. 1. Распределение энергии света по спектру испускания использованных в работе светильников.

А – дуговая натриевая лампа высокого давления ДНаТ-400; Б – светильник на основе светоизлучающих диодов.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Определение морфометрических параметров. Сырую массу растений определяли на электронных весах NAVIGATORTM с точностью 0,01 г. Содержание сухих веществ в образцах определяли, высушивая их в сушильном шкафу при 80⁰С до постоянного веса. Площадь листьев рассчитывали по формуле: $S = 2 \cdot l \cdot d / 3$, где S – площадь листа, см²; l – длина листовой пластинки, см; d – ширина листовой пластинки в самом широком участке. Листовой индекс (ЛИ) рассчитывали, исходя из суммарной площади листьев и освещаемой площади по формуле: $ЛИ = S_{л} / S_{п}$, где $S_{л}$ – суммарная площадь всех листьев в посеве, см²; $S_{п}$ – посадочная площадь, см².

2.2.2. Определение содержания сахаров в растениях. Содержание растворимых сахаров (свободных глюкозы, фруктозы и сахарозы) определяли по методике (Ермаков А.И. и др., 1987, с. 135). Содержание общих сахаров (суммарное содержание свободных и полученных в результате гидролиза глюкозы и фруктозы) определяли антроновым методом по методике (Ермаков А.И. и др., 1972) с модификациями.

2.2.3. Исследование мезоструктуры фотосинтетического аппарата проводили методами световой и трансмиссионной электронной микроскопии на срезах, приготовленных из высечек, взятых в центре верхней трети листа. Материал фиксировали глутаровым альдегидом с последующей постфиксацией тетроксидом осмия и уранилацетатом в этаноле (Уикли, 1975). Срезы для световой и электронной микроскопии готовили, соответственно, на пирамитоме LKB и ультратоме LKB Ultratome V (Швеция); срезы для электронной микроскопии затем монтировали на медных сеточках и

контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу (Уикли, 1975). Для световой микроскопии использовали микроскоп ScienOp BP-52 («Opto-Electric Instrument Co., Ltd.» КНР). Электронную микроскопию проводили на электронном трансмиссионном микроскопе JEM-100B (Япония) в межкафедральной лаборатории электронной микроскопии биологического факультета МГУ. Выбор показателей мезоструктуры листа для анализа был сделан согласно рекомендациям работ (Мокроносов, Борзенкова, 1978; Борзенкова, Храмцова, 2006).

2.2.4. Анализ пигментного состава и оптических свойств листьев. *Содержание хлорофиллов a и b (Хл a и b) и суммы каротиноидов (Кар)* определяли после их экстракции из листьев ¹ 100%-ным ацетоном на спектрофотометре UV VIS Spectrophotometer SPECORD 200 PC («Analytik Jena AG», Германия)² и рассчитывали по формулам из работы Lichtenthaler (Lichtenthaler, 1987). *Спектр поглощения листа* рассчитывали по спектрам отражения и пропускания высечек, записанным на спектрофотометре с использованием интегрирующей сферы, по формуле: $A = 100 - R - T$, где A – поглощение, %; R – отражение, %; T – пропускание, %.

2.2.5. Определение параметров флуоресценции хлорофилла проводили на высечках листьев при помощи импульсного флуориметра, разработанного на кафедре биофизики биологического факультета МГУ (Воронова и др., 2002). Величины флуоресценции при открытых (F_o) и полностью закрытых (F_m) реакционных центрах определяли в 100-кратной повторности с последующим расчетом средних значений F_o и F_m , а также величины относительной переменной флуоресценции $F_v/F_m ((F_m - F_o)/F_m)$. При определении F_v/F_m в реальных условиях работы ФСА высечки листьев облучали постоянным светом с той же интенсивностью, при которой выращивали растения, а также регистрировали время достижения стационарного состояния флуоресценции ($t_{\text{стац.}}$). На основе полученных данных рассчитывали параметр NPQ, отражающий нефотохимическое тушение флуоресценции Хл, по формуле $(F_m/F_m') - 1$; и параметр qP, характеризующий фотохимическое тушение флуоресценции Хл, по формуле $(F_m - F_o')/(F_m' - F_o)$ (Kolber *et al.*, 1988).

2.2.6. Выделение хлоропластов. Хлоропласты класса C (Hall, 1972) выделяли методом дифференциального центрифугирования (Гавриленко, Жигалова, 2003, с. 154-155). Среда выделения содержала 0,35 M NaCl и 0,025 M Трис-HCl буфер, pH 8,0.

2.2.7. Анализ транспорта электронов в ЭТЦ фотосинтеза и реакции Мелера проводили полярографическим методом на установке, собранной на кафедре физиологии растений биологического факультета МГУ, по изменению содержания кислорода в среде (Гавриленко, Жигалова, 2003, с. 181-191).

2.2.8. Активность фотофосфорилирования (ФФ) на изолированных хлоропластах определяли по убыли неорганического фосфата в реакционной смеси на свету (Гавриленко, Жигалова, 2003, с. 196-203). Активность *циклического ФФ* определяли в присутствии феназинметасульфата (ФМС), *нециклического ФФ* – в присутствии феррицианида калия ($K_3Fe(CN)_6$). Количество неорганического фосфата определяли методом Лоури (Lowry *et al.*, 1951; Гавриленко, Жигалова, 2003, с. 199-200), количество восстановленного феррицианида калия – на спектрофотометре при длине световой волны 420 нм. На основе полученных данных рассчитывали показатель $P/2e^-$.

2.2.9. Определение ΔpH при освещении хлоропластов. Величину трансмембранной разности pH определяли на основании анализа концентрационной зависимости величины обратимого фотоиндуцированного уменьшения сигнала ЭПР спинового зонда ТЕМПО-амин, добавляемого в суспензию хлоропластов в различных концентрациях (Trubitsin, Tikhonov, 2003).

2.2.10. Исследование сопрягающего белка хлоропластов. *Выделение сопрягающего белка 1 (CF₁)* из хлоропластов проводили по методике Штротманна с сотр.

¹ Здесь и далее для исследований брали 2-ой лист 15-дневных растений и 4-ый лист 27-28-дневных растений

² Далее в тексте – «спектрофотометр»

(Strothmann *et. al.*, 1973). Первичную очистку и концентрирование CF_1 осуществляли переосаждением белка сульфатом аммония. Определение Ca^{2+} -АТФазной активности препаратов CF_1 проводили после активации фермента нагреванием в течение 5 мин при 61°C и последующей 10-минутной инкубации при 37°C в реакционной среде (Степанова и др., 1978). Реакцию останавливали добавлением 20% ТХУ. Расчёт активности фермента производили по разности содержания фосфора в опытной и контрольных пробах (контроль 1 – внесение ТХУ сразу после активации фермента и контроль 2 – внесение ТХУ до активации фермента), что позволяло рассчитать активность фермента во время и после активации фермента нагреванием. Неорганический фосфат и белок определяли методом Лоури (Lowry *et. al.*, 1951).

2.2.11. Определение малонового диальдегида (МДА) в листьях проводили фотокolorиметрическим методом на спектрофотометре при длине световой волны 532 нм с использованием 2-тиобарбитуровой кислоты (ТБК) и рассчитывали в нмолях на грамм сырой массы (Власова и др., 1994, с. 113-116).

2.2.12. Определение активности антиоксидантных ферментов. Для определения активности антиоксидантных ферментов использовали супернатант, полученный при выделении хлоропластов. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли методом, основанным на восстановлении нитросинего тетразолия супероксидными радикалами на свету в присутствии рибофлавина и метионина с последующим измерением оптической плотности реакционной среды при длине световой волны 560 нм (Giannopolitis, Ries, 1977). За единицу активности СОД принимали количество фермента, которое ингибирует фоторедукцию нитросинего тетразолия на 50%. Активность аскорбатпероксидазы (АсП) определяли по уменьшению оптической плотности раствора при длине световой волны 290 нм, обусловленной окислением аскорбата (Nakano, Asada, 1981).

2.2.13. Определение содержания аскорбиновой кислоты (АК) в листьях. Содержание АК определяли по восстановлению ею феррицианида калия (Шипарев и др., 1996, с. 159-161). Оптическую плотность реакционной смеси измеряли на спектрофотометре при длине световой волны 620 нм.

2.2.14. Статистическая обработка данных и представление результатов. Для получения представленных в работе данных было проведено от 2 до 9 независимых экспериментов. В таблицах и графиках представлено среднее арифметическое биологических повторностей и его стандартная ошибка. Проверку гипотез о достоверности отличий средних двух выборок проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента с уровнем значимости $P = 0,05$. Обработку данных проводили при помощи программы Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, США).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Характеристика роста и состояния ФСА растений при плотности потока квантов 400 мкмоль/(м² с).

При нормальной плотности потока квантов (около 400 мкмоль/(м² с)) обнаружены существенные различия между растениями контрольного (НЛ) и опытного (СД) вариантов по основным показателям роста. Растения, выращенные под СД, имели меньшую *скорость накопления биомассы* (рис. 2) и, как следствие, уступали контрольным растениям по *массе как надземной части, так и корня* (табл. 1). При этом в период между 15-м и 27-28-м днями вегетации *соотношение масс надземной части и корня* у контрольных растений уменьшилось, а у опытных - увеличилось (табл. 1). Таким образом, у растений, выращенных под СД, на фоне угнетения роста целого растения наблюдали замедление роста корня по сравнению с надземной частью. *Площадь листовой поверхности* у опытных растений также была меньше по сравнению с контролем за счет меньших размеров 2-го, 3-го и 4-го листа. *Сроки окончания вегетации*, т.е. срок естественного отмирания, были близки у растений, выращенных под НЛ и СД (115 и 120 дней, соответственно). Однако контрольные растения к концу вегетации дали цветоносы, на

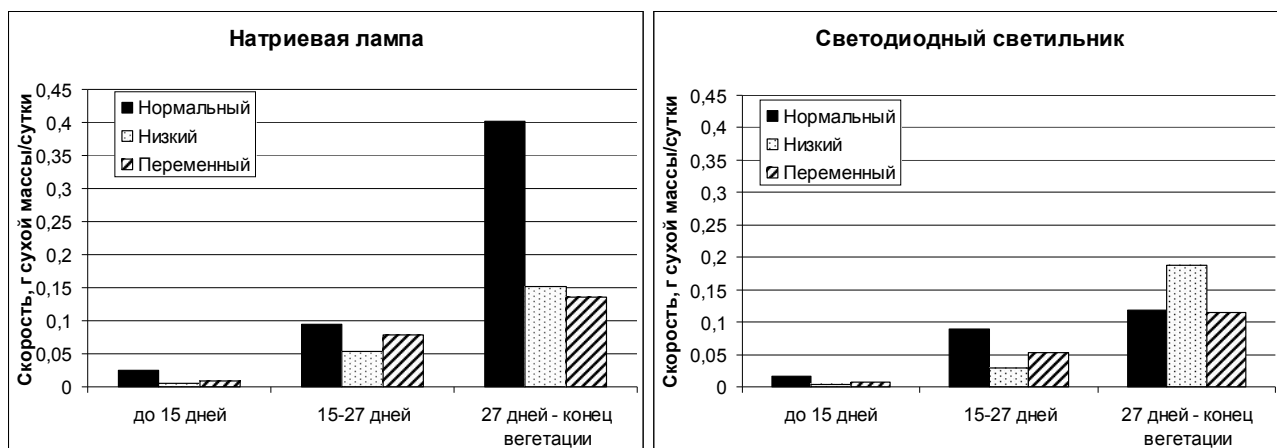


Рис. 2. Скорость накопления биомассы у растений китайской капусты, выращенных при освещении НЛ и СД при разном уровне потока квантов (нормальный – 400 мкмоль/(м² с), низкий – 100 мкмоль/(м² с), переменный – перенос растений в 12-дневном возрасте с низкого потока квантов на нормальный)

каждом из которых было до 25 соцветий. У растений, выращенных под СД, переход к генеративной стадии развития не наблюдался.

В возрасте 15 и 27-28 суток *суммарное содержание сахаров* в листьях опытных растений было в 2 – 3 раза ниже, чем в контроле (рис. 3). *Доля растворимых сахаров* в общем пуле сахаров составила 50% и 100% у растений под НЛ и СД, соответственно. *Содержание АК* у опытных растений в 15-дневном возрасте было на 40% выше по сравнению с контролем, но в возрасте 27-28 суток этот показатель выровнился и в обоих вариантах составил около 0,4 мг/г сырой массы.

Площадь 4-го снизу листа у растений под НЛ была в среднем в 2 раза больше, чем под СД (табл. 2). Однако показатели *мезоструктуры листа* были близки в контрольном и опытном вариантах. Лист китайской капусты не обладает выраженным палисадным мезофиллом, однако 3–4 слоя клеток на верхней стороне листа имеют более округлую форму и довольно плотно упакованы; клетки нижних слоев – неправильной формы, с крупными межклетниками (рис. 4). Как под НЛ, так и под СД клетки верхних слоев мезофилла были в 1,5 раза крупнее нижележащих клеток, клетки мезофилла имели примерно равное число хлоропластов со слабо развитой гранальной системой (рис. 5). Вместе с тем в хлоропластах растений, выращенных под НЛ, 48–74% от площади проекции хлоропластов составляли крахмальные зерна, а внутри хлоропластов были видны крупные пластоглобулы (по 2–12 на хлоропласт); у растений под СД крахмальные зерна составляли не более 9–24% от площади проекции хлоропластов, а пластоглобулы были мельче и не столь многочисленны (рис. 5).

При нормальном уровне плотности потока квантов *состояние фотосинтетических мембран* мало зависело от источника освещения. *Оптические свойства листьев* и *содержание фотосинтетических пигментов* были близки, хотя к 27-28 суткам вегетации растения под СД на 30% превышали контрольные по общему содержанию Хл и Кар, при неизменном их соотношении (табл. 3). *Квантовый выход разделения зарядов в ФС II*, характеризуемый величиной F_v/F_m , у растений контроля и опыта практически одинаков и близок к 0,8. Величины *фотохимического (qP) и нефотохимического (NPQ) тушения флуоресценции*, также были практически одинаковы у растений, выращенных под НЛ и СД (рис. 6). *Время достижения стационарного уровня флуоресценции, t_{стац} (F_o')*, характеризующее период, необходимый для активации ферментов цикла Кальвина, не зависело от спектра падающего света и составляло у 15-дневных растений около 5 мин, у растений 27-28-дневного - 3,6-3,7 мин.

Таблица 1. Морфометрические параметры растений китайской капусты, выращенных при освещении НЛ и СД при разном уровне освещения (400 – «нормальный», 100 – «низкий», 100 → 400 – «переменный»)

Показатели		Светиль- ник	Уровень освещения		
			400	100	100 → 400
15 дней					
Надземная часть	Сырая масса, г	НЛ	3,42 ± 0,17	1,27 ± 0,04	1,42 ± 0,06
		СД	2,17 ± 0,12	1,09 ± 0,04	0,94 ± 0,04
	Сухая масса, г	НЛ	0,112 ± 0,013	0,025 ± 0,002	0,035 ± 0,003
		СД	0,071 ± 0,013	0,020 ± 0,003	0,021 ± 0,003
Корень	Сырая масса, г	НЛ	0,388 ± 0,070	0,070 ± 0,006	0,125 ± 0,009
		СД	0,244 ± 0,030	0,068 ± 0,007	0,097 ± 0,009
	Сухая масса, г	НЛ	0,039 ± 0,004	0,012 ± 0,001	0,016 ± 0,001
		СД	0,030 ± 0,004	0,010 ± 0,001	0,011 ± 0,001
Отношение масс побег/корень	По сырой массе	НЛ	30,55 ± 1,21	51,63 ± 0,94	40,69 ± 1,21
		СД	31,28 ± 2,31	53,79 ± 2,71	44,40 ± 2,01
	По сухой массе	НЛ	9,99 ± 0,48	5,77 ± 0,08	7,79 ± 0,00
		СД	8,20 ± 0,07	7,14 ± 0,09	9,16 ± 0,01
Суммарная площадь листьев, см ²		НЛ	84,51 ± 6,79	38,86 ± 4,68	39,45 ± 5,14
		СД	58,43 ± 6,71	37,48 ± 5,09	33,72 ± 2,87
Листовой индекс		НЛ	2,81 ± 0,38	0,85 ± 0,22	1,30 ± 0,28
		СД	2,69 ± 0,46	0,79 ± 0,16	1,60 ± 0,17
27-28 дней					
Надземная часть	Сырая масса, г	НЛ	19,65 ± 1,23	10,39 ± 0,54	16,69 ± 1,04
		СД	14,05 ± 1,13	8,18 ± 0,51	8,21 ± 0,58
	Сухая масса, г	НЛ	0,833 ± 0,195	0,241 ± 0,038	0,366 ± 0,040
		СД	0,365 ± 0,037	0,084 ± 0,013	0,279 ± 0,059
Корень	Сырая масса, г	НЛ	1,515 ± 0,162	0,720 ± 0,050	1,077 ± 0,093
		СД	1,321 ± 0,173	0,417 ± 0,033	0,728 ± 0,066
	Сухая масса, г	НЛ	0,190 ± 0,031	0,063 ± 0,007	0,097 ± 0,007
		СД	0,114 ± 0,011	0,030 ± 0,003	0,096 ± 0,013
Отношение масс побег/корень	По сырой массе	НЛ	24,26 ± 2,50	43,60 ± 2,72	45,70 ± 1,25
		СД	38,50 ± 0,48	98,45 ± 5,28	30,02 ± 2,51
	По сухой массе	НЛ	8,01 ± 0,26	11,38 ± 0,24	11,12 ± 0,12
		СД	11,55 ± 0,21	13,85 ± 0,28	7,64 ± 0,21
Суммарная площадь листьев, см ²		НЛ	455,46 ± 39,24	231,35 ± 20,37	334,17 ± 24,28
		СД	325,69 ± 50,50	261,60 ± 31,15	272,77 ± 24,33
Листовой индекс		НЛ	4,52 ± 0,35	2,04 ± 0,22	3,38 ± 0,36
		СД	3,15 ± 0,57	2,24 ± 0,34	2,77 ± 0,52
Конец вегетации					
Сухая масса надземной части, г		НЛ	36,92 ± 12,75	14,78 ± 7,72	12,96 ± 2,72
		СД	12,41 ± 4,2	28,19 ± 6,22	13,77 ± 4,23

Фотохимическая активность изолированных хлоропластов китайской капусты, выращенной под НЛ и СД, существенно не различалась. Активность нециклического транспорта электронов в отсутствие фосфат-акцепторной системы (базальный транспорт электронов) и нециклического транспорта электронов в присутствии АДФ и Φ_n (транспорт электронов, сопряженный с синтезом АТФ), а также активность транспорта электронов в ФС I хлоропластов, активность реакции Мелера и величина фотоиндуцированного градиента протонов (ΔpH), измеренная на изолированных тилакоидных мембранах с помощью спиновых меток, были практически одинаковы в хлоропластах контроля и опыта.

Вместе с тем были выявлены различия в активности *фотофосфорилирования* в хлоропластах контрольных и опытных растений. Активность циклического фотофосфорилирования (ЦФ) у растений, выращенных под СД, была несколько ниже по сравнению с контролем в возрасте 15 суток, но к 27-28-дневному возрасту она выравнивалась (рис. 7). Активность нециклического фотофосфорилирования (НЦФ) в хлоропластах растений, выращенных под СД, была более чем на 50% ниже по сравнению с растениями, выращенными под НЛ, в возрасте как 15, так и 27-28 суток. *Степень сопряжения транспорта электронов с синтезом АТФ*, $P/2e^-$, рассчитанная с учетом активности НЦФ и сопряженного транспорта электронов, у растений, выращенных под СД, примерно на 40% ниже, чем в контроле (рис. 7).

Показатель	Уровень освещения, мкмоль квантов/(м ² с)	Источник освещения	
		НЛ	СД
Площадь листа, см ²	400 100	116,8 ± 14,8 62,5 ± 9,9	61,1 ± 12,6 72,3 ± 12,1
Толщина листа, мкм	400 100	208,5 ± 9,2 173,8 ± 4,8	173,1 ± 25,9 257,7 ± 7,2
Удельная поверхностная плотность листа, мг/см ²	400 100	3,18 ± 0,33 2,27 ± 0,11	4,07 ± 0,45 1,57 ± 0,05
Площадь проекции клетки, мкм ² верхние слои мезофилла	400 100	706 ± 56 477 ± 24	600 ± 150 1104 ± 13
нижние слои мезофилла	400 100	450 ± 40 404 ± 41	467 ± 132 599 ± 10
Число хлоропластов в проекции клетки верхние слои мезофилла	400 100	5 ± 1 6 ± 1	8 ± 3 15 ± 3
нижние слои мезофилла	100	5 ± 0	11 ± 0
Отношение суммарной площади проекции хлоропластов к площади проекции клетки верхние слои мезофилла	400 100	0,13 ± 0,08 0,15 ± 0,04	0,12 ± 0,03 0,25 ± 0,03
нижние слои мезофилла	400 100	0,21 ± 0,13 0,14 ± 0,02	0,21 ± 0,08 0,26 ± 0
Площадь проекции хлоропласта, мкм ² верхние слои мезофилла	400 100	14,3 ± 6,2 11,9 ± 2,1	11,7 ± 2,8 18,8 ± 1,1
нижние слои мезофилла	100	10,6 ± 0,7	14,0 ± 0,8
Объем хлоропласта, мкм ³ верхние слои мезофилла	400 100	32,8 ± 17,7 32,5 ± 7,1	38,1 ± 12,8 50,3 ± 13,7
нижние слои мезофилла	100	23,3 ± 2,3	36,0 ± 9,2
Площадь поверхности хлоропласта, мкм ² верхние слои мезофилла	400 100	49,2 ± 17,3 50,0 ± 6,6	54,9 ± 11,1 66,8 ± 12,4
нижние слои мезофилла	100	41,6 ± 3,0	53,2 ± 8,8

Ca^{2+} -АТФазная активность сопрягающего белка (CF_1) не различалась у растений, освещаемых СД и НЛ, и не менялась с возрастом растений (табл. 4). Однако была обнаружена различная реакция сопрягающих белков на условия активации. Сопрягающие белки, выделенные из опытных растений, уже в процессе активации проявляли активность, сопоставимую с таковой, измеряемой при 37°C. Сопрягающие белки контрольных растений не обладали активностью во время активации.

Содержание МДА в тканях листа не различалось у растений, выросших под НЛ и СД. Активность АсП и СОД в листьях опытных растений были значительно ниже по сравнению с контролем в 15-дневном возрасте, на 50% и 30%, соответственно. В возрасте 27-28 суток активность антиоксидантных ферментов у контрольных и опытных растений была одинакова.

Таким образом, при плотности потока квантов 400 мкмоль/(м² с) исключение из спектра облучения квантов всех длин волн, кроме узких полос в красной и синей области, практически не повлияло на структуру, пигментный аппарат и фотохимическую активность ФСА растений, но привело к угнетению синтеза сахаров и существенному изменению роста, морфогенеза и онтогенеза растений. Сопрягающая система хлоропластов обладала наибольшей чувствительностью к спектральному составу освещения: наблюдали снижение фотофосфорилирующей активности и изменение функциональных свойств сопрягающих белков хлоропластов. Накопление МДА и активность антиоксидантных ферментов в листьях взрослых растений не зависела от спектра облучения.

3.2. Характеристика роста и состояния ФСА растений при плотности потока квантов 100 мкмоль/(м² с).

При низкой плотности потока квантов, как и при нормальной, в течение первых 4-х недель вегетации скорость накопления биомассы и доля корня в массе целого растения в опытном варианте были ниже, чем в контроле (табл. 1, рис. 2). Вместе с тем площадь листовой поверхности при низкой плотности потока квантов, в отличие от нормального уровня освещения, была одинакова у контрольных и опытных растений. Кроме того, при низком уровне потока квантов, в отличие от нормального, скорость роста растений, освещаемых СД, резко возрастала после 27-28 дня вегетации и превышала таковую для контрольных растений. Срок вегетации опытных растений также был больше (175 дней против 120 дней в контроле), вследствие чего к концу вегетации растения под СД в два раза превышали контрольные по сухой массе надземной части. При низкой плотности потока

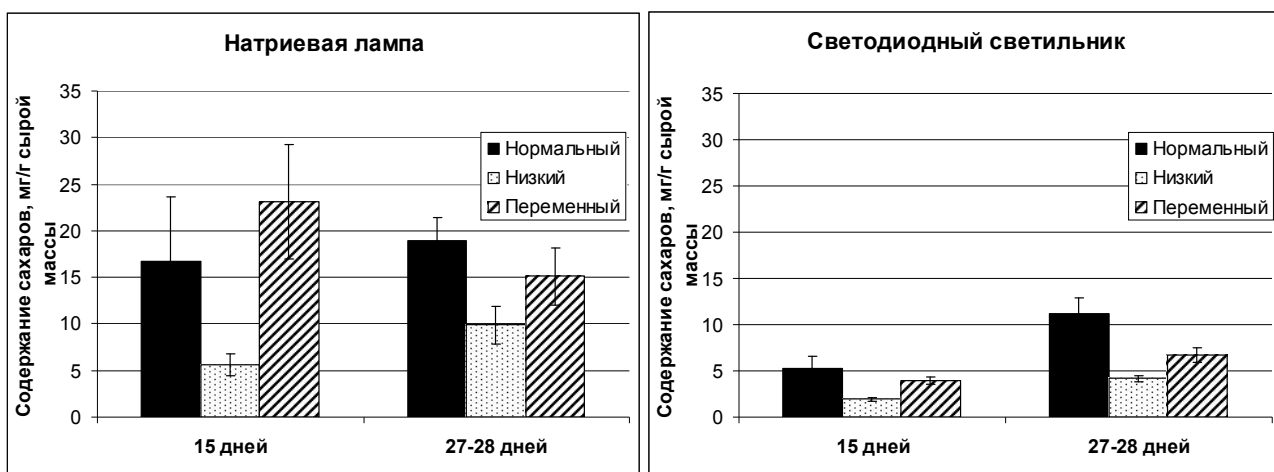


Рис. 3. Содержание сахаров во 2-м листе 15-дневных растений и в надземной части 27-28-дневных растений китайской капусты, выращенных при освещении НЛ и СД при разном уровне потока квантов (обозначения светового потока – как на рис. 2)

квантов генеративная стадия развития не наступила ни в контроле, ни в опыте.

Как и при нормальной плотности светового потока, при низком потоке квантов *суммарное содержание сахаров* у опытных растений было достоверно ниже по сравнению с контролем (рис. 3). Однако, в отличие от нормального уровня освещения, *доля растворимых сахаров в общем количестве сахаров* у растений под СД была вдвое ниже по сравнению с контрольными в 15-дневном возрасте (37% и 78%, соответственно) и сопоставима с контролем в возрасте 27-28 суток (около 70%). Содержание АК в растениях контрольного и опытного вариантов достоверно не различалось.

Таблица 3. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений китайской капусты, выращенной при освещении НЛ и СД при разной плотности потока квантов

Показатели	Светильник	Уровень освещения		
		400 мкмоль/(м ² с)	100 мкмоль/(м ² с)	Переменный
15 дней				
Содержание Хл <i>a</i> , мг/дм ²	НЛ	1,49 ± 0,09	1,08 ± 0,07	1,51 ± 0,14
	СД	2,01 ± 0,18	1,12 ± 0,09	1,40 ± 0,09
Содержание Хл <i>b</i> , мг/дм ²	НЛ	0,60 ± 0,04	0,42 ± 0,03	0,55 ± 0,08
	СД	0,77 ± 0,12	0,38 ± 0,03	0,51 ± 0,04
Суммарное содержание Хл, мг/дм ²	НЛ	2,10 ± 0,12	1,49 ± 0,10	2,07 ± 0,21
	СД	2,78 ± 0,26	1,50 ± 0,11	1,91 ± 0,11
Содержание Кар, мг/дм ²	НЛ	0,44 ± 0,02	0,30 ± 0,02	0,41 ± 0,03
	СД	0,52 ± 0,04	0,31 ± 0,02	0,40 ± 0,03
Соотношение Хл <i>a</i> /Хл <i>b</i>	НЛ	2,58 ± 0,15	2,69 ± 0,12	3,05 ± 0,26
	СД	2,82 ± 0,20	2,94 ± 0,11	2,79 ± 0,19
Соотношение Хл/Кар	НЛ	4,72 ± 0,16	4,97 ± 0,16	5,00 ± 0,22
	СД	5,36 ± 0,21	4,85 ± 0,17	4,96 ± 0,23
27-28 дней				
Содержание Хл <i>a</i> , мг/дм ²	НЛ	1,48 ± 0,15	1,45 ± 0,20	1,61 ± 0,15
	СД	2,03 ± 0,17	1,42 ± 0,12	2,24 ± 0,17
Содержание Хл <i>b</i> , мг/дм ²	НЛ	0,56 ± 0,04	0,66 ± 0,07	0,61 ± 0,05
	СД	0,73 ± 0,05	0,49 ± 0,05	0,81 ± 0,07
Суммарное содержание Хл, мг/дм ²	НЛ	2,04 ± 0,18	2,11 ± 0,25	2,23 ± 0,21
	СД	2,76 ± 0,22	1,91 ± 0,16	3,06 ± 0,22
Содержание Кар, мг/дм ²	НЛ	0,38 ± 0,03	0,36 ± 0,04	0,41 ± 0,04
	СД	0,52 ± 0,04	0,35 ± 0,03	0,58 ± 0,05
Соотношение Хл <i>a</i> /Хл <i>b</i>	НЛ	2,65 ± 0,19	2,27 ± 0,25	2,61 ± 0,13
	СД	2,78 ± 0,10	2,95 ± 0,16	2,82 ± 0,16
Соотношение Хл/Кар	НЛ	5,31 ± 0,06	5,77 ± 0,15	5,40 ± 0,11
	СД	5,31 ± 0,10	5,57 ± 0,07	5,40 ± 0,14

При низком потоке квантов, в отличие от нормального, *площадь 4-го листа* была одинакова у растений, выращенных под СД и под НЛ (табл. 2). Однако опытные растения имели меньшую *УППЛ*, но большую *толщину листа*, по сравнению с контролем. Кроме того, в листьях контрольных растений мезофилл стал более однородным, т.е. клетки верхних и нижних слоев мезофилла не различались по размерам, площади проекции и числу хлоропластов. В листьях опытных растений сохранились различия между верхними и нижними слоями мезофилла; клетки верхних слоев мезофилла, по сравнению с нижними, отличались большими размерами, а также большим числом хлоропластов и размерами хлоропластов (табл. 2, рис.4). Как и при нормальном потоке квантов, *доля гранальных участков мембран* в хлоропластах контрольных и опытных растений была примерно одинакова и составила не более 12–14% от площади проекции хлоропласта (рис. 5в, 5г).

Рис. 4. Структура четвертого листа 27-28-дневных растений китайской капусты, выращенной под натриевой лампой высокого давления (А, В) и светодиодным светильником (Б, Г) при плотности потока фотонов 400 мкмоль/(м² с) (А, Б) и 100 мкмоль/(м² с) (В, Г).

Срезы окрашены 1% раствором метиленового синего в 1% растворе буры, толщина среза – 3 мкм. Фотографии сделаны при 400-кратном увеличении.

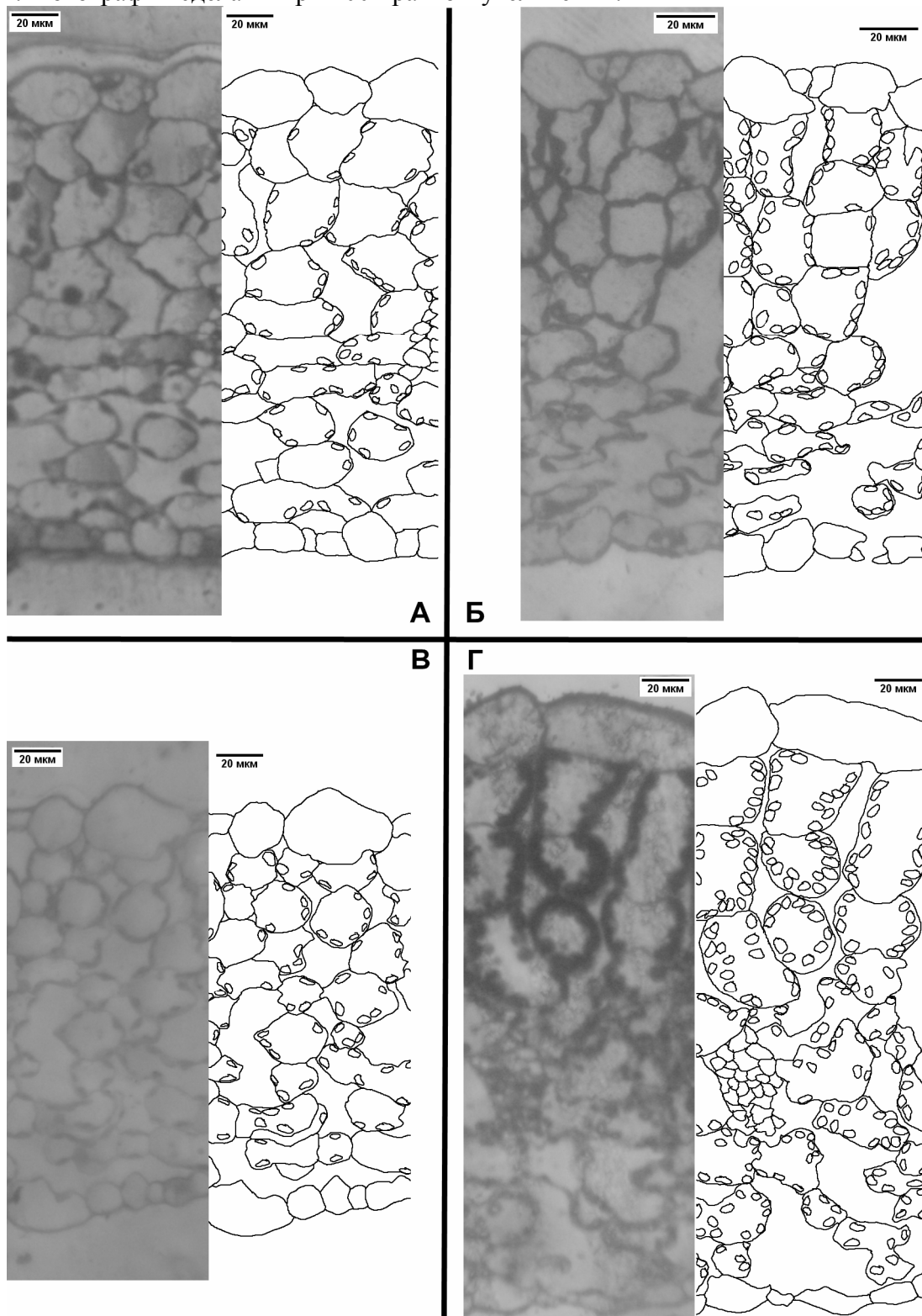
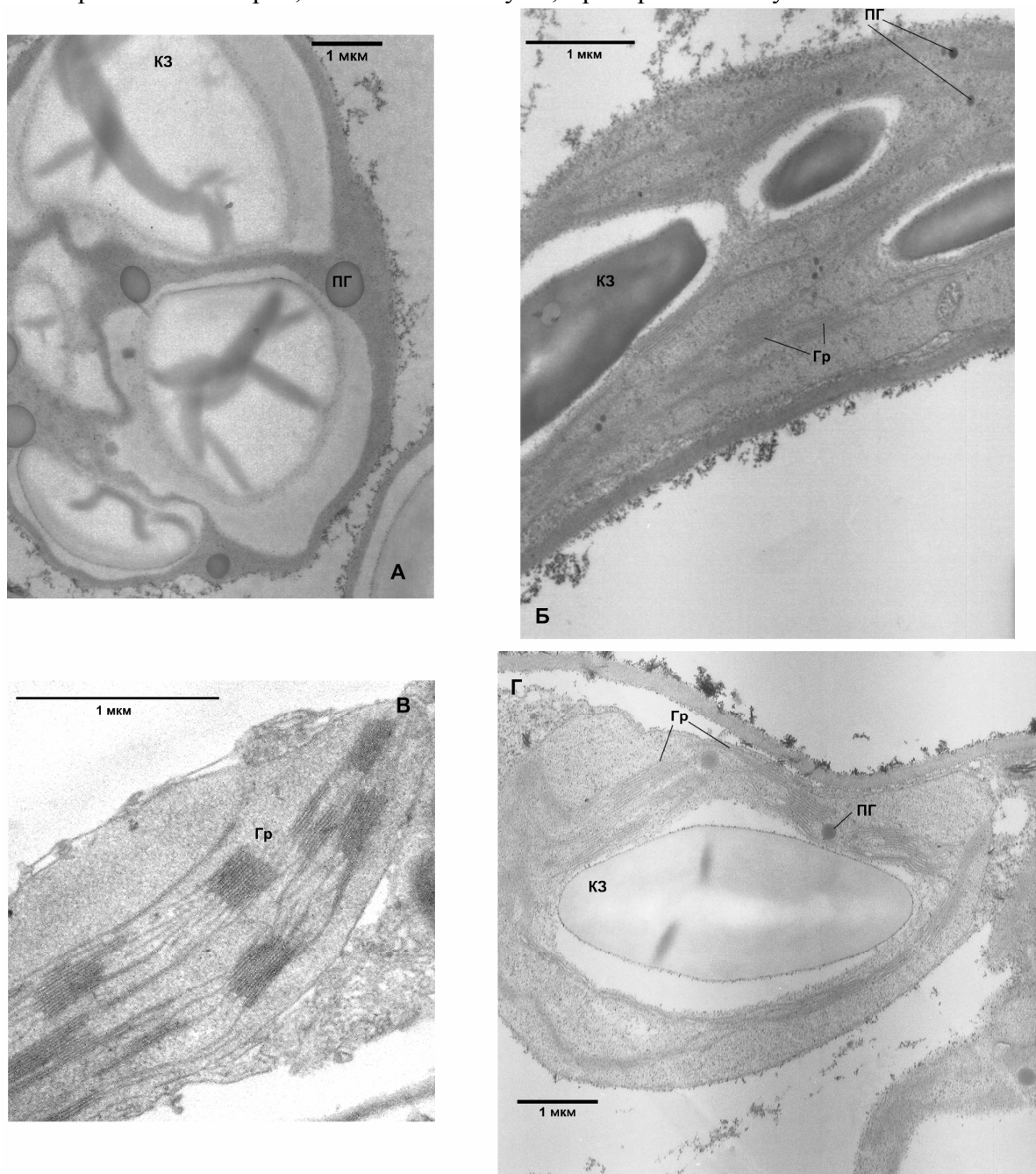


Рис. 5. Ультраструктура хлоропластов четвертого листа 27-28-дневных растений китайской капусты, выращенной под натриевой лампой высокого давления (А, В) и светодиодным светильником (Б, Г) при плотности потока фотонов 400 мкмоль /($\text{м}^2 \text{с}$) (А, Б) и 100 мкмоль/($\text{м}^2 \text{с}$) (В, Г).

КЗ – крахмальные зерна; Пг – пластоглобулы; Гр – гранальные участки.



Однако при низком потоке квантов, в отличие от нормального, в хлоропластах контрольных растений крахмальные зерна и пластоглобулы отсутствовали, а в хлоропластах растений, освещаемых СД, были обнаружены крахмальные зерна (23–63% от площади проекции хлоропласта) и небольшое количество пластоглобул.

Большинство показателей *функционального состояния тилакоидных мембран* имели более низкие значения при низком потоке квантов по сравнению с нормальным, но существенно не различались у растений контрольного и опытного вариантов (табл. 3). Однако величина нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (NPQ) в 15-дневном возрасте была значительно (в 1,75 раза) выше у опытных растений, а в 27-28-дневном возрасте – у контрольных (рис. 6). Кроме того, величина *фотоиндуцированного градиента протонов* на изолированных тилакоидных мембранах (ΔpH), которая при

нормальной плотности потока квантов была одинакова в контрольном и опытном вариантах, при низком потоке квантов на 27-28 сутки вегетации растений была на 30% выше у растений под СД вследствие уменьшения данного показателя у контрольных растений в ходе вегетации.

При низкой плотности потока квантов активность *циклического и нециклического фосфорилирования* хлоропластов у растений, выращенных под СД, в несколько раз превосходила аналогичные показатели растений, выращенных под НЛ, в возрасте как 15, так и 27-28 суток (рис. 7). Соответственно, отношение $P/2e^-$, рассчитанное с учетом активности НЦФ и транспорта электронов, у опытных растений было выше по сравнению с контролем. Следует отметить, что при уменьшении плотности потока квантов у растений контрольного варианта активность ЦФ и НЦФ уменьшилась, а у растений опытного варианта – парадоксальным образом возросла.

При низком потоке квантов, как и при нормальном, Ca^{2+} -АТФазная активность CF_1 у растений, выращенных под СД, проявлялась уже во время активации фермента нагреванием. Кроме того, при низкой плотности светового потока Ca^{2+} -АТФазная активность при 37°C была на 30-40% выше у опытных растений по сравнению с контролем (табл. 4). Следует отметить, что активность сопрягающего белка при понижении уровня освещения у растений, выращенных под НЛ, уменьшилась, а у растений, выращенных под СД – несколько увеличилась.

В отличие от нормального уровня освещения, при низком потоке квантов *содержание МДА* в листьях зависело от источника освещения: у растений, выращенных под СД, данный показатель был на 30% ниже, чем в контроле, в возрасте 15 суток, и в 2 раза выше - в возрасте 27-28 суток. При данном уровне освещения различия между вариантами по *активности антиоксидантных ферментов* проявились позже, чем при нормальном потоке квантов: активность АСП и СОД в опытном варианте была на 40% ниже, чем в контрольном, только на 27-28 сутки вегетации.

Таким образом, при плотности потока квантов 100 мкмоль/(м² с) исключение из спектра облучения квантов всех длин волн, кроме узких полос в красной и синей области, также привело к изменению синтеза сахаров, роста и морфогенеза растений, но различия в росте были менее выражены, чем при плотности потока квантов 400 мкмоль/(м² с). При низкой плотности потока квантов отмечено резкое удлинение жизненного цикла растений в условиях узкополосного освещения. Обнаружены изменения в характере адаптации мезоструктуры листа к уменьшению плотности потока квантов. Показана парадоксальная реакция фотофосфорилирующей системы хлоропластов на снижение потока квантов при выращивании растений.

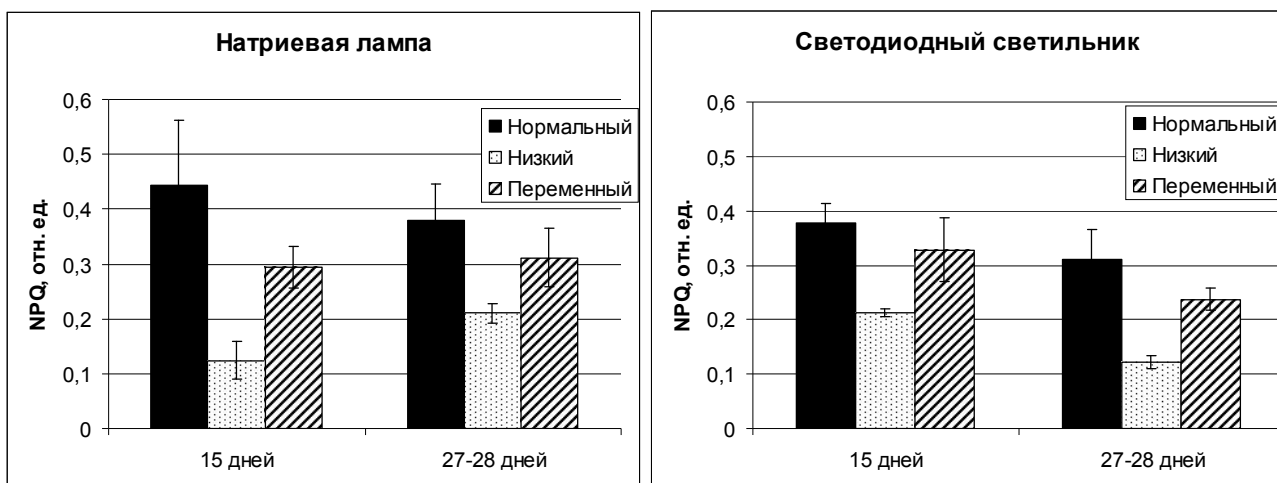


Рис. 6. Нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла (NPQ) в листьях растений китайской капусты, выращенных при освещении НЛ и СД при разном уровне потока квантов (2-й лист 15-дневных растений, 4-й лист 27-28-дневных растений) (обозначения светового потока – как на рис. 2)

3.3. Адаптация растений к увеличению потока квантов в ходе вегетации (переменный уровень освещения).

При переносе 12-дневных растений с низкого уровня освещения ($100 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$) на нормальный ($400 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$), в контрольном варианте в первые трое суток после переноса отмечали резкое увеличение *скорости накопления сырой и сухой массы побега и корня* (рис. 2). В опытном варианте достоверного увеличения скорости роста при увеличении плотности потока квантов не наблюдали. В период между 15-ми и 28-ми сутками вегетации растения, выращиваемые под НЛ при переменном потоке квантов, демонстрировали высокую скорость роста *массы побега и площади листьев*, в результате чего значения этих показателей у 4-недельных растений были ниже всего на 15% и 27%, соответственно, по сравнению с растениями, постоянно растущими при нормальной плотности светового потока. Растения, выращиваемые под СД при переменном потоке квантов, в этот период не отличались от растений, выращиваемых под СД при низком потоке квантов, по сырой массе и площади листьев, хотя различия в накоплении сухой массы были значительными (табл. 1, рис. 2). Следует отметить, что изменение плотности светового потока в процессе вегетации привело к уменьшению *доли корня в массе целого растения* в контрольном варианте, но увеличило данный показатель у опытных растений. После 27-28-го дня вегетации скорость накопления биомассы растений, выращиваемых при переменном потоке квантов, снизилась как в контрольном, так и в опытном вариантах. При этом у растений, выращенных при освещении НЛ, скорость роста была ниже, чем при нормальном потоке квантов, в то время как при освещении СД снижение скорости роста было примерно одинаковым как при нормальном, так и при переменном потоке квантов. Растения контрольного и опытного вариантов, выращенные при переменном потоке квантов, завершили вегетацию на 115-е и 140-е сутки, соответственно. В конце вегетации контрольные и опытные растения не отличались по сухой массе побега, но при освещении НЛ растения зацвели и дали по 1-2 соцветия на растение, а при освещении СД перехода к генеративной стадии развития не наблюдали.

Спустя трое суток после изменения интенсивности освещения *содержание сахаров* в растениях как контрольного, так и опытного варианта возросло примерно в 4 и 2 раза, соответственно, практически достигнув уровня, отмеченного при нормальной плотности потока квантов. При этом в растениях, освещаемых НЛ, запасные и растворимые сахара были представлены примерно в равных пропорциях, а при освещении СД преобладали запасные сахара (72%). В период между 15-ми и 27-28-ми сутками вегетации содержание сахаров в листьях контрольных растений несколько уменьшилась при одновременном увеличении доли растворимых сахаров. В листьях опытных растений в этот период отмечали увеличение содержания сахаров (рис. 3), при этом доля растворимых сахаров возросла до 90%. Следует отметить, что при освещении НЛ 27-28-дневные растения, выращенные при нормальном и переменном потоке квантов, различались по общему содержанию сахаров не более чем на 20 – 25%, а при освещении СД растения, выращенные при переменной плотности потока, примерно в 1,5 раза уступали по этому показателю растениям, выращенным при нормальной плотности потока квантов.

Содержание аскорбиновой кислоты в листьях контрольных растений при увеличении плотности потока квантов резко увеличилось как в первые трое суток, так и в период между 15-ми и 28-ми сутками вегетации. У растений, выращенных под СД, содержание АК в первые трое суток после повышения уровня освещения и в дальнейшем достоверно не менялось.

Таблица 4. Ca^{2+} -АТФазная активность (мкмоль $\Phi_n/(\text{мг белка ч})$) сопрягающего белка CF_1 , изолированного из листьев китайской капусты, выращенной при освещении НЛ и СД при разной плотности потока квантов

Показатели	Светильник	Уровень освещения		
		400 мкмоль/(м ² с)	100 мкмоль/(м ² с)	Переменный
15 дней				
Ca ²⁺ -АТФазная активность при 37°C	НЛ	20,31 ± 1,45	15,72 ± 0,57	17,71 ± 0,93
	СД	20,12 ± 1,54	22,16 ± 1,40	21,51 ± 0,77
Ca ²⁺ -АТФазная активность при 61°C	НЛ	не показана ¹	не показана	не показана
	СД	34,05 ± 1,75	31,25 ± 4,86	28,44 ± 1,24
27-28 дней				
Ca ²⁺ -АТФазная активность при 37°C	НЛ	20,10 ± 1,42	15,24 ± 1,04	17,35 ± 1,26
	СД	19,27 ± 0,88	25,76 ± 1,44	22,52 ± 1,94
Ca ²⁺ -АТФазная активность при 61°C	НЛ	не показана	не воспроизв. ²	не воспроизв.
	СД	27,49 ± 1,25	21,61 ± 1,03	27,80 ± 0,63

¹ не показана ни в одном из проведённых экспериментов

² выявлялась в отдельных экспериментах, но не воспроизводилась

В контрольном варианте изменение плотности потока квантов привело к кратковременному (в первые трое суток) снижению таких показателей, как *время достижения стационарного состояния флуоресценции, скорость базального транспорта электронов и величина фотоиндуцируемого градиента протонов*, но к 28-му дню вегетации значения этих показателей достигли уровня, зафиксированного при нормальной плотности потока. В опытном варианте при увеличении плотности светового потока в период между 15-ми и 28-ми сутками фотоиндуцируемый градиент протонов снизился, а скорость базального транспорта возросла, на 30%, превысив уровень, зафиксированный при нормальном потоке квантов. В контрольном варианте, в отличие от опытного, при увеличении плотности светового потока несколько увеличились скорость транспорта электронов, сопряженного с синтезом АТФ, активность ФС I и скорость реакции Мелера.

При увеличении плотности светового потока *фосфорилирующая активность хлоропластов (ЦФ и НЦФ)* в контрольном варианте возрастала, но к 27-28-му дню вегетации не достигала уровня, отмеченного при нормальной плотности потока квантов (рис. 7). В опытном варианте активность фосфорилирующей системы хлоропластов при аналогичном изменении уровня освещения снижалась, оставаясь выше уровня, отмеченного при нормальной плотности потока квантов (рис. 7). Аналогичные тенденции наблюдались для $P/2e^-$ (рис. 7д, е).

Ca^{2+} -АТФазная активность CF_1 у растений, выращенных под НЛ, при увеличении плотности потока квантов в первые трое суток несколько увеличилась, но не достигла уровня, отмеченного при нормальном потоке квантов (табл. 4). У растений, выращенных под СД, данный показатель мало зависел от плотности светового потока и режима освещения. При этом в 15-дневном и 27-28-дневном возрасте активность сопрягающего белка у опытных растений при переменном потоке квантов была выше, чем у контрольных. Особенности реакции сопрягающих белков на условия активации, выявленные при низком и нормальном потоках квантов, наблюдались и при переменном режиме облучения.

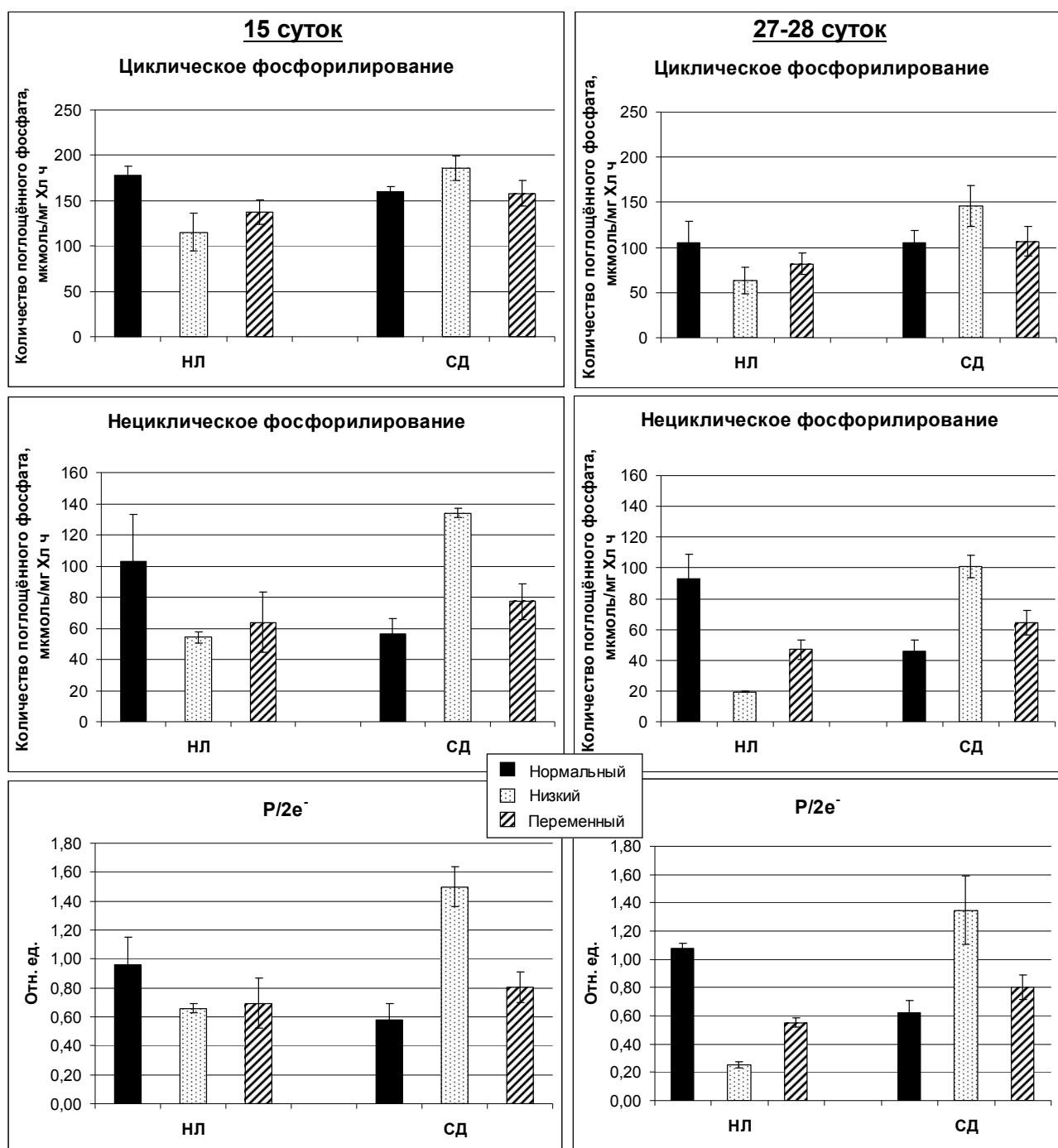


Рис. 7. Активность циклического и нециклического фотофосфорилирования и $P/2e^-$ в хлоропластах китайской капусты, выращенных при освещении НЛ и СД при разном уровне потока квантов (обозначения светового потока – как на рис. 2)

Содержание МДА в листьях растений обоих вариантов значительно возросло при увеличении плотности потока квантов, причем в контрольном варианте этот процесс проходил быстрее. Активность АсП у растений под СД к 15-дневному возрасту увеличилась на 50% по сравнению с растениями, постоянно растущими при низком потоке квантов. У растений под НЛ активность АсП не изменилась в ответ на увеличение потока квантов. Активность СОД в 15-дневном возрасте также была выше у растений под СД по сравнению с контролем. В 27-28-дневном возрасте активность АсП у растений, выросших под СД и НЛ при переменном потоке квантов, близка и выше, чем в других вариантах. Активность СОД в этом возрасте у растений, выращенных под СД, была ниже, чем у растений, выращенных под НЛ.

Таким образом, повышение плотности потока квантов в ходе вегетации выявило значительные изменения в адаптационных возможностях растений, освещаемых узкополосным светом от СД: а) нарушение баланса роста надземной части и корня в пользу последнего; б) замедление и частичное угнетение адаптации ФСА к новым световым условиям; в) уменьшение защитной функции антиоксидантных систем клеток листьев, несмотря на ускорение их активации в первые три дня после повышения уровня освещения.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования показали, что при благоприятном режиме освещения (освещение НЛ, нормальный, около $400 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \text{ с})$, поток квантов на протяжении всей вегетации) четырёхнедельные растения формировали сырую массу порядка 19 – 20 г, на долю корня в которой приходилось около 4%, УППЛ составляла в среднем $43 \text{ мг}/\text{см}^2$, содержание сахаров и аскорбиновой кислоты в листьях было достаточно высоким (19 и $0,4 \text{ мг}/\text{г}$ сырой массы, соответственно), причем запасные и растворимые сахара были представлены в равных долях. Растения завершили онтогенетический цикл за 115 суток, сформировав к концу вегетации мощные побеги и фертильные соцветия. При освещении растений светодиодным светильником при той же плотности потока квантов сырая масса растений уменьшилась на 25 – 30%, доля корня понизилась до 2,5%, содержание сахаров в листьях уменьшилось в 1,7 раза, при этом запасные сахара отсутствовали. Длительность онтогенетического цикла была такой же, что и при освещении НЛ (120 суток), однако сухая масса побегов в конце вегетации была более чем втрое ниже, и не было перехода к генеративной фазе развития. При понижении плотности потока квантов до $100 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \text{ с})$, сырая масса растений уменьшилась до 8 – 10 г как в контрольном (освещение НЛ), так и в опытном (освещение СД) вариантах, однако изменения структуры растений (уменьшение УППЛ и доли корня в массе растения), а также уменьшение содержания сахаров при освещении СД были выражены сильнее. У растений, адаптированных к низкому уровню освещения, повышение плотности потока квантов при освещении НЛ обеспечило кратковременную стимуляцию вегетативного роста, а затем переход к генеративной фазе развития, хотя соцветий было значительно меньше, чем при благоприятном режиме освещения; при освещении СД повышение плотности светового потока не стимулировало рост и практически не отразилось на онтогенезе растений. Интересно, что при низкой плотности светового потока опытные растения, по сравнению с контрольными, в конце онтогенеза сформировали гораздо более мощные побеги за счет значительного удлинения периода вегетации. Таким образом, накопление сухой массы растениями в ходе онтогенеза при освещении НЛ было прямо пропорционально количеству падающей на посев энергии, а при освещении СД – обратно пропорционально. Парадоксальная реакция растений, освещаемых СД, на изменение условий освещения указывает на системные изменения в организме растения. Возможно, они связаны с изменением гормонального баланса и донорно-акцепторных отношений, вызванных необычным спектром испускания светильника и определяющих продукционный процесс в растениях (Tamulaitis et al., 2005; Чиков, 2008).

Для выявления причин, приводящих к угнетению биосинтетической функции у растений, выращенных под светодиодным светильником, мы обратились к исследованию состояния и работы ФСА растений. В литературе имеются данные об изменении анатомической структуры растения, в том числе толщины листа, при освещении красными и синими квантами (Schuerger et al., 1997). Однако в наших исследованиях при нормальном потоке квантов не было обнаружено достоверных различий между контролем и опытом в мезоструктуре листа. При низкой плотности потока квантов у растений, освещаемых НЛ, исчезли различия между клетками верхних и нижних слоёв мезофилла, что является признаком адаптации растений к условиям недостаточного освещения (Цельникер, 1978; Иванова, Пьянков, 2002). У растений, выращенных под СД,

мезоструктура листа не изменилась при понижении плотности потока квантов. При освещении НЛ и нормальном потоке квантов хлоропласты содержали большое количество крахмальных зерен и крупные пластоглобулы, которые исчезали при низкой плотности потока. При освещении СД, напротив, хлоропласты накапливали крахмальные зерна и пластоглобулы при низком потоке квантов, а при нормальной плотности потока эти включения в хлоропластах практически отсутствовали.

Пока сложно сказать, каким образом выявленные различия в структуре хлоропластов связаны с состоянием и функциональной активностью фотосинтетических мембран. Мы не выявили какого-либо влияния узкополосного света от светодиодного светильника на формирование и работу ЭТЦ фотосинтеза (такие параметры, как F_v/F_m , qP , скорость сопряжённого транспорта электронов в изолированных хлоропластах, скорость транспорта электронов в ФС I и реакции Мелера, величина протонного градиента на тилакоидных мембранах, измеренная *in vitro*, достоверно не различались в контроле и опыте). Вместе с тем при нормальной плотности светового потока мы обнаружили двукратное снижение активности НЦФ, а также снижение степени сопряжения транспорта электронов с синтезом АТФ у растений, выращенных под СД, по сравнению с контролем. При низкой плотности потока квантов мы обнаружили резкую активизацию фотофосфорилирующей активности хлоропластов у опытных растений по сравнению с контролем (в 1,5 – 2,0 и в 2,5 – 5,3 раза для ЦФ и НЦФ, соответственно). При этом фотофосфорилирующая активность хлоропластов у опытных растений при низком потоке квантов была существенно выше, чем при нормальном. При освещении растений НЛ наблюдали прямую зависимость фотофосфорилирующей активности от плотности потока квантов, что согласуется с литературными данными (Leong, Anderson, 1984b). Учитывая отсутствие различий в скорости сопряжённого транспорта электронов и величине протонного градиента на тилакоидных мембранах в контроле и опыте, мы предположили, что причиной выявленного феномена является различное состояние и/или потенциальная активность сопрягающих систем.

При нормальном потоке квантов активность сопрягающего белка, изолированного из контрольных и опытных растений, была одинакова. Однако при освещении растений СД данный показатель, как и фотофосфорилирующая активность хлоропластов, иначе реагировал на уменьшение плотности потока: если у растений, выращенных под НЛ, активность сопрягающего белка уменьшилась при уменьшении потока квантов, то у опытных растений – несколько увеличилась. Следует отметить, что при обоих уровнях освещения сопрягающие белки из растений, выращенных под СД, в отличие от контроля, проявляли Ca^{2+} -АТФазную активность уже во время активации фермента при 60°C. Возможно, эти особенности функциональных свойств сопрягающих белков связаны с изменением изоферментного состава и содержания функционально активных SH-групп; такие изменения для сопрягающих белков растений с различной фосфорилирующей активностью были отмечены ранее (Бассарская, Гавриленко, 2005). Таким образом, различия в росте и биосинтезе сахаров, выявленные у растений, выращенных под НЛ и СД, могут быть обусловлены изменением фотофосфорилирующей активности хлоропластов при освещении СД, что, в свою очередь, связано с модификацией структурно-функционального состояния сопрягающих белков хлоропластов.

Поскольку в спектре исследованного светодиодного светильника доля квантов, которые могут эффективно поглощаться ФСА, гораздо выше по сравнению с натриевой лампой, при освещении СД повышается вероятность возникновения АФК в ЭТЦ фотосинтеза и развития окислительного стресса у растений (Canvin et al., 1980; Badger, 1985; Grace, Logan, 1996). Однако при нормальном потоке квантов основные показатели окислительного стресса (скорость реакции Мелера, величина NPQ , содержание МДА) у контрольных и опытных растений были одинаковы. При освещении СД отмечена более низкая активность антиоксидантных ферментов (АсП и СОД) в начале вегетации, но к 28 суткам вегетации контрольные и опытные растения не отличались по этому показателю.

При низком потоке квантов, а также при изменении плотности потока в процессе вегетации, у растений, освещаемых НЛ и СД, были выявлены различия в динамике таких показателей окислительного стресса, как величина нефотохимического тушения флуоресценции NPQ и содержания МДА, что указывает на рассогласование механизмов адаптации растений к изменяющимся условиям освещения. Однако полученные данные не позволяют пока выявить зависимость между исследованными показателями и степенью развития окислительного стресса у растений под светодиодным светильником.

Глава 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что освещение растений китайской капусты узкополосным светом от светодиодного светильника, состоящего из красных и синих квантов в соотношении 7:1, позволяет в целом нормально сформировать мезоструктуру ФСА, но вызывает системные изменения в организме растения, приводящие к нарушениям биосинтеза сахаров, роста, индукции цветения и адаптивных механизмов растений к изменению условий освещения.

В ряде работ показано, что изменение спектрального состава света способно менять гормональный баланс в растениях (Головацкая, 2005; Tamulaitis et al., 2005; Минич и др., 2006). По всей видимости, нарушение индукции цветения у исследованных нами растений связано с изменением гормонального баланса, вызванного особенностями спектра испускания светильника. Возможной причиной угнетения синтеза сахаров является выявленное в ходе исследований изменение фосфорилирующей активности сопрягающих систем хлоропластов, обусловленных, в свою очередь, изменением функциональных свойств сопрягающих белков хлоропластов.

При освещении растений китайской капусты светильником на основе красных и синих светодиодов выявлены нарушения в механизмах адаптации к уменьшению плотности потока квантов и его изменению в процессе вегетации как на структурном (соотношение масс побега и корня, мезоструктура листа), так и на функциональном (антиоксидантные системы растений) уровнях.

Для создания светильников на основе светодиодов, обеспечивающих адекватные условия освещения растений, необходимо дальнейшее исследование физиологических эффектов узкополосного освещения, с учётом энергетической и регуляторной роли спектральных составляющих освещения.

ВЫВОДЫ

1. Выращивание растений китайской капусты (*Brassica chinensis* L.) при освещении источником с узкополосным спектром испускания в красной (650 нм) и синей (470 нм) областях при соотношении красных и синих квантов 7:1 и плотности их потока $400 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \text{ с})$ приводит к значительным изменениям параметров роста и морфогенеза, донорно-акцепторных отношений в растении, по сравнению с наблюдаемыми при выращивании на белом свете, и к ингибированию генеративного развития на стадии его индукции.
2. Фотосинтетический аппарат при облучении растений узкополосным сине-красным спектром с плотностью потока квантов $400 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \text{ с})$ не претерпевает существенных изменений на уровне структурной организации (мезоструктура листа и ультраструктура хлоропластов), содержания пигментов и фотохимической активности хлоропластов. Наибольшие изменения под воздействием узкополосного спектра облучения происходят в сопрягающей системе хлоропластов, что проявляется в снижении активности фотофосфорилирования и степени сопряженности транспорта электронов с синтезом АТФ, а также в изменении функциональных свойств сопрягающих белков хлоропластов.

3. Выращивание растений под источником с узкополосным сине-красным спектром испускания не приводит к индукции формирования активных форм кислорода в хлоропластах и не вызывает окислительный стресс в растении.
4. Использование светильника с узкополосным спектром при выращивании растений отражается на характере изменений мезоструктуры листа, содержании пигментов и фосфорилирующей активности хлоропластов в ответ на снижение плотности потока квантов. При плотности потока квантов 100 мкмоль/(м² с) под светодиодами мезоструктура листа приобретает анатомические признаки «световых» листьев, а также увеличивается доля нерастворимых сахаров в общем количестве сахаров, снижается содержание хлорофиллов и каротиноидов, при неизменном их соотношении. Активность нециклического фотофосфорилирования и степень сопряжения потока электронов в ЭТЦ с синтезом АТФ в хлоропластах значительно возрастают.
5. Увеличение плотности потока квантов со 100 мкмоль/(м² с) до 400 мкмоль/(м² с) в ходе вегетации, при освещении белым светом обеспечивает кратковременную стимуляцию вегетативного роста побегов и возможность перехода к генеративной стадии развития в дальнейшем. Такой же режим при освещении растений узкополосным красно-синим светом не вызывает стимуляции вегетативного роста в системе целого растения, а также индукции цветения. Освещение растений красно-синим узкополосным спектром приводит к снижению скорости адаптации растений к повышению потока квантов в ходе вегетации и делает ее менее выраженной, антиоксидантные системы растений быстрее реагируют на изменение светового режима, но с увеличением возраста растений их защитная функция оказывается менее эффективной.
6. Физиологические эффекты, вызванные длительным освещением растений светильником с узкополосным спектром испускания в синей и красной областях, имеют системный характер. Вследствие этого для конструирования светильников для светокультуры растений на основе светодиодов требуются дополнительные физиологические исследования. При этом необходимо учитывать не только энергетическую, но и регуляторную роль спектральных составляющих освещения, видовые и сортовые особенности реакций растений на спектральный состав освещения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В изданиях, рекомендованных ВАК

1. **Аверчева О.В.**, Беркович Ю.А., Ерохин А.Н., Жигалова Т.В., Погосян С.И., Смолянина С.О. Особенности роста и фотосинтеза растений китайской капусты при выращивании под светодиодными светильниками // Физиология растений. 2009. Т. 56. С. 17-26.
2. **Аверчева О.В.**, Чуб В.В. Подарите им солнце... (Обзор источников освещения для светокультуры растений) // Цветоводство. 2010. №2. С. 46-49.

В прочих изданиях

3. Ерохин А.Н., Беркович Ю.А., Зяблова Н.В., Смолянина С.О., **Аверчева О.В.**, Жигалова Т.В.. Особенности роста и фотосинтеза китайской капусты (*Brassica chinensis* L.) в светокультуре в зависимости от спектрального состава света // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. 2006. Т.1. №1. С. 256-259.
4. **Аверчева О.В.**, Беркович Ю.А., Ерохин А.Н., Жигалова Т.В., Смолянина С.О. Особенности фотосинтетического аппарата и продуктивность китайской капусты (*Brassica chinensis* L.) при варьировании уровня освещенности в светокультуре // VI съезд Общества физиологов растений России «Современная физиология растений: от молекул до экосистем». Материалы докладов. Часть 3. Издательство Коми НЦ УрО РАН. 2007. С. 284-286.
5. **Аверчева О.В.**, Беркович Ю.А., Жигалова Т.В. Светильники на основе светоизлучающих диодов как перспективный источник света для выращивания растений // Тезисы конференции «Перспективы развития инноваций в биологии». Москва. 2007.

6. E. Bassarskaya, **O. Avercheva**, Yu. Berkovich, T. Zhigalova, A. Erokhin, S. Smolyanina. The Photochemical and Photophosphorylation Activity in Chloroplasts from *Brassica chinensis* L. Plants Grown Under Light-Emitting Diodes with Different Lighting Levels // Тезисы V съезда Российского фотобиологического общества, международной конференции «Преобразование энергии света при фотосинтезе». Пушино. 2008. С. 83.
7. **Avercheva, O.V.**, Berkovich, Y.A., Erokhin, A.N., Zhigalova, T.V., Pogosyan, S.I., Smolyania, S.O. Growth and Photosynthetic Apparatus in *Brassica chinensis* L. Plants Grown Under Red and Blue Light-Emitting Diodes // Abstracts of the XVI Congress of the Federation of European Societies of Plant Biology (in Physiologia Plantarum. 2008. V. 133. No. 3.).
8. **Аверчева О.В.**, Беркович Ю.А., Ерохин А.Н., Жигалова Т.В., Смолянина С.О., Леонтьева М.Р. Мезоструктура и оптические свойства листа китайской капусты (*Brassica chinensis* L.) при выращивании под светодиодным светильником // Годичное собрание Общества физиологов растений России, Международная научная конференция «Физико-химические основы структурно-функциональной организации растений». Екатеринбург. 2008. С. 37-39.
9. Смолянина С.О., Беркович Ю.А., Жигалова Т.В., **Аверчева О.В.** Рост и фотосинтетическая активность растений китайской капусты при выращивании её под светодиодным светильником в прототипе космической оранжереи // Материалы Международной конференции «Системы жизнеобеспечения как средство освоения человеком дальнего космоса». Москва. 2008. С. 90-91.
10. **Avercheva O.V.**, Berkovich Yu.A., Erokhin A.N., Zhigalova T.V., Smolyanina S.O. Certain aspects of growth and photosynthetic apparatus in Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.) plants grown under various lighting assemblies designed for a space greenhouse // Abstracts of the 17th IAA Humans in Space symposium. Moscow, Russia, 2009. P. 10-11.
11. **Аверчева О.В.**, Смолянина С.О., Бассарская Е.М., Беркович Ю.А., Ерохин А.Н., Жигалова Т.В. Акклимация растений китайской капусты (*Brassica chinensis* L.) к изменению уровня освещения при выращивании под светодиодными светильниками // Годичное собрание Общества физиологов растений России, Международная научная конференция «Физико-химические механизмы адаптации растений к антропогенному загрязнению в условиях крайнего севера». Апатиты, Мурманская область, 2009. С. 18-20.
12. **Аверчева О.**, Жигалова Т., Таранов Е., Бассарская Е., Смолянина С., Беркович Ю., Ерохин А. Реакция Мелера и антиоксидантные системы у китайской капусты (*Brassica chinensis* L.) при выращивании под светодиодами // Тезисы XIX Пушинских чтений по фотосинтезу и Всероссийской конференции "Фотохимия хлорофилла в модельных и природных системах", посвященных 100-летию со дня рождения В.Б. Евстигнеева. Пушино, 2009. С. 10.
13. **Аверчева О.**, Соловченко А., Птушенко В., Бассарская Е., Беркович Ю., Ерохин А., Смолянина С., Жигалова Т. Пигментный состав листьев китайской капусты (*Brassica chinensis* L.), выращенной под светодиодами при разном уровне освещенности // Тезисы XIX Пушинских чтений по фотосинтезу и Всероссийской конференции "Фотохимия хлорофилла в модельных и природных системах", посвященных 100-летию со дня рождения В.Б. Евстигнеева. Пушино, 2009. С. 9.
14. E. Bassarskaya, V. Ptushenko, **O. Avercheva**, T. Zhigalova, S. Smolyanina, Yu. Berkovich, A. Erokhin. Photophosphorylation and CF₁-ATPase activity in *Brassica chinensis* L. plants grown under light-emitting diodes and different light intensity // Abstracts of the 4th Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology. Krakow, Poland, 2009 (in Acta Biologica Cracoviensia, series Botanica. 2009. V. 51. Suppl. 2. P. 39).

Список сокращений

АК – аскорбиновая кислота
АсП – аскорбатпероксидаза
Кар – каротиноиды
МДА – малоновый диальдегид
НЛ – натриевая лампа высокого давления
НЦФ – нециклическое фотофосфорилирование
СД – светодиодный светильник
СОД – супероксиддисмутаза
ТБК – 2-тиобарбитуровая кислота
УППЛ – удельная поверхностная плотность листа
ФАР – фотосинтетически активная радиации
ФМС – феназинметасульфат
Ф_н - неорганический фосфор
ФС I – фотосистема I
ФС II - фотосистема II
ФСА – фотосинтетический аппарат
ФФ - фотофосфорилирование
Хл *a* – хлорофилл *a*
Хл *b* – хлорофилл *b*
ЦФ – циклическое фотофосфорилирование
ЭТЦ – электрон-транспортная цепь хлоропластов
CF₁ - сопрягающий фактор 1 хлоропластов