

УДК 577.355.4

## **Дорзовентральная асимметрия фотосинтетических параметров листьев *Ficus benjamina* в условиях температурного стресса: эффекты синего и красного светодиодного освещения**

Ядронова Ольга<sup>1</sup>, Лысенко Владимир<sup>1\*</sup>, Чохели Василий<sup>1</sup>, Вардуни Татьяна<sup>1</sup>, Кириченко Евгения<sup>2</sup> Игнатова Мария<sup>1</sup>, Тарик Екатерина<sup>1</sup>; \*[vs958@yandex.ru](mailto:vs958@yandex.ru)

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

<sup>2</sup>Донской государственный технический университет, Ростов-на-Дону, Россия

**DOI:10.18522/2308-9709-2022-41-2**

### *Аннотация*

Листья большинства видов наземных растений имеют выраженную дорзовентральную асимметрию, определяемую анатомическими различиями палисадного и губчатого мезофилла, а также локализацией устьиц. В то же время функциональные различия этих двух видов фотосинтезирующей ткани изучены слабо, вне связи с характерными для них основными анатомическими признаками. Параметры фотосинтеза листьев *Ficus benjamina* исследованы в условиях адаксиального и абаксиального освещения синим и красным актиничным светом, с применением импульсно-модулированной (РАМ) флуориметрии (измерение квантового выхода фотосистемы II,  $F_v/F_m$ ,  $F'_v/F'_m$ ), методов измерения скорости ассимиляции CO<sub>2</sub> ( $P$ ) в проточной камере и двухчастотной Фурье-фотоакустической спектроскопии. С помощью фотоакустических исследований рассчитаны кислородные коэффициенты фотосинтеза как отношение скорости фотолитического выделения кислорода к величине фотохимически сохраняемой энергии ( $\Psi_{O_2}$ ). Показано, что температурный стресс (39°C) оказывал незначительное и недостоверное влияние на величины  $F_v/F_m$  и  $F'_v/F'_m$  вне зависимости от цвета и направления актиничного света (адаксиально или абаксиально). Однако величины  $P$  и  $\Psi_{O_2}$  снижались под воздействием температурного стресса и в результате замены красного света на синий. При этом стресс и синий свет усиливали дорзовентральную

ассиметрию листьев по показателям  $P$  и  $\Psi_{O_2}$ . Предположили, что реакция на синий свет обусловлена проникновением синего света на меньшую глубину листа, где он возбуждает фотосинтез преимущественно в палисадном мезофилле, в большей степени приспособленном для аноксигенного фотосинтеза, тогда как красный свет проникает на большую глубину, в губчатый мезофилл, и поэтому более эффективен для возбуждения оксигенного фотосинтеза. Фактически, реакция листьев растений *F. benjamina* на синий свет и температурный стресс заключалась в увеличении доли аноксигенного фотосинтеза (вероятно за счет циклического транспорта электронов вокруг фотосистемы II), более выраженного в палисадном мезофилле по сравнению с губчатым мезофиллом.

*Ключевые слова:* палисадный мезофилл; губчатый мезофилл; квантовая эффективность; фотосистема II; фотоакустический метод; ассимиляция CO<sub>2</sub>.

### **Dorsoventral asymmetry of photosynthetic parameters of *Ficus benjamina* leaves under temperature stress: effects of blue and red LED lighting**

Yadronova Olga<sup>1</sup>, Vladimir Lysenko<sup>1\*</sup>, Vasilij Chokheli<sup>1</sup>, Tatyana Varduny<sup>1</sup>, Evgeniya Kirichenko<sup>1</sup>, Maria Ignatova<sup>1</sup>, Ekaterina Tarik<sup>1</sup>; \* [vs958@yandex.ru](mailto:vs958@yandex.ru)

<sup>1</sup>Southern Federal University, Academy of Biology and Biotechnology, Rostov-on-Don, Russia

**DOI:10.18522/2308-9709-2022-41-2**

#### *Abstract*

Leaves of most land plant species have a pronounced dorsoventral asymmetry determined by the anatomical differences of the palisade and spongy mesophyll as well as by the localization of the stomata. At the same time, the functional differences of these two types of photosynthetic tissue are poorly studied, out of connection with their basic anatomical features. Photosynthetic parameters of *Ficus benjamina* leaves were investigated under adaxial and abaxial illumination with blue and red actinic light, using pulse-modulated (PAM) fluorimetry (measurements of quantum yield of photosystem II;  $F_v/F_m$ ,  $F'_v/F'_m$ ), dual-frequency Fourier-photoacoustic spectroscopy and evaluations of CO<sub>2</sub> assimilation

rate ( $P$ ) in a flow chamber. Oxygen coefficients of photosynthesis were calculated using photoacoustic studies as the ratio of the rate of photolytic oxygen evolution to the value of photochemically stored energy ( $\Psi_{O_2}$ ). Temperature stress (39°C) has been shown to have a small and insignificant effect on  $F_v/F_m$  and  $F'_v/F'_m$  values regardless of color and direction of actinic light (adaxially or abaxially). However,  $P$  and  $\Psi_{O_2}$  values decreased under temperature stress and as a result of replacing red light with blue light. At the same time, stress and the blue light increased the dorsoventral asymmetry of leaves evaluated by  $P$  and  $\Psi_{O_2}$  values. We hypothesized that such a response to blue light is due to the fact that the blue light is able to penetrate to a lesser depth of the leaf, where it excites photosynthesis mainly in the palisade mesophyll, which is more adapted to the anoxygenic photosynthesis, whereas the red light penetrates to a greater depth, in the spongy mesophyll, and is therefore more effective in exciting the anoxygenic photosynthesis. In fact, response of *F. benjamina* leaves to the blue light and temperature stress was to increase the proportion of anoxygenic photosynthesis (probably occurring due to the cyclic electron transport around photosystem II), that appeared to be more pronounced in the palisade mesophyll compared to the spongy mesophyll.

*Key words:* palisade mesophyll; spongy mesophyll; quantum yield; photosystem II; photoacoustic method; CO<sub>2</sub> assimilation.

## Введение

Дорзовентральная анатомическая и функциональная асимметрия листьев свойственна большей части видов наземных цветковых растений (Oguchi et al., 2018). Обладающие ею листья с верхней (адаксиальной, обычно обращенной к источнику света) стороны часто имеют кутикулярный слой, плохо пропускающий  $\text{CO}_2$  и пары воды. Ниже под кутикулярным слоем находится эпидермальный клеточный монослой и еще ниже один или несколько слоев палисадного (столбчатого) мезофилла, клетки которого плотно прилегают друг к другу, минимизируя, таким образом, апопластный транспорт этих газов. Далее к палисадному мезофиллу примыкает губчатый мезофилл, характеризующийся наличием больших межклетников, выходящих к нижнему эпидермальному слою и встроенным в него устьицам, причем последние, у многих видов, отсутствуют в верхнем эпидермальном слое (Oguchi et al., 2018). Очевидно, что клетки губчатого мезофилла имеют гораздо лучшие возможности (доступ) для фотосинтетической ассимиляции  $\text{CO}_2$  по сравнению с палисадным мезофиллом. При этом палисадный мезофилл адсорбирует существенно большую долю падающего света, превосходящую таковую долю губчатого мезофилла в 5–20 раз (Nagemeier, Leuschner, 2019). Наблюдаемый парадокс указывает на возможное участие аноксигенного фотосинтеза в общей фотосинтетической активности палисадного мезофилла. Истинный или настоящий (true) аноксигенный фотосинтез основан на протекании процессов тилакоидного транспорта электронов, не приводящих к фотолизу воды и восстановлению НАДФ (а, следовательно, и к синтезу углеводов), но, однако, обеспечивающих поддержание протонного градиента и синтез молекул АТФ (фосфорилирование) (Blankenship, 2014). У сосудистых растений и зеленых водорослей к таким процессам относятся циклический транспорт электронов

вокруг фотосистемы I (ЦЭТ-ФС I) (Munekage, Shikanai, 2005) и фотосистемы II (ЦЭТ-ФС II) (Johnson, 2011; Lysenko, Varduny, 2022). Длительное время считалось (Baker, 2008), что их доля и роль в общем фотосинтезе невелика, а основным типом электронтранспортного процесса является нециклический или линейный (ЛЭТ). В настоящее время прямая количественная оценка ЦЭТ-ФС II сильно затруднена, поскольку существующие флуориметрические методы измерений квантового выхода ФС II (амплитудно-модулированная или РАМ-флуориметрия) не могут различить, работает ли ФС II в циклическом или нециклическом режиме (Lysenko et al., 2017; Lysenko, Varduny, 2022). При этом имеются косвенные данные, свидетельствующие о недооценке ЦЭТ-ФС II, доля которого может достигать до 50% и выше (Lysenko, Varduny, 2022). Одной из физиологических функций ЦЭТ-ФС II является защита от фотоингибирования (Chu, Chiu, 2016; Allakhverdiev et al., 1997; Miyake et al., 2003), что, совершенно очевидно имеет функциональный смысл именно в отношении палисадного мезофилла.

В этой связи представляют интерес исследования Soares et al. (2008), где не было обнаружено отличий в скоростях ассимиляции  $\text{CO}_2$  между адаксиальной и абаксиальной сторонами листьев *Paspalum dilatatum*, если применялся невысокий уровень ФАР (50–400 мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$ ). В условиях высокого, фотоингибирующего уровня ФАР (800–1400 мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$ ) ассимиляция  $\text{CO}_2$  оказалась более высокой, когда свет направляли с абаксиальной стороны. В экспериментах Kumagaia et al. (2014), проведенных с растениями риса, адаксиальная и абаксиальная стороны не отличались величинами максимальной квантовой эффективности ФС II ( $F_v/F_m$ ), если они перед измерениями находились в условиях умеренного освещения, тогда как абаксиальная сторона по этому показателю оказалась более чувствительной к стрессу, вызванному фотоингибирующими

условиями. В этой же работе, стресс, вызванный недостатком азота, усугублял дорзовентральную асимметрию листьев, оцениваемую по значениям  $F_v/F_m$ .

Другие попытки разных авторов сравнить фотосинтетические параметры листьев при освещении их с адаксиальной и абаксиальной сторон привели к противоречивым результатам. Так, исследовалась дорзовентральная асимметрия ассимиляции  $\text{CO}_2$  у листьев розы в условиях освещения смешанным синим и красным светом (15 и 85%, соответственно) в диапазоне фотосинтетически активной радиации (ФАР) от 50 до 1500 мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$  (Paradiso, Marcelis, 2012). Во всем исследованном диапазоне скорость ассимиляции  $\text{CO}_2$  оказалась выше при освещении с абаксиальной стороны, чем с адаксиальной. Авторы объяснили это тем, что с абаксиальной стороны содержание нефотосинтезирующих тканей, которые все же поглощают свет, выше, чем в адаксиальной.

Операционная квантовая эффективность ФСП ( $F'_v/F'_m$ ) и удельная скорость ассимиляции  $\text{CO}_2$  адаптированных к солнечному свету листьев дуба *Quercus coccifera* оказались выше для адаксиальной стороны по сравнению с абаксиальной, что связывается авторами исследования (Peguero-Pina et al., 2009) с дорзовентральной асимметрией локализации проводящих пучков, влияющей на распределение света в листьях. В этом же исследовании максимальная квантовая эффективность ФСП ( $F_v/F_m$ ) для адаптированных к темноте растений также оказалась выше в случае освещения с адаксиальной стороны, но только для синего и красного света, тогда как для зеленого света, наоборот, она была выше. Последний факт связан, видимо, с тем, что губчатый мезофилл может быть гораздо лучше адаптирован к использованию зеленого света, поскольку при верхнем освещении в него проникает в основном зеленый свет (Nishio, 2000; Smith et al., 2017). Более высокий

уровень ассимиляции  $\text{CO}_2$  адаксиальной стороной был выявлен также и у флаг-листьев пшеницы, которые, однако, имеют большую поверхностную плотность устьиц именно на адаксиальной стороне (Wall et al., 2021).

Спектральная зависимость дорзовентральной асимметрии фотосинтетической активности листьев представляет собой особый интерес в отношении синего и красного света, поскольку их комбинация чаще всего применяется для освещения растений в закрытом грунте. Соответствующие синему и красному свету спектральные диапазоны (440–470 и 630–670 нм, соответственно) включают в себя максимумы поглощения хлорофиллов *a* и *b* (в составе антенных комплексов ФСІ и ФСІІ), являясь, следовательно, максимально эффективными для фотосинтеза (Blankenship, 2014).

Физиологические эффекты синего и красного света различны и тесно связаны с функциональной дорзовентральной асимметрией. Так, красный свет проникает вглубь (сверху-вниз) листа лучше, чем синий (Nishio, 2000; Smith et al., 2017), поэтому, теоретически, он может существенно лучше использоваться губчатым мезофиллом. Кроме того, кислородный фотосинтез в листьях существенно зависит от способности атмосферного  $\text{CO}_2$  проникать в клетки мезофилла, т.е. от устьичной проводимости (Nobel, 2020). В свою очередь, открывание устьиц зависит как от осмотических эффектов оказываемых продуктами фотосинтеза (в большей степени благодаря красному свету), так и от эффектов, производимых криптохромной системой, сигналом для которой является синий свет (Yu et al., 2010).

Функциональные различия фотосинтетического действия синего и красного света могут проявляться даже без учета дорзовентральной асимметрии листьев. Так, было обнаружено, что отношение квантовых эффективностей ФСІІ для синего и красного актиничного света (направленного в обоих случаях с адаксиальной стороны) в листьях фасоли,

т. е. хроматическая дивергенция квантового выхода ФСII, отличается от единицы (Lysenko et al., 2018).

В целом, немногие известные прямые данные, полученные в области изучения дорзовентральной фотосинтетической асимметрии листьев, а также существующие теоретические представления, свидетельствуют о недостаточном понимании ее функций, в особенности связанных с ее сложной зависимостью от спектрального состава возбуждающего фотосинтез света. В частности, отсутствуют попытки объяснить фотофизиологическую роль анатомических различий между адаксиальной и абаксиальной стороной, определяющие их неодинаковую доступность к  $\text{CO}_2$ .

В настоящей работе в листьях *Ficus benjamina* изучены фотосинтетическая ассимиляция  $\text{CO}_2$ , величины квантового выхода фотосистемы II методом амплитудно-модулированной (РАМ) флуориметрии и кислородные коэффициенты фотосинтеза с применением фотоакустического метода. Все показатели измеряли при освещении листьев синим и красным светом, с абаксиальной и адаксиальной сторон. Полученные данные указывают на более высокий уровень аноксигенного фотосинтеза, возбуждаемого с адаксиальной стороны, т.е. в палисадном мезофилле. Показано, что температурный стресс увеличивал дорзовентральную асимметрию листьев по уровню ассимиляции  $\text{CO}_2$  и величинам кислородных коэффициентов фотосинтеза. Полученные данные вносят вклад в теоретические основы растениеводства закрытого грунта, поскольку в этих условиях (отсутствие ветра, постоянное доминирующее верхнее освещение) преобладание адаксиальной световой экспозиции листьев еще более усиливается.



**Объект исследований.** Растения фикуса *Ficus benjamina* L. cv. Danielle, размером 1–1,5 м выращивали в условиях закрытого грунта, при температуре воздуха 23–25 °С, ФАР 50–70 мкмоль фотонов м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>, используя грунт для фикусов и пальм Велторф (Россия) с относительной влажностью 60%.

**Измерение скорости ассимиляции CO<sub>2</sub>.** Листья фикуса герметично вносили черешками в наполненные водой мини-пробирки объемом 0,25 мл. Далее листья с пробирками помещали в плоскопараллельную стеклянную камеру (100 × 50 × 5 мм), соединенную с пневматической линией, блоком термостатирования потока воздуха, цифровым расходомером воздуха, краном тонкой регулировки, редуктором и компрессором с объемом ресивера в 24 л (8 атм.). Камера также имела встроенный термодатчик, выведенный в ее внутренний объем. Запас воздуха в ресивере позволял выполнять эксперименты без подкачки и обеспечивать, таким образом, постоянное высокое содержание CO<sub>2</sub> во входном потоке воздуха. Выход из камеры соединяли с инфракрасным CO<sub>2</sub>-сенсором IRM300 (SemeaTech, Китай). Для обработки данных использовали программу GasLab (CO<sub>2</sub>-Meter, США). В качестве источника актиничного света использовали 10-Вт светодиоды – красные (λ=635 нм) и синие (λ=465 нм), создающие ФАР 70 мкмоль фотонов м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> на поверхности листьев.

Удельную ассимиляцию CO<sub>2</sub> листьями,  $P$ , рассчитывали как:

$$P [\text{мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}] = 7,44 \times 10^{-3} \times \Delta C_{\text{CO}_2} [\text{ppm}] \times V_{\text{air}} [\text{мл мин}^{-1}] / S_{\text{лист}} [\text{см}^2]$$

где  $\Delta C_{\text{CO}_2}$  – разность концентраций CO<sub>2</sub> выходящих потоков воздуха на свету и в темноте ( $Q_R - Q_P$ , см. рис 1 и 2);  $V_{\text{air}}$  – объемная скорость потока воздуха, проходящего через камеру;  $S_{\text{лист}}$  – площадь листьев в камере;  $7,44 \times 10^{-3}$  – комплексный коэффициент пересчета ppm в мкмоль, мин. в сек и см<sup>2</sup> в м<sup>2</sup>.

## **Определение квантовой эффективности фотосистемы II**

Исследования выполнялись методом импульсной амплитудно-модулированной (РАМ) флуориметрии (Schreiber, 2004) с использованием флуориметра DivingРАМ (Waltz, Германия). Максимальный квантовый выход ФСII ( $F_v/F_m$ ) измеряли в листьях, предварительно адаптированных к темноте в течение 5 мин. Операционную квантовую эффективность фотосистемы II ( $F'_v/F'_m$ ) измеряли в листьях, предварительно адаптированных к синему ( $\lambda=465$  нм) или красному ( $\lambda=635$  нм) актиничному свету ( $70$  мкмоль фотонов  $m^{-2} s^{-1}$ ) в течение 20 мин. Образцы исследовались в той же камере, в которой производились измерения ассимиляции  $CO_2$ , также при скорости потока воздуха  $80$  мл/мин.

## **Определение фотосинтетически активной радиации (ФАР).**

Измерение ФАР выполняли с помощью ФАР-сенсора флуориметра DivingРАМ.

**Фотоакустические исследования.** Фотоакустический метод (ФА) исследований фотосинтеза основан на применении прозрачной ФА-камеры, в которую помещается образец (вырезка листа). Камера соединялась с электрретным микрофоном, усилителем и компьютерной системой анализа сигнала. Подача слабого импульсного (измеряющего) света на образец вызывает в камере генерацию звука с такой же частотой, как и пульсации света, что происходит за счет переменного нагрева поверхности образца (фототермический эффект). Если в образце протекает фотосинтез, часть энергии света расходуется на фотохимические процессы и не может быть использована для генерации звука, поэтому амплитуда звукового сигнала понижена до величины  $PA_0$ . Включение сильного постоянного источника света насыщает фотосинтез, и амплитуда звукового сигнала возрастает до  $PA_{max}$ . Значение  $(PA_{max} - PA_0)/PA_{max}$  характеризует относительную величину

фотохимически сохраняемой энергии (energy storage, ES). Если используют частоты измеряющего света 200–400 Гц, то РА-сигнал является полностью фототермическим и отражает только ES. При частотах 20–40 Гц начинают регистрироваться пульсации выделения кислорода, и сигнал становится преимущественно фотобарическим (Lysenko et al., 2022; Buschmann, 1999; Malkin, 1998; Malkin, 1996).

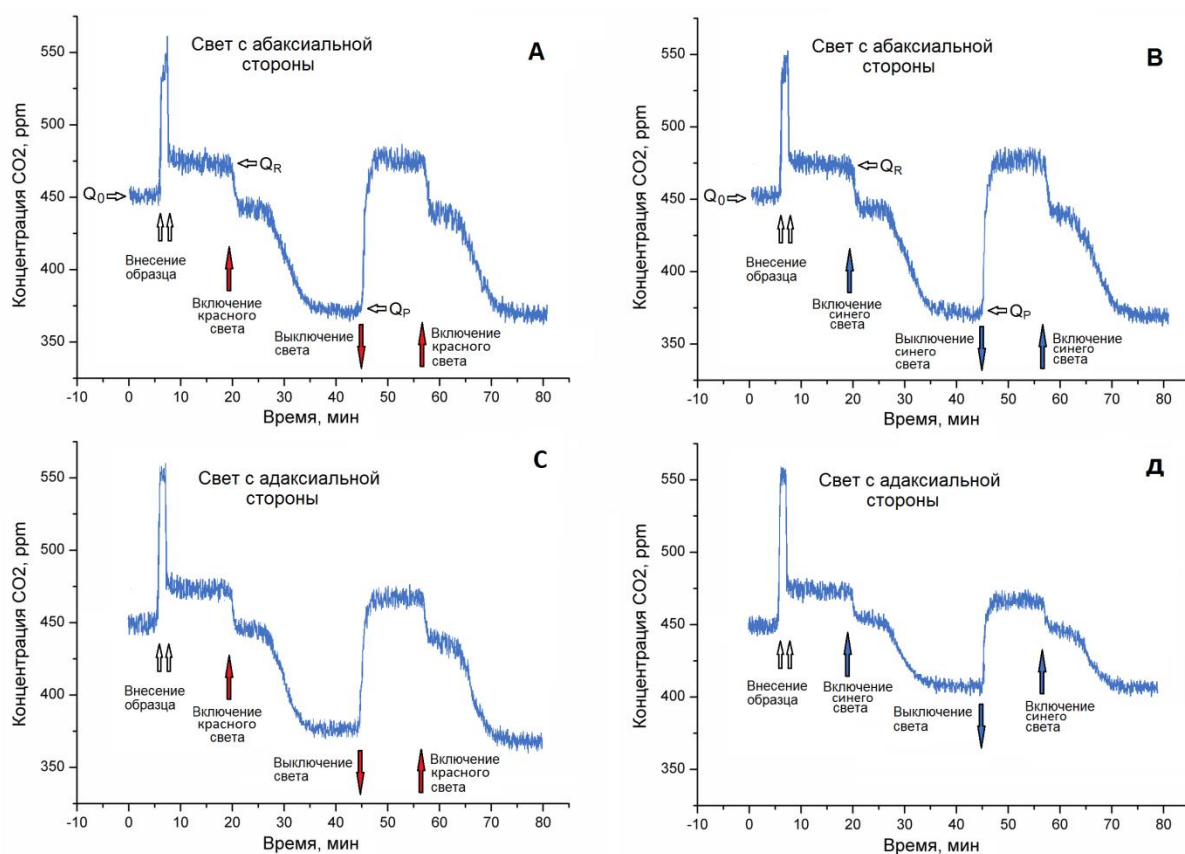
На основе измерений РА-сигнала на частотах 30 и 300 Гц (одновременно), в присутствии насыщающей вспышки и без нее, рассчитывали кислородные коэффициенты фотосинтеза ( $\Psi_{O_2}$ ) согласно ранее разработанной Фурье-модификации фотоакустического метода с использованием фотоакустического спектрометра, созданного в лаборатории экологии и физиологии растений ЮФУ (Lysenko et al., 2022). Величины  $\Psi_{O_2}$  являются параметром, зависящим от отношения скорости фотолитического выделения кислорода к фотохимически сохраняемой энергии и характеризующим сдвиги фотосинтеза в направлении оксигенного или аноксигенного режима (Lysenko et al., 2022). Эти величины не зависят от скорости процессов потребления  $O_2$ , (дыхания, фотодыхания, работы пластидной терминальной оксидазы, перенаправления восстановительного эквивалента в митохондриях) поскольку потребление  $O_2$  в них неппульсирующее вследствие демпфирующего влияния, оказываемого молекулярными пулами участвующих в этих процессах реакций (Buschmann, 1999; Malkin, 1998; Malkin, 1996).

**Статистическая обработка данных.** Определяли величины стандартных отклонений в выборках для уровня значимости  $P < 0,05$ , а также достоверность различий между выборками по Стьюденту с использованием Microsoft Excel 2010.

## Результаты исследований и их обсуждение

Внесение образцов листьев *F. benjamina* в измерительную камеру в темноте приводило к повышению концентрации  $\text{CO}_2$  в выходящем из нее воздухе ( $Q$ ) от исходного уровня  $Q_0$  до  $Q_R$ , т.е. до уровня, соответствующего темновому дыханию (рис. 1 и 2). После включения актиничного света на 18-минуте эксперимента величина  $Q$  ступенчато снижалась до постоянного уровня  $Q_P$ , характеризующего фотосинтетическую ассимиляцию  $\text{CO}_2$ . Повторное выключение и включение актиничного света (на 45-й и 57-й минуте, соответственно) вызывало аналогичные изменения кинетики обмена  $\text{CO}_2$ . Уровни фотосинтетической ассимиляции  $\text{CO}_2$ :  $P = Q_R - Q_0$ , измеренные при нормальной температуре при освещении листьев с адаксиальной стороны красным светом и с абаксиальной стороны красным и синим светом колебались в пределах 1,70–1,74 мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ , достоверно не отличаясь между собой (табл. 1). Величина  $Q_P$ , измеренная для адаксиальной стороны и синего света оказалась по сравнению с ними заметно и достоверно ниже (1,14 мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ). При этом величина темнового дыхания  $A$  (0,42 мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ) составила около 25% от  $P$ .

В условиях температурного стресса, скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$ ,  $P$ , существенно упали по сравнению с нормой во всех вариантах эксперимента (табл. 1), что, по-видимому, вызвано сильным, почти двухкратным ростом темнового дыхания при повышении температуры на  $\Delta t = 14^\circ\text{C}$ . Такой рост приблизительно соответствует известным средним величинам температурного инкремента дыхания у растений  $Q_{10}$  – в 1,8 раза на каждые  $10^\circ\text{C}$  (Sharma et al., 2022), что соответствует инкременту в 2,5 раза/ $14^\circ\text{C}$  в данной работе.



*Рис. 1 – Кинетика обмена CO<sub>2</sub> листьями F. benjamina при освещении с абаксиальной (А, Б) и адаксиальной (С, Д) сторон красным (А, С) и синим (Б, Д) светом при нормальной температуре 25 °С. Типичные кривые. Измерения проводились в проточной камере 100 × 50 × 5 мм со скоростью потока воздуха 80 мл/мин. По оси ординат – концентрация CO<sub>2</sub>, измеряемая на выходе из камеры каждые 3 с. Q<sub>0</sub> – начальная концентрация, регистрируемая до внесения образца в камеру; Q<sub>R</sub> – концентрация CO<sub>2</sub>, регистрируемая после внесения образца в камеру (в темноте). Q<sub>P</sub> – постоянная концентрация CO<sub>2</sub>, достигаемая при действии актиничного света. Всплеск концентрации CO<sub>2</sub> при внесении образца в камеру на 5-й минуте эксперимента вызван попаданием в камеру внешнего воздуха в момент внесения образца. Статистическую обработку данных см. табл. 1.*

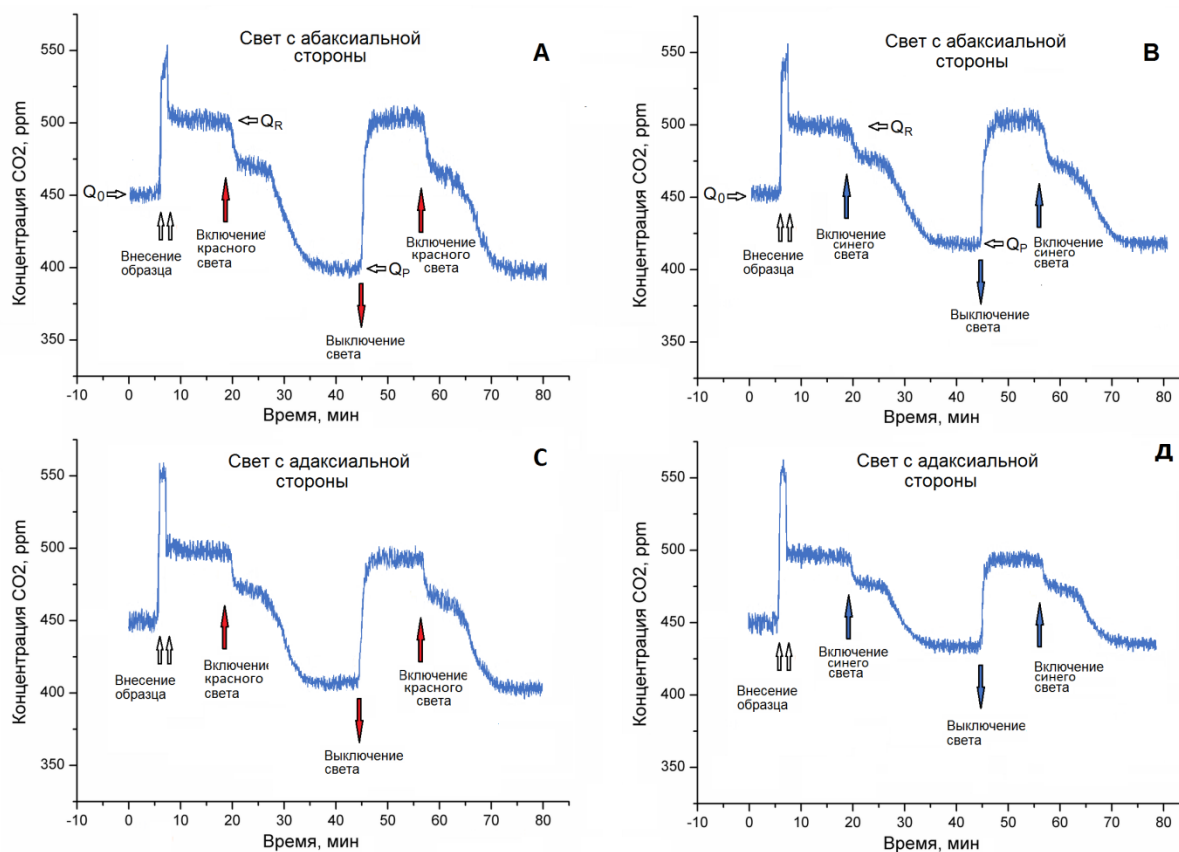


Рис. 2 – Кинетика обмена CO<sub>2</sub> листьями *F. benjamina* при освещении с абаксиальной (А, Б) и адаксиальной (С, Д) сторон красным (А, С) и синим (Б, Д) светом в условиях термического стресса при температуре 39 °С.

Типичные кривые. Измерения в проточной камере 100 × 50 × 5 мм со скоростью потока воздуха 80 мл/мин. По оси ординат – концентрация CO<sub>2</sub>, измеряемая на выходе из камеры каждые 3 с.  $Q_0$  – начальная концентрация, регистрируемая до внесения образца в камеру;  $Q_R$  – концентрация CO<sub>2</sub>, регистрируемая после внесения образца в камеру (в темноте).  $Q_P$  – постоянная концентрация CO<sub>2</sub>, достигаемая при действии актиничного света. Всплеск концентрации CO<sub>2</sub> при внесении образца в камеру на 5-й минуте эксперимента вызван попаданием в камеру внешнего воздуха в момент внесения образца. Статистическую обработку данных см. табл. 1.

В отличие от нормальных условий, при температурном стрессе, если применялся красный актиничный свет, по величине  $P$  были выявлены, хотя и небольшие, но достоверные различия между абаксиальной и адаксиальной

стороной (1,30 и 1,09 мкмоль CO<sub>2</sub> м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>, соответственно). Для синего актиничного света различия между адаксиальной и абаксиальной сторонами при стрессе стали еще выше, чем были в нормальных условиях (приблизительно в 2 и 1,5 раза, соответственно) (табл.1). Таким образом, эффективность использования синего света для ассимиляции CO<sub>2</sub> ниже, чем красного, причем это различие усиливается, если актиничный свет применялся с адаксиальной стороны, и если имело место воздействие температурного стресса. Одновременное присутствие этих факторов приводило к самой низкой ассимиляции CO<sub>2</sub> (0,54 мкмоль CO<sub>2</sub> м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>) (табл. 1).

*Таблица 1 – Параметры фотосинтеза и скорость темнового дыхания листьев F. benjamina при освещении с абаксиальной и адаксиальной сторон красным и синим светом в нормальных температурных условиях (25 °C) и в условиях термического стресса (39 °C)*

Сторона листа	Цвет актиничного света	Скорость фотосинтеза, P*, мкмоль CO <sub>2</sub> м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>	Скорость темнового дыхания, A, мкмоль CO <sub>2</sub> м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>	Максимальный квантовый выход ФСП, F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	Операционная эффективность ФСП, F' <sub>v</sub> /F' <sub>m</sub>	Кислородный коэффициент фотосинтеза, Ψ <sub>02</sub>
нормальные условия, T = 25°C						
адаксиальная	синий	1,14±0,10	0,42±0,2	0,81±0,06	0,34±0,02	3,5±0,3
	красный	1,71±0,16			0,33±0,02	4,9±0,5
абаксиальная	синий	1,70±0,17		0,82±0,06	0,31±0,02	4,8±0,5
	красный	1,74±0,16			0,31±0,02	5,0±0,4
температурный стресс, T = 39°C						
адаксиальная	синий	0,54±0,04	0,81±0,3	0,82±0,08	0,29±0,03	1,8±0,2
	красный	1,16±0,09			0,30±0,03	3,8±0,4
абаксиальная	синий	1,09±0,11		0,80±0,08	0,28±0,03	3,7±0,5
	красный	1,30±0,11			0,29±0,03	3,8±0,4

показаны средние значения параметров как  $X \pm SD$  для  $P = 0,05$ ,  $n = 8$ .  
\*рассчитана без учета темнового дыхания (см. Материалы и методы).

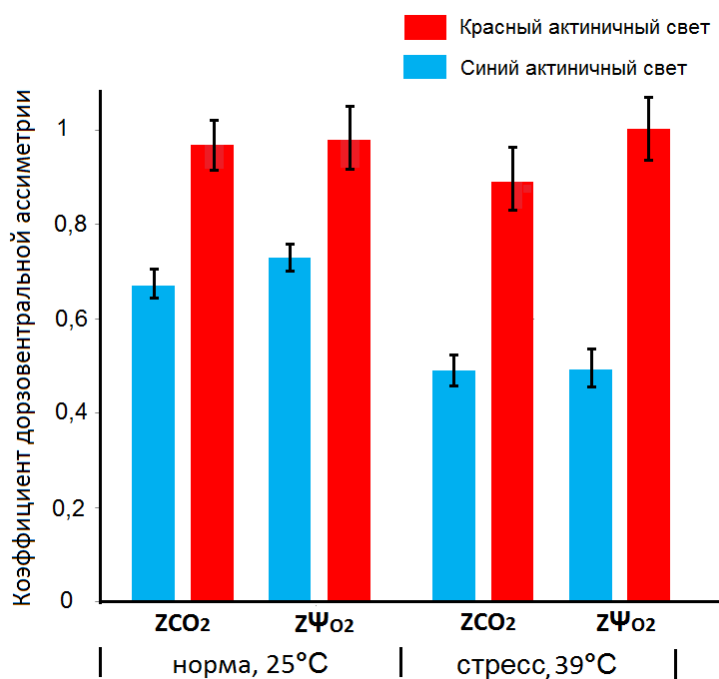
Аналогичная зависимость была обнаружена и для кислородного коэффициента фотосинтеза,  $\Psi_{02}$  (табл. 1), который в нормальных условиях был снижен (до 3,5) только в случае применения синего света с адаксиальной стороны, по сравнению со всеми другими вариантами экспериментов (при нормальной температуре), где он колебался от 4,8 до 5,0. При температурном стрессе не наблюдалось различий величины  $\Psi_{02}$  (колебания в диапазоне 3,7–3,8) между вариантами экспериментов, в которых применялся красный свет с обеих сторон и синий свет с абаксиальной стороны, хотя во всех этих вариантах  $\Psi_{02}$  был снижен (до 3,7–3,8) по сравнению с нормальными температурными условиями (4,8–5,0). В то же время, применение синего света с адаксиальной стороны в условиях стресса приводило к минимальным уровням  $\Psi_{02}$ , достоверно отличающимся от полученных во всех остальных вариантах эксперимента (1,8) (табл. 1). Согласно ранее проведенным исследованиям (Lysenko, Varduny, 2022) значения  $\Psi_{02}$  равные 5 свидетельствуют о низком уровне аноксигенного фотосинтеза, а значения около 1,8 – о его высоком уровне.

Полученные данные хорошо согласуются с тем, что наблюдавшееся в настоящем исследовании снижение уровней ассимиляции  $CO_2$  (см. выше) происходило при почти неменяющихся уровнях максимального квантового выхода ( $F_v/F_m$ ) и операционной эффективности ФСII ( $F'_v/F'_m$ ). Обе эти величины отражают уровень тилакоидного транспорта электронов через ФСII (Schreiber, 2004), который может участвовать как в оксигенном, так и в аноксигенном фотосинтезе. В этой связи, очевидно, что снижение в данной



ситуации ассимиляции  $\text{CO}_2$ , как показателя оксигенного фотосинтеза, при постоянной активности ФСII, означает усиление аноксигенного фотосинтеза (Rochaix, 2011).

Полученные результаты также позволили рассчитать коэффициенты дорзовентральной асимметрии листьев по показателям удельной ассимиляции  $\text{CO}_2$  и кислородным коэффициентам фотосинтеза как соотношения величин  $P$  и  $\Psi_{02}$ , измеренных при освещении листа с адаксиальной стороны, к таковым для абаксиальной стороны ( $Z\text{CO}_2$  и  $Z\Psi_{02}$ , соответственно). Оказалось, что факторами их снижения (увеличения асимметрии в сторону аноксигенного фотосинтеза) являются: 1) применение синего света вместо красного и 2) температурный стресс (рис. 3).



*Рис. 3 – Индексы дорзовентральной асимметрии листьев *F. benjamina* по показателям скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  ( $Z\text{CO}_2$ ) и кислородным коэффициентам фотосинтеза ( $Z\Psi_{02}$ ) в условиях применения красного и синего актиничного света. Индексы рассчитывали как соотношение величин*

параметров ( $P$  и  $\Psi_{02}$ , см. табл.1), измеренные при освещении листа с адаксиальной стороны, к таковым для абаксиальной стороны. Планки погрешностей даны как стандартные отклонения для  $P=0,05$ ,  $n=8$ .

Вероятная интерпретация полученных данных может заключаться в том, что благодаря своему анатомическому строению (см. Введение), палисадный мезофилл (адаксиальная сторона листа) более приспособлен к аноксигенному фотосинтезу, чем губчатый мезофилл. Синий свет проникает на меньшую глубину листа (Smith et al., 2017), возбуждая фотосинтез преимущественно в палисадном мезофилле, тогда как красный свет проникает на большую глубину и поэтому более эффективен для возбуждения оксигенного фотосинтеза.

Увеличение доли аноксигенного фотосинтеза листьями *F. benjamina* при температурном стрессе, обнаруженное в настоящей работе, хорошо согласуется с общими представлениями о механизмах физиологической адаптации растений к стрессу. Так, многие стрессорные факторы приводят к замедлению роста растений, а значит и потребностей в ассимиляции  $\text{CO}_2$ . При этом потребности в АТФ могут, наоборот, усиливаться, и, следовательно, могут быть лучше всего удовлетворены именно за счет аноксигенного фотосинтеза, как за счет ЦЭТ-PSI (Rumeau et al., 2007; Johnson, 2011), так и за счет ЦЭТ-PSII (Ananyev et al., 2017; Chu, Chiu, 2016).

Наиболее вероятно, что наблюдаемый в проведенных экспериментах сдвиг фотосинтеза в сторону более высокой «аноксигенности» определяется ФСII (ЦЭТ-ФСII), поскольку только ФСII (но не ФСI) обуславливает существование ненулевых значений переменной флуоресценции  $F_v$ , а следовательно, и  $F_v/F_m$  (Schreiber, 2004). Так, если бы доля аноксигенного

фотосинтеза увеличивалась бы за счет ЦЭТ-ФСІ, то вместе со снижением уровня ассимиляции  $\text{CO}_2$  снижались бы и величины  $F_v/F_m$  и  $F'_v/F'_m$ , что не наблюдалось. Обнаруженное усиление аноксигенного фотосинтеза также не связано с какими-либо фотозависимыми эффектами увеличения потребления кислорода (дыханием, фотодыханием, активностью пластидной терминальной оксидазы и др.), поскольку, как выше уже отмечалось, фотоакустический метод регистрирует только фотолитически выделяемый кислород и «не видит» перечисленных процессов. Данные, указывающие на повышенные уровни ЦЭТ-ФСІІ в столбчатом мезофилле, хорошо согласуются с известной ролью этого типа электротранспортного процесса в защите от фотоингибирования (Allakhverdiev et al., 1997; Miyake et al., 2003), которое, очевидно, представляет собой угрозу в первую очередь для клеток столбчатого мезофилла.

### **Заключение**

В целом, полученные в настоящей работе данные указывают на следующее.

1. Палисадный мезофилл листьев, имеющих выраженную дорзовентральную асимметрию, лучше приспособлен к аноксигенному фотосинтезу, тогда как губчатый мезофилл – к оксигенному фотосинтезу, что, по крайней мере, частично, объясняет анатомические различия между адаксиальной и абаксиальной сторонами.
2. Наиболее вероятным преобладающим типом аноксигенного фотосинтеза в клетках столбчатого мезофилла является процесс, основанный на циклическом транспорте электронов вокруг фотосистемы ІІ (ЦЭТ-ФСІІ).

3. Реакция листьев растений *F. benjamina* на температурный стресс заключается в увеличении доли аноксигенного фотосинтеза, причем в большей степени в палисадном, чем в губчатом мезофилле. Следовательно, усиливается функциональная дорзовентральная асимметрия листьев.

4. Синий свет, применяемый адаксиально, по сравнению с красным светом, в особенности в условиях температурного стресса, возбуждает фотосинтез с большей долей аноксигенности. По-видимому, это связано с худшим проникновением синего света в губчатый мезофилл.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-14-00338, <https://rscf.ru/project/22-14-00338/> и с использованием оборудования лаборатории экологии и физиологии растений Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета*

## Литература

1. Allakhverdiev S.I., Klimov V.V., Carpentier R. Evidence for the involvement of cyclic electron transport in the protection of photosystem II against photoinhibition: influence of a new phenolic compound // *Biochemistry*, 1997, 36, 4149–4154.
2. Ananyev G., Gates C., Kaplan A., G. Dismukes G. Photosystem II-cyclic electron flow powers exceptional photoprotection and record growth in the microalga *Chlorella ohadii* // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 2017, 1858, 873–883.
3. Baker N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo // *Annual Review of Plant Biology* 2008, 59, 89–113.
4. Blankenship R. E. *Molecular mechanisms of photosynthesis*. 2nd edn. Wiley Blackwell, 2014, pp. 320.
5. Buschmann C. Thermal dissipation related to chlorophyll fluorescence and photosynthesis // *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 1999, 25, 77–88.
6. Chu H-A., Chiu Y-F. The Roles of Cytochrome b559 in Assembly and photoprotection of photosystem II revealed by site-directed mutagenesis studies // *Frontiers in Plant Science*, 2016, 6, e115466.

7. Hagemeyer M., Leuschner C. Leaf and crown optical properties of five early-, mid- and late-successional temperate tree species and their relation to sapling light demand // *Forests* 2019, 10, 925.
8. Johnson G.N. Physiology of PSI cyclic electron transport in higher plants // *Biochimica et Biophysica Acta* 2011, 1807, 384-389
9. Kumagaia E., Hamaoka N., Arakic T., Ueno O. Dorsoventral asymmetry of photosynthesis and photoinhibition in flag leaves of two rice cultivars that differ in nitrogen response and leaf angle // *Physiologia Plantarum*, 2014, 151, 533–543.
10. Li G., Chen T., Feng B., Peng S., Tao L., Fu G. Respiration, rather than photosynthesis, determines rice yield loss under moderate high-temperature conditions // *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12, 678653.
11. Lysenko V., Guo Y., Chugueva O. Cyclic electron transport around photosystem II: mechanisms and methods of study // *American Journal of Plant Physiology*, 2017, 12, 1–9.
12. Lysenko V., Lazár D., Varduny T. A method of a bicolor fast-Fourier pulse-amplitude modulation chlorophyll fluorometry // *Photosynthetica*, 2018, 56: 1447-1452.
13. Lysenko V., Varduny T. High levels of anoxygenic photosynthesis revealed by dual-frequency Fourier photoacoustics in *Ailanthus altissima* leaves. *Functional Plant Biology*, 2022, 49, 573-586.
14. Malkin S. The photoacoustic method in photosynthesis – monitoring and analysis of phenomena which lead to pressure changes following light excitation. In: «Biophysical techniques in photosynthesis» Chapter 12 (Ed. Amesz J., Hoff A. J.), Kluwer Academic Publishers, 1996, pp. 191–205.
15. Malkin S. Attenuation of the Photobaric-Photoacoustic Signal in Leaves by Oxygen-Consuming Processes // *Israel Journal of Chemistry*, 1998, 38, 261–268.
16. Miyake C., Okamura M. Cyclic electron flow within PSII protects PSII from its photoinhibition in thylakoid membranes from spinach chloroplasts // *Plant and Cell Physiology*, 2003, 44, 457–462.
17. Munekage Y., Shikanai T. Cyclic electron transport through photosystem I // *Plant Biotechnology*, 2005, 22, 361–369.

18. Nishio J. N. Why are higher plants green? Evolution of the higher plant photosynthetic pigment complement // *Plant, Cell and Environment*, 2000, 23, 539–48.
19. Nobel P. S. Leaves and Fluxes. Chapter 8. In: *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*, 5-th Edn., (Ed. Nobel P. S.), Academic Press, 2020, pp. 409-488.
20. Oguchi R., Onoda Y, Terashima I., Tholen D. Leaf Anatomy and Function: Including Bioenergy and Related Processes. In: «The Leaf: A Platform for Performing Photosynthesis» (Ed. William W., Adams III., Terashima I.), Springer Cham, 2018, pp. 97-139.
21. Paradiso R., Marcelis L.F.M. The Effect of Irradiating Adaxial or Abaxial Side on Photosynthesis of Rose Leaves // *Acta Horticulturae*, 2012, 956, 157-163.
22. Peguero-Pina J. J., Gil-Pelegrín E., Morale F. Photosystem II efficiency of the palisade and spongy mesophyll in *Quercus coccifera* using adaxial/abaxial illumination and excitation light sources with wavelengths varying in penetration into the leaf tissue // *Photosynthesis Research*, 2009, 99, 49–61.
23. Rumeau D., Peltier G., Cournac L. Chlororespiration and cyclic electron flow around PSI during photosynthesis and plant stress response // *Plant, Cell and Environment*, 2007, 30, 1041–51.
24. Rochaix J-D. Regulation of photosynthetic electron transport // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 2011, 1807, 375–383.
25. Schreiber U. Pulse-amplitude (PAM) fluorometry and saturation pulse method. In: «Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis» (Ed. Papageorgiou G.C., Govindjee G.), Kluwer, Dordrecht, 2004, pp. 279–319.
26. Sharma N., Thakur M., Suryakumar P., Mukherjee P., Raza A., Prakash C. S., Anand A. ‘Breathing out’ under heat stress — respiratory control of crop yield under high temperature // *Agronomy*, 2022, 12, 806.
27. Smith H. L., McAusland L., Murchie E. H. Don’t ignore the green light: exploring diverse roles in plant processes // *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68, 2099–2110.
28. Soares A. S., Driscoll S. P, Olmos E., Harbinson J., Arrabaça M. C., Foyer C. H. Adaxial/abaxial specification in the regulation of photosynthesis and stomatal opening with respect to light orientation and growth with CO<sub>2</sub>

- enrichment in the C<sub>4</sub> species *Paspalum dilatatum* // *New Phytologist*, 2008, 177, 186–198.
29. Wall S., Vialet-Chabrand S., Davey P., Van Rie J., Galle A., Cockram J., Lawson T. Stomata on the abaxial and adaxial leaf surfaces contribute differently to leaf gas exchange and photosynthesis in wheat // *New Phytologist*, 2021, 235, 1743–1756.
30. Yu X., Liu H., Klejnot J., Lina C. The cryptochrome blue light receptors // *Arabidopsis Book*, 2010, 8, e0135.