

УДК 630.425+630.181.21

НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ХВОИ СОСНЫ НА ДЕЙСТВИЕ АЭРОПРОМЫШЛЕННЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ И ЗАТЕНЕНИЯ

© 2001 г. В. В. Фомин, С. А. Шавнин, Н. В. Марина, Г. Н. Новоселова

Кафедра биофизики Уральской государственной лесотехнической академии, Екатеринбург

Поступила в редакцию 23.05.2000 г.

Изучен пигментный состав и световые кривые параметров быстрой флуоресценции хлорофилла хвои из разных частей кроны деревьев сосны, произрастающих в естественных условиях на разных расстояниях от источника аэротехногенного загрязнения (медеплавильный комбинат). Затенение, также как и загрязнение, привело к снижению светового порога состояния, соответствующего второй фазе световой кривой нефотохимического тушения хлорофилла, увеличению безизлучательной диссипации поглощенной световой энергии и уменьшению скорости транспорта электронов между ФС II и ФС I. Установленные закономерности свидетельствуют о наличии неспецифических, сходных по своим механизмам реакций хлоропластов на действие загрязнений и затенения, выражающихся в снижении эффективности использования световой энергии.

Pinus sylvestris – флуоресценция хлорофилла – интенсивность света – затенение – аэропромышленные загрязнения

Адаптационная реакция фотосинтетического аппарата (ФСА) на изменение интенсивности освещения характеризуется перестройками на структурном и биохимическом уровнях. Световые кривые скорости ассимиляции CO₂ листьев растений, произрастающих в хорошо освещенных местах, достигают насыщения при большей интенсивности света, чем световые кривые затененных листьев [1, с. 161; 2; 3, с. 28]. При этом теневые листья содержат меньше хлорофилла на единицу поверхности листа [1, с. 161; 4], а их хлоропласты имеют меньший объем стромы, но большее количество гран. В целом количество компонентов ФСА, определяющих фотосинтетическую способность единицы поверхности у световых листьев выше по сравнению с теневыми [3, с. 33].

SO₂ оказывает ингибирующее действие на фотосинтетическую активность хлоропластов, которое выражается в прямом влиянии серосодержащих ионов на компоненты электронно-транс-

портной цепи, дезорганизации мембран пластид, нарушении функционирования водоокисляющего комплекса, изменении рН стромы, а также ингибировании активности ферментов цикла Кальвина [5, с. 32–34; 6]. Нарушения в ультраструктуре мембран хлоропластов сопровождаются изменениями в пигментной системе, которые выражаются в снижении содержания хлорофиллов в листьях и хвое [7, 8].

Отдельные показатели флуоресценции хлорофилла обладают достаточно высокой чувствительностью к действию атмосферных загрязнений [4, 8]. Изучение индукционных переходов у листьев шпината позволило установить, что действие SO₂ вызывает замедление процесса окисления первичного акцептора и подавление активности цикла Кальвина [6], а также снижение скорости электронного транспорта в хлоропластах [9].

Исследование влияния O₃ на флуоресцентные характеристики ФСА листьев березы показало, что одним из следствий этого воздействия является снижение светового порога второй фазы световой кривой нефотохимического тушения флуоресценции [10]. В связи с этим возникает вопрос о наличии данного эффекта у других видов древесных растений, а также о его проявлении при длительном воздействии комплекса аэропромышленных поллютантов в естественных условиях. Физиологические и анатомические отличия ФСА световых и затененных листьев позволяют ожидать соответствующего изменения энергетичес-

Сокращения: ПП – пробная площадь, ФСА – фотосинтетический аппарат; Y – эффективность квантового выхода ФС II; qN – коэффициент нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла; ETR – скорость фотосинтетического электронного транспорта.

Адрес для корреспонденции: Фомин Валерий Владимирович, 620100 Екатеринбург, Сибирский тракт, 37, Уральская государственная лесотехническая академия, кафедра биофизики. Факс: (3432) 24-03-37; электронная почта: biophys@usfea.ru

кого баланса хлоропластов в зависимости от световых условий среды, в которых происходило формирование фотосинтезирующих органов. В частности, насыщение ассимиляции CO_2 у теневых листьев при более низком уровне ФАР [3, с. 27] дает основание предполагать у них возможность перехода хлоропластов в более энергизованное состояние при меньших освещенностях. В этом случае эффект влияния загрязнений и различных световых условий среды могут частично совпадать или перекрываться.

Анализ приведенных данных позволяет предположить, что вызванные действием загрязнений изменения энергетического баланса хлоропластов аналогичны адаптационным реакциям на затенение, так как в обоих случаях ответ клетки листа на стрессовое воздействие должен затрагивать эффективность использования световой энергии. С целью решения этих вопросов и проверки высказанных предположений в настоящей работе изучали пигментный состав и световые кривые параметров быстрой флуоресценции хлорофилла *a* хвои сосны обыкновенной, сформировавшейся в условиях с разными уровнями освещенности и загрязнения атмосферы промышленными выбросами.

МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования использовали хвою деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающих на разном расстоянии от Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗ, г. Ревда). Преобладающим компонентом в структуре выбросов данного предприятия является SO_2 . Пробные площади (ПП) – участки лесных насаждений, на которых производили сбор образцов, расположены на расстояниях 4.1 км (ПП7, сильный уровень загрязнения) и 13.2 км (ПП33, средний уровень загрязнения) в направлении доминирующих ветров, а контрольный участок (ПП20) – на удалении 18.9 км в противоположном направлении [11]. Зоны с различной степенью угнетения насаждений были выделены на основании измерений комплекса ростовых характеристик деревьев [11]. ПП являются сходными по лесорастительным условиям, составу древесных пород, возрасту (около 20 лет) и густоте древостоев. Исследования проводили в конце сентября, что соответствует периоду перехода сосны в состояние покоя на Среднем Урале [12].

Для лабораторного изучения срезали побеги предыдущего года закладки из верхней, средней и нижней частей крон деревьев южной экспозиции. При помощи флуориметра РАМ-2000 (Walz, Германия) измеряли параметры быстрой флуоресценции хлорофилла *a* [13] неотделенной от побегов хвои. Четыре хвоинки каждого образца вставляли в листодержатель Leaf-Clip-Holder 2030-B (Walz,

Германия), оборудованный квантовым сенсором для измерения ФАР. Площадь исследуемого участка составляла 0.5 см². Интенсивность измерительного света не превышала 1 мкЕ/(м² с). Активный свет ступенчато увеличивали от 0 до 180 мкЕ/(м² с). Первое измерение флуоресцентных параметров проводили после получасового периода темновой адаптации, а последующие – через 5 мин после изменения уровня освещения. Квантовый выход (*Y*), коэффициент нефотохимического тушения флуоресценции (*qN*) и скорость фотосинтетического электронного транспорта (ETR) рассчитывали по формулам, приведенным в работах [9, 14].

Определение содержания хлорофиллов *a* и *b* в хвое проводили путем экстрагирования 80%-ным раствором ацетона с последующим измерением оптической плотности экстракта на спектрофотометре СФ-46 (ЛОМО, Россия) на длинах волн 649 и 665 нм. Концентрации пигментов рассчитывали по уравнениям Вернона [15, с. 434], а их количество в хвое представлено на сухой вес.

При определении валового содержания серы в хвое использовали методику, описанную в работе Маслова [16]. Сухой растительный материал сжигали в смеси концентрированной хлорной и азотной кислот. Избыток HNO_3 , мешающий определению, удаляли восстановлением, а серу осаждали в присутствии детергента “твин 80” в виде сульфата бария. Концентрацию последнего определяли турбидиметрически при помощи фотоэлектродиметра КФК-2 МП (ЗОМЗ, Россия).

Измерение флуоресцентных характеристик проводили в трех, а определение содержания пигментов в хвое – в трех-шести биологических повторностях по каждому ярусу кроны. Определение содержания серы в растительном материале производили в трех аналитических повторностях для средней пробы на каждый ярус. На рисунках приведены усредненные световые кривые параметров быстрой флуоресценции хлорофилла *a* хвои. Бары на графиках соответствуют стандартной ошибке среднего. При статистической обработке были использованы результаты всех измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице приведены значения характеристик фотосинтетического аппарата хвои. Общее содержание серы на ПП 7 было достоверно выше ($P \geq 0.95$), чем на ПП 33 и на ПП 20 в 1.5 и 2 раза, соответственно, что является прямым подтверждением увеличения уровня техногенной нагрузки с приближением к СУМЗу. Содержание зеленых пигментов в хвое деревьев всех ярусов кроны снижалось по мере приближения к заводу, величина отношения хлорофиллов *a* и *b* при этом возраста-

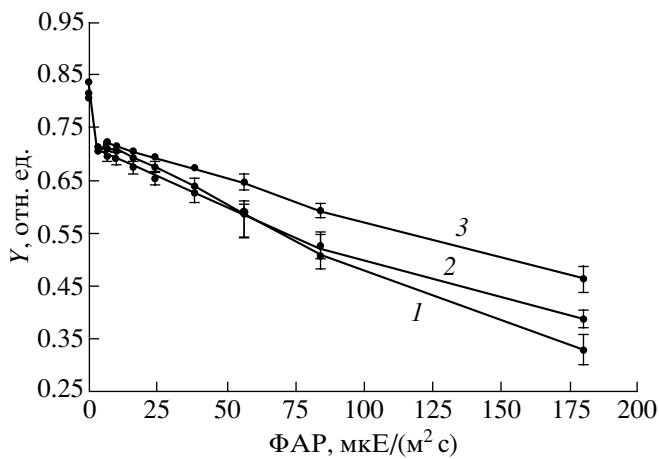


Рис. 1. Зависимость квантового выхода ФС II хвои деревьев сосны, произрастающих в условиях с разной степенью загрязнения атмосферы промышленными выбросами от ФАР.

1, 2, 3 – Y хвои из зон с высоким, средним и фоновым уровнями загрязнения, соответственно. На рисунке приведены средние значения ($n = 3$). Бары на графиках соответствуют стандартной ошибке среднего. При величине стандартной ошибки менее 0.01 бары не показаны.

ла. Различия между значениями всех вышеописанных параметров на ПП 7 и ПП 20 достоверны на уровне значимости 0.05. В нижних частях крон деревьев на ПП 33 и ПП 20 отмечено увеличение содержания пигментов в хвое и снижение отношения хлорофиллов a/b . Величины вариабельной флуоресценции у хвои этих ярусов на ПП 33 и ПП 20 были достоверно ниже чем на ПП 7.

При слабой интенсивности света (менее 10–15 мкЕ/(м² с)) отличия между Y на всех ПП были незначительными (рис. 1). При ФАР выше 15 мкЕ/(м² с) выявлено существенное снижение

этого параметра у хвои деревьев из зон с сильным и средним уровнями загрязнения атмосферы по сравнению с контролем.

В интервале 0–40 мкЕ/(м² с) световые кривые ETR хвои всех ПП имели линейные участки и практически совпадали (рис. 2). При увеличении плотности светового потока выше 40 мкЕ/(м² с) происходило отклонение зависимости от линейной в сторону уменьшения угла наклона графика. Возрастание уровня загрязнения вызывало снижение ETR, в более затененных частях кроны также наблюдали уменьшение этого параметра.

Световые кривые qN имели двухфазный характер (рис. 3). При увеличении ФАР от темнового уровня смене фаз соответствовали точки перегибов графиков. Координаты этих точек на световых кривых qN хвои, взятой с ПП7, ПП 33 и ПП 20 равны примерно 15, 25 и 45 мкЕ/(м² с), соответственно. Кроме того, при увеличении уровня загрязнения отмечено возрастание qN на участках кривых, соответствующих второй фазе.

Результаты исследований хвои из разных частей кроны показали, что адаптация ФСА к более низкой освещенности приводит к увеличению qN в интервале значений ФАР выше 25–50 мкЕ/(м² с) (рис. 3). При этом перегибы графиков зависимости qN от ФАР у хвои, взятой из верхней, средней и нижней частей кроны наблюдали при 60, 25 и около 10 мкЕ/(м² с), соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований пигментного состава ФСА хвои из различных ярусов кроны (таблица) в целом соответствуют известным данным о повышении содержания пигментов при затенении деревьев хвойных пород [8, 17, 18], однако до-

Значения вариабельной флуоресценции хлорофилла, содержание пигментов, величина их отношения и валовое содержание серы в хвое сосны из разных частей крон деревьев в зонах с различными уровнями загрязнения атмосферы

№	Ярус кроны	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г сухого веса	Хлорофилл <i>b</i> , мг/г сухого веса	Хлорофилл <i>a</i> /хлорофилл <i>b</i> , отн. ед.	Fv/Fm, отн. ед.	Сера, %
7	верх.	1.16 ± 0.18	0.53 ± 0.08	2.21 ± 0.16	0.84 ± 0.01	0.21 ± 0.04
	сред.	1.25 ± 0.20	0.57 ± 0.08	2.21 ± 0.20	0.84 ± 0.02	
	ниж.	1.39 ± 0.17	0.63 ± 0.11	2.23 ± 0.12	0.82 ± 0.07	
33	верх.	1.67 ± 0.02	0.88 ± 0.02	1.89 ± 0.02	0.80 ± 0.01	0.14 ± 0.03
	сред.	1.88 ± 0.08	0.01 ± 0.04	1.87 ± 0.05	0.81 ± 0.08	
	ниж.	2.18 ± 0.06	1.33 ± 0.04	1.64 ± 0.02	0.77 ± 0.03	
20	верх.	2.07 ± 0.07	0.17 ± 0.03	1.77 ± 0.10	0.81 ± 0.02	0.10 ± 0.01
	сред.	2.45 ± 0.11	1.39 ± 0.09	1.77 ± 0.14	0.81 ± 0.02	
	ниж.	2.45 ± 0.03	1.46 ± 0.13	1.71 ± 0.10	0.79 ± 0.02	

Примечание. Fm – максимальный уровень флуоресценции хлорофилла; Fv = Fm – Fo, где Fo – уровень флуоресценции при возбуждении только модулированным светом (после темновой адаптации хвои).

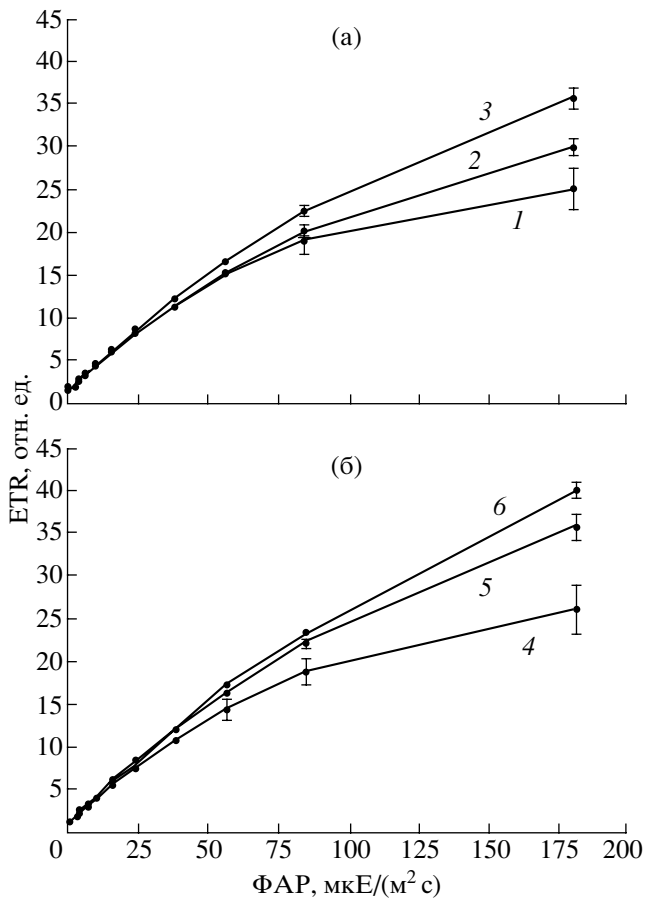


Рис. 2. Световые зависимости скорости нециклического электронного транспорта хвои сосны, произрастающей в условиях с различной степенью загрязнения (а) и с разным уровнем освещенности (б). 1, 2, 3 – ETR хвои из зон с высоким, средним и фоновым уровнями загрязнения, соответственно; 4, 5, 6 – ETR хвои из нижнего, среднего и верхнего ярусов кроны дерева ПП 20 (контроль). На рисунке приведены средние значения ($n = 3$). Бары на графиках соответствуют стандартной ошибке среднего. При величине стандартной ошибки менее 0.5 бары не показаны.

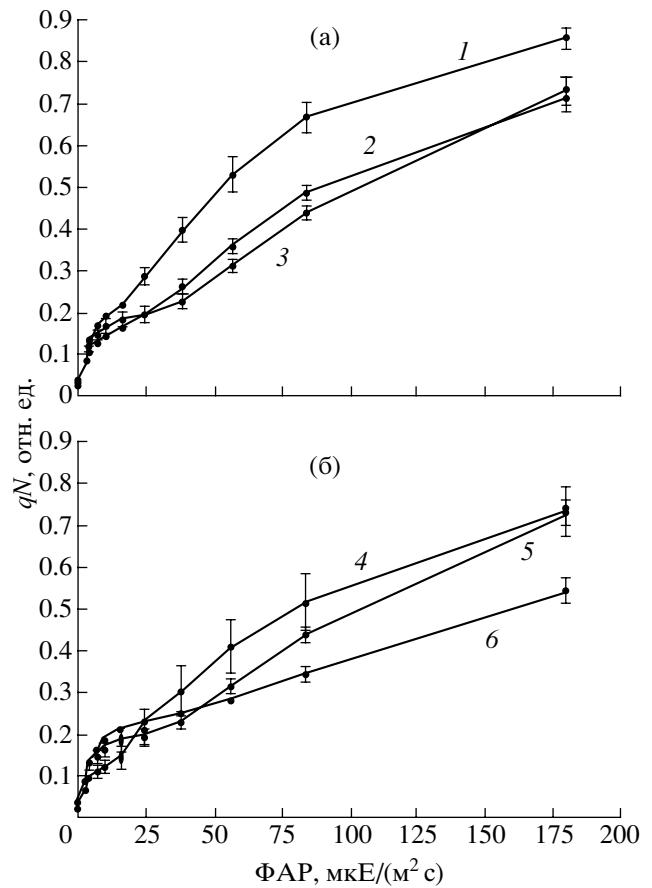


Рис. 3. Световые зависимости коэффициента нефотохимического тушения хвои сосны, произрастающей в условиях с различной степенью загрязнения (а) и с разными уровнями освещенности (б). 1, 2, 3 – qN хвои из зон с высоким, средним и фоновым уровнями загрязнения; 4, 5, 6 – qN хвои из нижнего, среднего и верхнего ярусов кроны дерева ПП 20 (контроль). На рисунке приведены средние значения ($n = 3$). Бары на графиках соответствуют стандартной ошибке среднего. При величине стандартной ошибки менее 0.01 бары не показаны.

стоверного уменьшения отношения хлорофилл *a*/хлорофилл *b*, описанного в этих работах у хвои, сформировавшейся при низкой освещенности, не наблюдается.

Увеличение содержания хлорофиллов, связанное с затенением нижних ярусов, сопровождается существенными изменениями первичных процессов преобразования световой энергии, которые приводят к уменьшению ETR (рис. 2). У хвои нижнего яруса наблюдали существенное снижение ETR при ФАР выше 80 $\mu\text{E}/(\text{m}^2 \text{c})$, тогда как в среднем и верхнем ярусах световое насыщение, по-видимому, происходит при освещенности выше 200 $\mu\text{E}/(\text{m}^2 \text{c})$. Последние данные согласуются с результатами изучения хвои ели Дугласа [9]. Описанные эффекты сопровождаются существенными трансформациями зависимостей qN от ФАР. Они заключаются в уменьшении qN на уча-

стке первой фазы и снижении светового порога второй фазы у теневой хвои (рис. 3).

Ранее было высказано предположение, что первая фаза, наблюдаемая при низких ФАР, связана с переходом хлоропластов из состояния 1 в состояние 2 [10], приводящем к уменьшению эффективности притока энергии на ФСЦ. Принимая во внимание, что отличия Y и ETR у хвои разных ярусов на начальных участках световых кривых незначительны, описанное выше уменьшение qN можно объяснить увеличением диссипации световой энергии в светособирающих комплексах [19]. Ввиду совпадения особенностей Y и ETR у хвои, выросшей в условиях затенения и при загрязнении, снижение на начальных участках графиков (рис. 3) qN хвои с ПП 7 и ПП 33 по сравнению с ПП 20 также можно объяснить этим механизмом.

Увеличение qN на участке кривой, соответствующем второй фазе, вызвано возрастанием градиента электрохимического потенциала H^+ в мембранах тилакоидов [20, 21] и включением виолоксантинового цикла [21, 22]. В связи с этим, повышение qN при затенении и действии загрязнений по сравнению с контролем на соответствующих участках световых кривых (рис. 3) указывает на усиление этих процессов под влиянием данных факторов среды.

Результаты экспериментов, проведенных с хвоей сосны, произрастающей в условиях сильного загрязнения, хорошо согласуются с данными, полученными при длительной фумигации саженцев березы озоном [10] и саженцев ели Дугласа сернистым ангидридом [9]. Эти авторы наблюдали снижение скорости фиксации CO_2 , величин Y и ETR листьев и хвои под влиянием загрязняющих веществ.

Низкий порог светового насыщения ETR (рис. 2), а также высокие значения qN (рис. 3) правее точки перегиба как у затененной, так и подверженной действию загрязнений хвои, свидетельствуют о том, что влияние обоих факторов выражается в снижении скорости утилизации энергии хлоропластами. У темновой хвои это связано, вероятно, с меньшим объемом стромы и, следовательно, меньшим количеством локализованных в ней ферментов цикла Кальвина [3, с. 33]. Снижение активности углеродного цикла при воздействии загрязняющих веществ неоднократно описано [23, 24].

Таким образом, основной эффект действия загрязнения и затенения заключается в снижении светового порога перехода ФСА хвои сосны в соответствующее второй фазе световой кривой qN состояние, уменьшении безызлучательной диссипации поглощенной световой энергии при низких значениях ФАР и ее увеличении при высоких плотностях светового потока, а также в снижении скорости электронного транспорта между ФСII и ФСI. Перечисленные элементы сходства изменений ФСА на функциональном уровне сопровождаются существенными отличиями в трансформации пигментного состава хвои – увеличении содержания хлорофиллов в условиях затенения и его снижение при действии загрязнений.

Полученные результаты позволяют заключить, что снижение эффективности преобразования световой энергии, вызванное действием загрязнения и затенения является общим механизмом энергообмена в хлоропластах. При этом у затененной хвои снижение эффективности преобразования световой энергии в общем энергетическом балансе преобладает над увеличением эффективности ее захвата за счет увеличения общего содержания хлорофиллов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Крамер П.Д., Козловский Т.Т. Физиология древесных растений. М.: Лесная промышленность, 1983. 464 с.
2. Берри Д.А., Даунтон У.Д.С. Зависимость фотосинтеза от факторов окружающей среды // Фотосинтез. Т. 2 / Под ред. Говинджи. М.: Мир, 1987. С. 273–364.
3. Lambers H., Stuart Chapin III F., Pons T.L. Plant Physiological Ecology. Berlin: Springer, 1998. 540 с.
4. Lichtenthaler H.K., Rinderle U. Chlorophyll Fluorescence Signatures as Vitality Indicator in Forest Decline Research // Application of Chlorophyll Fluorescence / Ed. Lichtenthaler H.K. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1988. P. 143–149.
5. Барахтенова Л.А., Николаевский В.С. Влияние сернистого газа на фотосинтез растений. Новосибирск: Наука, 1988. 86 с.
6. Schmidt W., Neubauer C., Kolbovski J., Shreiber U., Urbach W. Comparison of Effects of Air Pollutants (SO_2 , O_3 , NO_2) on Intact Leaves by Measurements of Chlorophyll Fluorescence and P_{700} Absorbance Changes // Photosynth. Res. 1990. V. 25. P. 241–248.
7. Кривошеева А.А., Шавнин С.А., Калинин В.А., Венедиктов П.С. Влияние промышленных загрязнений на сезонные изменения содержания хлорофилла в хвое сосны обыкновенной // Физиология растений. 1991. Т. 38. С. 163–168.
8. Кирпичникова Т.В., Шавнин С.А., Кривошеева В.А. Состояние фотосинтетического аппарата хвои сосны и ели в зонах промышленного загрязнения при различных микроклиматических условиях // Физиология растений. 1995. Т. 42. С. 107–113.
9. Snell J.F.H., van Kooten O. van Hove L.W.A. Assessment of Stress in Plant by Analysis of Photosynthetic Performance // Trends Anal. Chem. 1991. V. 10. P. 26–30.
10. Shavnin S., Maurer S., Matyssek R., Bilger W., Scheidegger C. The Impact of Ozone Fumigation and Fertilization on Chlorophyll Fluorescence of Birch Leaves (*Betula pendula*) // Trees. 1999. V. 14. P. 10–16.
11. Shavnin S.A., Fomin V.V., Marina N.V. Application of the Generalized State Index Determination to Ecological Monitoring of Forest in Polluted Areas // Measurements and Modelling in Environmental Pollution / Eds San Jose R. et al. Southampton, UK and Boston, USA: Computational Mechanics Publication, 1997. P. 349–407.
12. Мамаев С.А., Шавнин С.А. Динамика некоторых биофизических характеристик однолетних побегов сосны обыкновенной при переходе в состояние покоя // Лесное хозяйство / Под ред. Вигорова Л.И. Свердловск: Урал. лесотехн. ин-т, 1976. С. 156–159.
13. Бухов Н.Г. Старение листа. Выявление участков, лимитирующих фотосинтез с помощью коэффициентов тушения флуоресценции хлорофилла и редокс-изменений P_{700} в листьях // Физиология растений. 1997. Т. 44. С. 352–360.
14. Schreiber U., Bilger W. Progress in Chlorophyll Fluorescence Research: Major Developments During the Past Years in Retrospect // Prog. Bot. 1993. V. 54. P. 151–173.

15. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. Киев: Наук. думка, 1973. 592 с.
16. Маслов Ю.И. Микроопределение серы в растительном материале // Методы биохимического анализа растений / Под ред. Полевого В.В. Л.: Изд-во ЛГУ, 1978. С. 146–154.
17. Завьялова Н.С., Юшков В.И. Влияние освещенности на морфологические и физиологические свойства молодых растений сосны обыкновенной // Экология. 1979. № 9. С. 39.
18. Юшков В.И., Завьялова Н.С. Структура и функция ассимиляционного аппарата молодых растений кедра сибирского при разных световых режимах // Экология. 1988. № 4. С. 18–24.
19. Walters R.G., Horton P. Theoretical Assessment of Alternative Mechanism for Non-photochemical Quenching of PS2 Fluorescence in Barley Leaves // Photosynth. Res. 1993. V. 36. P. 199–139.
20. Krause G.H., Weis E. Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: the Basics // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1991. V. 42. P. 313–349.
21. Pfundel E., Bilger F. Regulating and Possible Function of the Violaxanthin Cycle // Photosynth. Res. 1994. V. 42. P. 89–109.
22. Demmig-Adams B., Winter K., Kruger A., Czygan F.-C. Light Response of CO₂ Assimilation, Dissipation of Excess Excitation Energy, and Zeaxanthin Content of Sun and Shade Leaves // Plant. Physiol. 1989. V. 90. P. 881–886.
23. Dann M.S., Pell E.J. Decline of Activity and Quantity of Rubilose Biphosphate Carboxylase/Oxygenase and Net Photosynthesis in Ozone-treated Potato Foliage. Plant. Physiol. 1989. V. 91. P. 427–432.
24. Landry L.G., Pell E.J. Modification of Rubisco and Altered Proteolic Activity in O₃-stressed Hybrid Poplar (*Populus mazimovizii trichocarpa*) // Plant. Physiol. 1993. V. 101. P. 1355–1362.