

УДК 581.1.

## ОСОБЕННОСТИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК И ПИГМЕНТНОГО СОСТАВА РАСТЕНИЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАЗЛИЧИЙ В УРОВНЕ ЗАСОЛЕННОСТИ ПОЧВЫ

М. Х.-М. Магомедова, М. Ю. Алиева, А. Б. Биарсланов

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН

Обнаружены различия во флуоресцентной реакции и пигментном составе растений Кермек Мейера (*Limonium Meyeri*), произрастающих на почвах с различной степенью засоления, что может способствовать использованию биофизического метода регистрации флуоресценции растений для ранней диагностики солевого дисбаланса в почвах и своевременного проведения в дальнейшем мероприятий по устранению причин избыточного засоления почв.

The differences in fluorescence reaction and pigment composition of plants of Kermeck Meyer (*Limonium Meyeri*), growing on soils with varying degrees of salinity have been found. It can help promote the use of the biophysical fluorescence detection method for early diagnosis of plant salt imbalance in soils and timely measures of elimination of causes of excessive soil salinization in future.

Ключевые слова: флуоресценция; фотосинтез; засоление почвы.

Keywords: fluorescence; photosynthesis; soil salinization.

Современные биофизические методы экспресс-диагностики состояния клеток основаны на регистрации начальных нарушений клеточного метаболизма в основном на мембранном уровне организации клетки. Среди спектральных и люминесцентных методов следует отметить метод регистрации флуоресценции хлорофилла. Важная роль фотосинтетического аппарата в жизнедеятельности растения, высокая чувствительность аппарата к воздействию стресс-факторов и тесная связь фотосинтетической флуоресценции с работой фотосистемы II позволили использовать это излучение для успешного проведения экологического мониторинга. Это позволит прогнозировать изменение характеристик отдельных звеньев экологической системы и на основании этого предсказать дальнейшую эволюцию экосистемы. На основе полученной информации могут осуществляться оценка и прогноз степени изменения окружающей среды, разрабатываться управленческие критерии для осуществления хозяйственной и природоохранной деятельности.

Целью настоящего исследования является разработка концептуальных основ применения параметров кинетики флуоресценции растений для мониторинга изменений в системе почва–растение на ранних стадиях засоления почвы и моделирование экологического риска деградации засоленных почв.

### Методы и объекты

Отбор материала, объектов исследования, измерение квантового выхода флуоресценции и фотосинтеза в условиях различной степени засоленности почвы проводили в Тарумовском районе Республики Дагестан на территории Кочубейской биосферной станции. Для исследования зависимости флуоресцентных показателей растений от степени засоленности почвы объекты исследования отбирались на площадках с предположительно разным уровнем засоления. Объектом изучения служили растения Кермек Мейера (*Limonium Meyeri*), 5 измерений с одной опытной площадки.

Участок № 1. Геоморфологическая область и район – приморская полоса Терско-Кумской низменности, слабонаклонная равнина на север, мезорельеф бугристый. Растительность – сарсазановые сообщества: сарсазан, солянка однолетняя, полынь, кермек, лебеда, амарант и др. Солончак типичный, глубокопрофильный (–21.9 ... –23.7 н.у.м.). Координаты: шир. 44° 31,4724 долг. 46° 36,9549.

Участок № 2. Луговая слабо- или среднесолончаковая, слабогумусированная, среднесуглинистая (–21.7 ... –24.0 н.у.м.). Координаты: шир. 44° 30,7054; долг. 46° 38,4856.

Участок № 3. Солончак типичный глубокопрофильный с солончаками луговыми, глубокопрофильными, среднесуглинистыми (тяжелосуглинистые и глинистые), (–13.8 ... –15.8 н.у.м.). Координаты: шир. 44° 26,3222; долг. 46° 26,0874.

Образцы почв отбирали по генетическим горизонтам на глубинах 0–10 см, 10–20 см, 20–30 см на всех трех опытных площадках.

Для определения общей концентрации водорастворимых солей в почвах проводился анализ водной вытяжки по общепринятым методам [1]. Определяли плотный остаток, состав анионов (щелочность от нормальных карбонатов  $\text{CO}_3^{2-}$  и бикарбонатов  $\text{HCO}_3^-$ , анионы  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) и состав катионов ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ).

Спектрофотометрический анализ ацетонового экстракта пигментов (хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов) проводили на спектрофотометре СФ-26. Концентрацию хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов определяли по формулам – Н.К. Lichtenthaler [2]. Содержание пигментов в исследованном материале с учетом объема вытяжки и массы пробы определяли по формуле:

$$A \frac{cV}{1000 P},$$

где *A* – содержание пигментов в растительном материале, мг/г сырой массы; *c* – концентрация пигментов, мг/л; *V* – объем вытяжки пигментов, мл; *P* – навеска растительного материала [3].

Измерение параметров флуоресценции проводилось на портативном хлорофилл-флуориметре MINI-PAM Yeinz Walz GmbH (Германия). Анализатор эффективности фотосинтеза MINI-PAM специально разработан для быстрой и достоверной оценки квантового выхода фотохимического преобразования энергии в процессе фотосинтеза. Потенциальный квантовый выход фотохимического превращения энергии рассчитывали с помощью уравнения:

$$\text{YIELD} = (Fm' - F)/Fm' = \Delta F/ Fm'.$$

Использованные показатели флуоресценции растений:  $F_0$  – фоновый уровень флуоресценции растений (все реакционные центры фотосистемы 2, возбуждаемой светом в коротковолновой части спектра, находятся в «открытом» состоянии); *F* – квантовый выход флуоресценции растений; *Fm* – максимум переменной флуоресценции растений (все реакционные центры фотосистемы 2 находятся в «закрытом» состоянии); *Y* – квантовый выход фотосинтеза.

Для математической обработки результатов использовали пакет STATISTICA 6.

### Результаты и обсуждение

Наибольшая концентрация основных солей обнаружена в почве с участка № 1 (бугристый солончак) на всех трех глубинах, наименьшее количество солей отмечено на участках № 2 и 3 на глубинах 0–10 см, 10–20 см и на участке № 2 на глубине 20–30 см, за исключением бикарбонатов, которые распределены таким образом: наибольшее количество на участке № 2, меньше на участке № 3, наименьшее – на участке № 1 (см. таблицу).

### Результаты химического анализа водной вытяжки образцов почв по генетическим горизонтам Кочубейской зоны Тарумовского района РД (% от абсолютно сухой почвы)

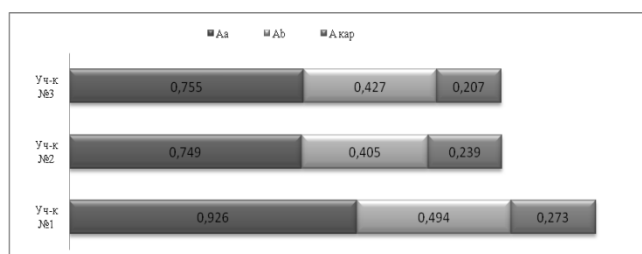
№ п/п	№ почвенного горизонта (в см)	Глубина (в см)	Плотный остаток (в %)	В % от абсолютно сухой почвы							рН сухой почвы
				$\text{CO}_3^{2-}$	$\text{HCO}_3^-$	$\text{Cl}^-$	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Na}^+$ по разн.	
1.	Участок № 1	0–10	3.723	–	0.018	0.959	1.47	0.22	0.108	0.948	6.8
2.		10–20	3.69	–	0.024	0.852	1.56	0.26	0.096	0.898	6.8
3.		20–30	3.95	–	0.021	0.888	1.71	0.3	0.108	0.924	6.7
4.	Участок № 2	0–10	0.362	–	0.065	0.085	0.035	0.006	0.002	0.118	8.2
5.		10–20	0.393	–	0.092	0.089	0.076	0.005	0.002	0.13	8.4
6.		20–30	0.408	–	0.079	0.107	0.077	0.004	0.001	0.14	8.6
7.	Участок № 3	0–10	0.094	–	0.045	0.007	0.016	0.012	0.002	0.012	7.7
8.		10–20	0.085	–	0.04	0.005	0.017	0.016	0.002	0.004	7.6
9.		20–30	0.531	–	0.031	0.007	0.34	0.122	0.01	0.022	7.3

Обычно засоленными почвами считаются те, у которых плотный (сухой) остаток превышает 0.3%, солончаками – более 1% водорастворимых солей [4]. Количественный анализ плотного остатка в водных вытяжках почв показал, что на участке № 1 самое высокое его содер-

жание на всех глубинах (солончаки, более 3%), на участке № 2 – приблизительно в 10 раз ниже (среднезасоленные 0.3–0.4%). На участке № 3 на глубинах 0–10 см, 10–20 см значения плотного остатка ниже (слабозасоленные), чем на втором участке, а на глубине 20–30 см выше (среднезасоленные), чем на участке № 2. На участке № 3 соотношение солей меняется с глубиной: на глубине 20–30 см ионов  $\text{SO}_4^{2-}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  становится больше, чем на участке № 2, в отличие от данных этих же показателей на глубинах 0–10 см, 10–20 см (см. таблицу).

Наибольшее количество бикарбонатов, обнаруженное в водной вытяжке с опытного участка № 2, возможно, является признаком разложения большего количества растительного материала, что подтверждается и литературными данными [5, 6]. По плотности растительных сообществ наибольшей густотой растительного покрова отличался участок № 2, наименьшая плотность растительного покрова наблюдалась на участке № 1. Растения Кермек также были крупнее на опытном участке № 2. В результате качественного анализа водной вытяжки по составу анионов установлено, что тип засоления почв на всех трех участках хлоридно-сульфатный: преобладают сульфаты и хлориды, но сульфатов больше (см. табл.).

На рис. 1 отражено соотношение содержания Хл *a* и Хл *b* в растениях Кермек, растущих на почвах с различной степенью засоленности. Наибольшее количество пигментов Хл *a*, Хл *b* и каратиноидов обнаружено в листьях растений Кермек с участка № 1. Наименьшее количество Хл *a* и Хл *b* выявлено в листьях растений, произраставших на участке № 2.



**Рис. 1.** Количественное соотношение пигментов в растениях Кермек Мейера (*Limonium Meyeri*), произрастающих на почве с разной степенью засоленности (мг/г)

Обнаружена обратная корреляция содержания пигментов Хл *a* и *b* в листьях растений Кермек от концентрации бикарбонатов в почве: чем выше концентрация бикарбонатов в почве, тем ниже содержание пигментов в листовой пластинке. Известно, что бикарбонаты наиболее токсичные соли для роста и развития растений.

Процентное соотношение содержания Хл *a* и Хл *b* в листовой пластинке растений Кермек 65:35 соответственно на всех трех опытных площадках, т.е. содержание Хл *a* заметно выше Хл *b*, но процентное соотношение не зависит от различий засоленности почвы. Способность держать соотношение хлорофилов на одном уровне, независимо от присутствия или отсутствия фактора солевого стресса, говорит о значимости процесса фотосинтеза для растительного организма и о том, насколько этот процесс генетически застрахован от стрессовых ситуаций.

Сравнительная характеристика соотношения квантового выхода флуоресценции растений, растущих на участках № 1, 2 и 3, выявила, что минимальные значения *Fm* наблюдались у растений Кермек с участка № 1, где отмечена наибольшая концентрация водорастворимых солей (рис. 2а, табл.). Работы прошлых лет, объектом исследования которых служили и растения Кермек, также показали, что на почвах с наибольшей степенью засоленности выход флуоресценции наименьший [5, 6].

Обнаружена прямая корреляция максимальной флуоресценции *Fm* с содержанием бикарбонатов в почве: чем выше концентрация бикарбонатов (табл.), тем больше значения *Fm* (участок № 2) (рис. 2а). Ввиду высокой токсичности бикарбонатов можно предположить, что растения, находящиеся под гнетом высокой концентрации бикарбонатов, менее эффективно используют энергию света и теряют ее в виде флуоресценции.

Выявлена обратная корреляция максимальной флуоресценции с концентрацией сульфатов и содержанием ионов кальция на глубине 20–30 см (табл., рис. 2а).

Обнаружена обратная корреляция максимальной флуоресценции *Fm* с содержанием Хл *a* и Хл *b* в листе: высокое содержание пигментов, низкий выход максимальной флуоресценции (рис. 1, 2а). Так как флуоресценция – это потери световой энергии, улавливаемой антенным комплексом и переданной к реакционному центру, то, возможно, большое количество пигментов способствует сохранению световой энергии до использования ее в электрон-транспортной цепи. В условиях солевого стресса физиологические механизмы растительного организма обеспечивают процесс минимальными потерями света в виде максимальной флуоресценции и выдают максимальный квантовый выход фотосинтеза (рис. 2б).

Минимальный квантовый выход фотосинтеза обнаружен в растениях, произрастающих на участке № 2, где отмечены наибольшая концентрация бикарбонатов в почве (см. таблицу) и наибольшие потери световой энергии в виде максимальной флуоресценции (рис. 2а). От различий в засолении основными солями квантовый выход фотосинтеза практически не зависит

в отличие от выхода флуоресценции. Это подтверждается и работами предыдущих лет в этом же направлении [5, 6].

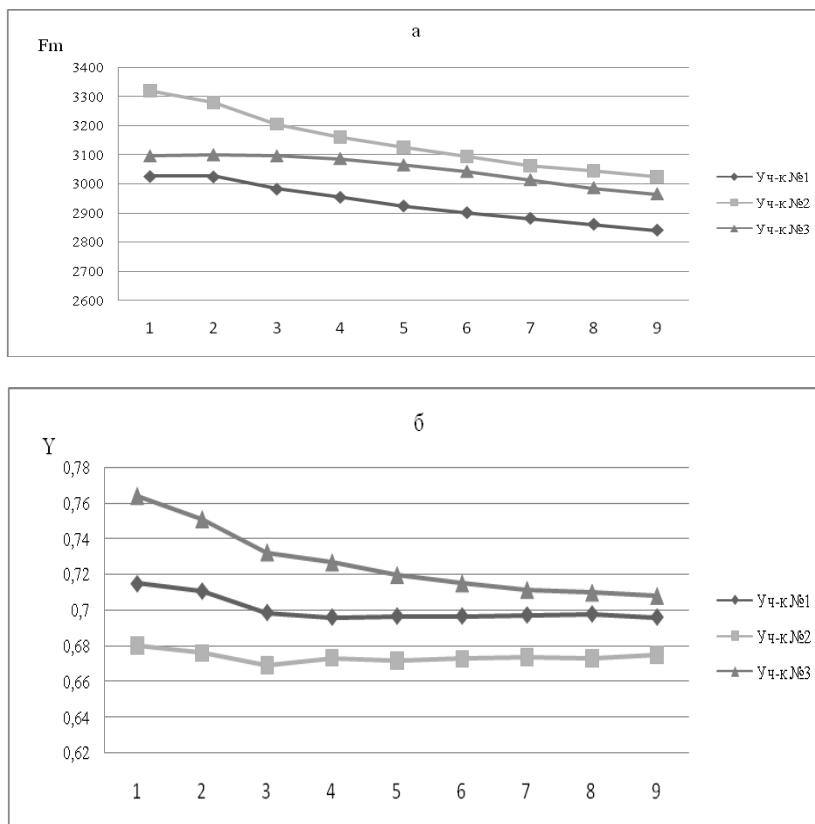


Рис. 2. Квантовый выход флуоресценции ( $F_m$ ) (а) и фотосинтез растений ( $Y$ ) (б) Кермек Мейера (*Limonium Meyeri*)

Современные биофизические методы регистрации флуоресценции достоверно характеризуют влияние любых экстремальных факторов на физиологическое состояние и продуктивность растений на самых ранних этапах воздействия, когда еще квантовый выход фотосинтеза поддерживается растением на нормальном физиологическом уровне. Биофизические методы исследования жизнедеятельности растений имеют значительные преимущества перед традиционными физиолого-биохимическими методами, так как позволяют прижизненно изучать многие процессы в динамике действия любых экологических и антропогенных факторов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ариушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1972. 487 с.
2. Lichtenthaler H.K. Chlorophyll and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes // Methods. Enzimol. 1987. Vol. 148. P. 331–382.
3. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Изд-во «ACADEMA», 2003. С. 46–55.
4. Залибеков З.Г. Аридные земли мира и их динамика в условиях современного климатического потепления // Аридные экосистемы. 2011. Т. 17, № 1. С. 5–14.
5. Магомедова М.Х.-М., Алиева М.Ю. Исследование взаимозависимости состояния почвы и растений методом измерения замедленной флуоресценции // II Междунар. науч.-практ. конф. «Перспективные разработки науки и техники». Пшечмысль, 2011 С. 50–53.
6. Экспресс-мониторинг почвенной системы методом измерения флуоресцентного ответа растений на засоление почв / М.Х.-М. Магомедова, А.Т. Маммаев, М.Ю. Алиева, Е.В. Пиняскина // Аридные экосистемы. 2014. Т. 20, № 1. С. 45.

Поступила в редакцию 14.01.2014 г.  
Принята к печати 18.03.2014 г.