

УДК 577.355.4: 581.132

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК И ПИГМЕНТНОГО СОСТАВА РАСТЕНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫСОТНОГО ГРАДИЕНТА

Е. В. Пиняскина, А. Т. Маммаев

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН

Изучены флуоресцентные показатели и количественные характеристики фотосинтетического пигментного комплекса листьев *Betula pendula* Roth. и *Betula litwinowii* Doluch, произрастающих на высотах –28 и 1800 м над уровнем моря. Показано, что с увеличением высоты произрастания уменьшаются квантовые выходы флуоресценций ( $F$  и  $F_m$ ) у «городской» березы Литвинова, в то время как у березы Повислой наблюдается обратная корреляция. Выявлено уменьшение содержания хлорофиллов по высотному профилю, что авторы связывают с процессами фотовыцветания пигментов и их возможной деструкцией в экстремальных природных условиях – интенсивной инсоляцией в горах, высоким уровнем ультрафиолетового излучения при широком разбросе дневных и ночных температур.

Fluorescent values and quantitative characteristics of the photosynthetic pigment complex of the *Betula pendula* Roth and *Betula litwinowii* Doluch leaves, growing at altitudes of 28 and 1800 m above sea level are investigated. With increasing altitudinal gradient the quantum yield of fluorescence ( $F$  and  $F_m$ ) decreases in "urban" *B. Litvinov birch*, while there is an inverse correlation in *pendula*. Decrease in chlorophyll content at altitude profiles has been recorded. It is related to the processes of photo-bleaching of pigments and their possible destruction in extreme weather conditions – intense insolation in the mountains, high level of UV radiation and wide variation in day and night temperatures.

Ключевые слова: фотосинтез; флуоресценция; фотосинтетические пигменты; высотный градиент.

Keywords: photosynthesis; fluorescence; photosynthetic pigments; altitudinal.

В настоящее время в экологическом мониторинге для диагностики состояния как отдельных растений, так и целых экосистем широко используются флуоресцентные методы, которые являются наиболее быстрыми, удобными и информативными. Эффективности первичных процессов фотосинтеза являются индикатором состояния растений на воздействие окружающей среды. Нарушения этих процессов отражаются в изменении флуоресценции хлорофилла  $a$  и появляются задолго до видимых ухудшений физиологического состояния растений. Основной задачей работы являлось исследование флуоресцентных показателей фотосинтеза листьев растений, в зависимости от градиента высотности.

Объектом исследования служили березы Повислая (*Betula pendula* Roth.) и Литвинова (*Betula litwinowii* Doluch.), произрастающие на территориях Гунибской экспериментальной базы Горного ботанического сада ДНЦ РАН на высоте 1800 м над уровнем моря и в парковой городской зоне г. Махачкалы 28 м ниже уровня моря. Исследования проводились в вегетационный период 2013 г.

Листовые пластинки березы собирали в мае – июне у деревьев примерно одного возраста. Отбор проб для определения пигментов в каждом варианте опытов проводили в 7-кратной повторности. Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов  $a$ ,  $b$  и каротиноидов) определяли общепринятым методом абсорбционной спектрофотометрии (СФ-26, СФ-46). Для экстракции пигментов использовали 80%-ный ацетон [1]. Концентрацию хлорофилла  $a$  и  $b$  и каротиноидов определяли по формуле Lichtenthaler [2]. Содержание пигментов выражали в мг/г сырой массы листовых пластинок.

Параметры флуоресценции хлорофилла  $a$  листьев измеряли с помощью флуориметра MINI-RAM (Pulse Amplitude Modulation) Yeinz Walz GmbH, (Германия). Измерения проводили на зрелых листьях (четвертом-пятом листе). Для измерений использовали не менее 10 побегов. В ходе экспериментов регистрировали следующие параметры флуоресценции:  $F$  – квантовый выход флуоресценции хлорофилла;  $F_m$  – максимальную флуоресценцию хлорофилла,  $Y$  – максимальную квантовую эффективность ФС2 (фотосистема II). Статистический анализ полученных данных проводили с использованием стандартных пакетов Microsoft Excel и Statistica 6.

### Результаты и их обсуждение

Проведенные флуоресцентные исследования показали, что наиболее стабильным показателем активности фотосинтеза был максимальный квантовый выход ФС2 ( $Y$ ). Его величина со-

ставляла в среднем  $0.77 \pm 0.01$ , что указывает на высокую потенциальную фотосинтетическую активность у всех исследованных растений. Максимально возможная величина отношения  $Y$  для функционирующих хлоропластов листьев теоретически равна 0.82, в природных же условиях для листьев растений, находящихся в хорошем физиологическом состоянии, она приближается к 0.80 [3].

Квантовый выход флуоресценции ( $F$ ), как и максимальной флуоресценции хлорофилла ( $F_m$ ) у городских берез *B. pendula*, выше, чем у гунибских; у берез *B. litwinowii* наблюдается обратная корреляция (см. рис. 1). Величина  $F$  отражает уровень флуоресценции, излучаемой комплексами ФС2 с «открытыми» реакционными центрами, у которых  $Q_A$  (первичный хиноновый акцептор) находится в окисленном состоянии. Уменьшение величины  $F_m$  может свидетельствовать либо об усилении фотохимических реакций, либо об увеличении безызлучательных потерь световой энергии (в виде тепловой диссипации), которое может рассматриваться как фотопротекторная реакция.

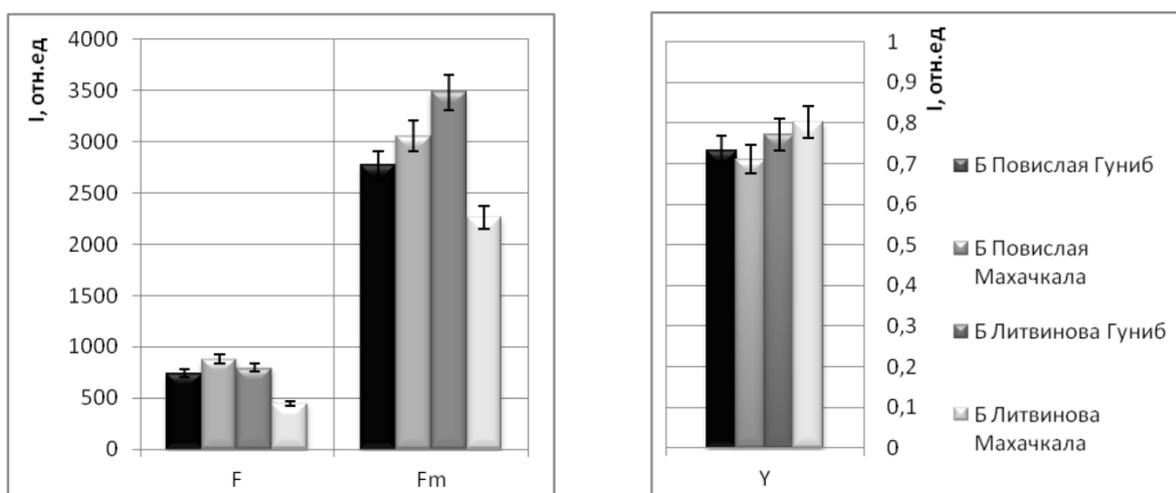


Рис. 1. Квантовый выходы флуоресценции ( $F$ ), максимальной флуоресценции ( $F_m$ ) и фотосинтеза ( $Y$ ) *Betula pendula* Roth. и *Betula litwinowii* Doluch

Изменение интенсивности фотосинтеза по высотному профилю коррелирует с изменением суммарного содержания хлорофиллов  $a$  и  $b$  (см. таблицу). Сравнение содержания фотосинтетических пигментов в листьях берез, собранных с опытных площадок, выявило изменение соотношений в пигментном составе (см. таблицу, рис. 2). Уменьшение содержания хлорофиллов по высотному градиенту связано, вероятно, со структурными и физиолого-биохимическими приспособительными реакциями исследуемых растений под действием целого комплекса абиотических факторов: Гунибское плато, где проводились измерения, характеризуется континентальным климатом, низким атмосферным давлением и пониженной концентрацией углекислого газа.

**Содержание фотосинтезирующих пигментов у берез с разных высот произрастания**

(мг/г)	Литвинова (Гуниб)	Литвинова (Махачкала)	Повислая (Гуниб)	Повислая (Махачкала)
Aa	0.69±0.02	1.40±0.02	0.88±0.04	1.44±0.02
Ab	0.72±0.01	0.69±0.02	0.48±0.02	0.68±0.03
A кар	0.16±0.02	0.22±0.01	0.21±0.02	0.23±0.02
Aa/Ab	0.96±0.03	<b>2.01±0.02</b>	1.84±0.01	<b>2.13±0.02</b>
A(a+b)	1.45±0.02	2.09±0.02	1.36±0.02	2.12±0.03
A(a+b)/ кар	8.77±0.03	9.63 ±0.02	6.36±0.01	9.26±0.04

Кроме того, на большой высоте интенсивный фон УФ-радиации и высокая инсоляция негативно влияют на функциональную активность хлоропластов.

В результате адаптации к свету наблюдается уменьшение доли избыточного света за счет увеличения интенсивности электронного транспорта и тепловой диссипации. Изменения интенсивности тепловой диссипации направлены на то, чтобы компенсировать лимитирование электронного транспорта путем безопасной утилизации той части энергии возбуждения, которая не может быть использована для фотохимии. Однако низкая температура ограничивает фотохимическую утилизацию поглощенного света в связи с ингибированием фиксации  $\text{CO}_2$ . В этих условиях тепловая диссипация является процессом, который вносит основной вклад в адаптацию фотосинтетического аппарата к условиям избыточного освещения. Отрицательное влияние избытка световой энергии в этих условиях может быть снижено путем увеличения температурной (нефотохимической) составляющей тушения флуоресценции хлорофилла.

В субальпийской зоне уменьшение содержания фотосинтетических пигментов приводит к ослаблению активности потенциального фотосинтеза, процессам фотовыцветания пигментов, ограничением их биосинтеза при низкой температуре и, в конечном итоге, к деструкции. Полученные экспериментальные данные согласуются с литературными. Показано, что снижение содержания хлорофилла, увеличение % хромосомных aberrаций, повышение содержания антиоксидантов связано с воздействием озона [4, 5].

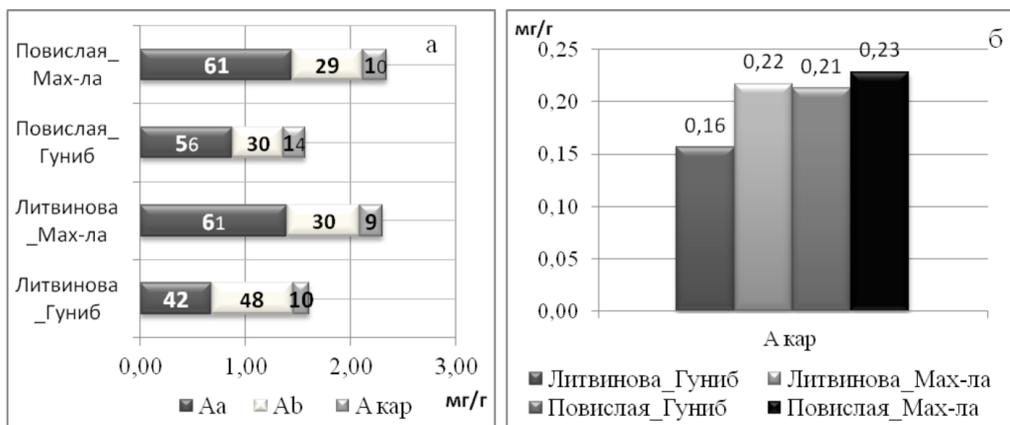


Рис. 2. Процентное содержание пигментов (а) содержание каротиноидов (б) в листьях берез *B. pendula Roth.* и *B. litwinowii Doluch*

По нашим данным, соотношение содержания хлорофилла  $a/b$  в 2 раза выше у городских берез (см. таблицу), увеличение содержания хлорофилла  $a$  – адаптационный показатель, свидетельствующий об усилении активности антиоксидантной системы хлоропластов при наличии негативного антропогенного влияния на рост и развитие растений. С другой стороны, низкое соотношение хлорофиллов у гунибских образцов может быть связано с несовпадением основных этапов вегетационных периодов, поскольку весна в 2013 г. в Гунибе была холодной, затяжной и растения в момент исследований находились еще в стадии синтеза и накопления пигментов. Зафиксированное нами в прошлом сезоне (2012 г.) увеличение доли каротиноидов в пигментном комплексе берез, произрастающих на высоте 1800 м н.у.м, которое было связано с предотвращением фотоповреждений – уменьшением степени окислительного стресса, индуцированного УФ радиацией, в этом сезоне не наблюдалось (рис. 2).

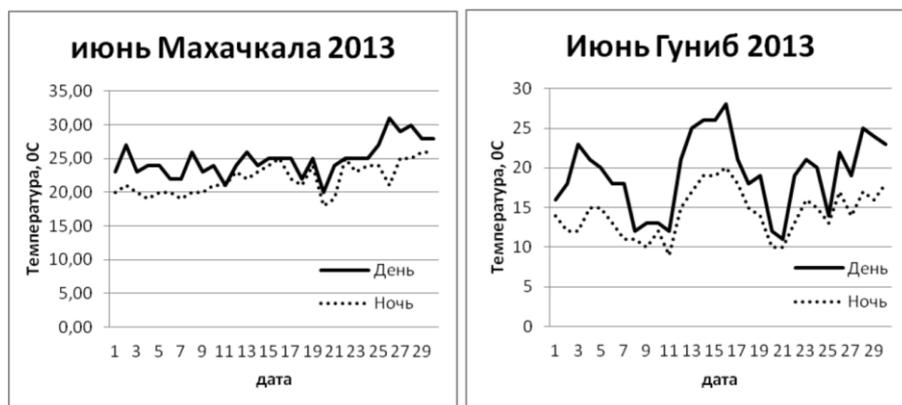


Рис. 3. Дневные и ночные температуры в Махачкале (а) и Гунибе (б) 2013 г.

---

---

Одним из определяющих факторов развития фотосинтетического аппарата у деревьев, произрастающих в горах, является температурный. Средняя летняя температура в Гунибе +18°C, средняя зимняя температура –4°C, в Махачкале +28°C и +1.7°C соответственно (см. рис. 3).

Таким образом, в результате проведенных нами исследований флуоресцентных характеристик и пигментного состава берез *Betula pendula* Roth. и *Betula litwinowii* Doluch показано, что с увеличением высоты произрастания берез:

- квантовые выходы флуоресценции (*F*) и максимальной флуоресценции (*F<sub>m</sub>*) «городских» берез Литвинова ниже гунибских, в то время как у березы Повислой наблюдается обратная корреляция;

- снижается общее содержание хлорофиллов *a* и *b*, что связано с адаптацией к высокой инсоляции, температурным ограничением биосинтеза, а также с процессами фотовыцветания пигментов;

- содержание каротиноидов уменьшается (б. Литвинова) или коррелирует с содержанием каротиноидов у городских берез;

- уменьшается соотношение хлорофилла *a/b*, что может быть связано с несовпадением основных этапов вегетационных периодов на момент проведения исследований.

Полученные нами данные отражают изменения структурных, биофизических, физиолого-биохимических реакций исследуемых растений и являются следствием адаптационных процессов.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН № 30 «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гавриленко В.Ф., Жигалов Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Изд. центр «Академия», 2003. 253 с.
2. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology. 1987. Vol. 148. P. 350–382.
3. Использование флуоресценции хлорофилла для контроля физиологического состояния зеленых насаждений в городских экосистемах / П.С. Венедиктов, С.Л. Волгин, Ю.В. Казимирко, Т.Е. Кренделева, Г.П. Кукарских, В.В. Макарова, О.Г. Лаврухина, С.И. Погосян, О.В. Яковлева, А.Б. Рубин // Биофизика. 1999. Т. 44, вып. 6. С. 1037–1047.
4. James J.C., Grace J., Hoad S.P. Growth and photosynthesis of *Pinus sylvestris* at its altitudinal limit in Scotland // Journal of Ecology. 1994. Vol. 82. P. 297–306.
5. Physiologische Methoden als Ergänzung zur Strepdiagnose an Fichten / M. Tausz, M. Muller, E. Bermadinger-Stabentheiber, D. Grill // Osterr Forstztg. 1995. Vol. 106, N 11. S. 38–49.

Поступила в редакцию 14.01.2014 г.

Принята к печати 18.03.2014 г.