

УДК 574.24: 504.064.3+581.522.4

## Применение флуоресцентных методов в фитоиндикации

### Application of fluorescent methods in phytoindication

В. П. Лебедева, Г. А. Сорокина, Н. А. Гаевский

V. P. Lebedeva, G. A. Sorokina, N.A. Gaevsky

Сибирский федеральный университет, 660041 г. Красноярск, пр. Свободный, 79  
E-mail: nika\_lebedeva@mail.ru, sorokina\_gas@mail.ru, nikgna@gmail.com

**Реферат.** В статье рассматривается влияние техногенного воздействия на зимний покой древесных растений березы обыкновенной (*Betula pendula* Roth.), клёна ясенелистного (*Acer negundo* L.), тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.), лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) из двух районов г. Красноярска с различным уровнем техногенной нагрузки. Для оценки глубины покоя были использованы метод регистрации кривых термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ) хлорофилл-содержащих тканей и метод насыщающего импульса пульс-амплитудной модуляции (РАМ). Было показано, что метод регистрации термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции можно использовать для сравнения видовой чувствительности древесных растений к техногенному воздействию.

**Summary.** Individual species, varieties and individuals of the same species of plants respond differently to air and soil pollution. The amount of damage of trees depends on many factors, both external and internal. Pollutants are especially harmful for evergreen species that do not shed their leaves (needles) in the winter, and with it do not exempt from most of the absorbed harmful substances. Many modern plant species, including woody plants, do not have the specific adaptation towards the influence of toxic gases, which can lead to substantial changes in adaptive responses towards various stresses, including the temperatures below zero. Transition to dormancy in the period of low temperatures plays a special role for maintaining vitality of plants in temperate and high latitudes. The aim of this work was to assess the seasonal changes of trees: angiosperms – common birch (*Betula pendula* Roth.), box elder (*Acer negundo* L.), balsam poplar (*Populus balsamifera* L.), and gymnosperms – Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) and Siberian spruce (*Picea obovata* Ledeb.) in plants grown on two territories with different level of technogenic impact. To estimate the depth of winter dormancy we used the method of recording the curves of thermally induced changes of the zero level of fluorescence for the chlorophyll-containing cells of phelloderm and Pulse Amplitude Modulation method (PAM). It was shown that the stress effect of pollution, both for conifers and angiosperms led them having a smaller depth of winter dormancy, as well as the earlier exit from this state. Recording the curves of thermally induced changes of the zero level of fluorescence was made on the fluorimeter 'Foton-11' developed in the Siberian Federal University. Relative indicator of state allows carrying out zoning of territories by the level of technogenic impact on condition of the plants.

Отдельные виды, сорта и особи одного и того же вида растений по-разному реагируют на загрязнение воздуха и почвы. Величина повреждения древесных растений зависит от многих факторов, как внешних, так и внутренних (Павлов, 2005).

Использование для оценки состояния окружающей среды организмов, реагирующих на загрязнение среды обитания изменением внешних и внутренних признаков, имеет ряд преимуществ. Оно позволяет существенно сократить или даже исключить применение дорогостоящих и трудоемких физико-химических методов анализа. Биоиндикаторы интегрируют биологически значимые эффекты загрязнения и позволяют определять скорость происходящих изменений, пути и места скопления в экосистемах различных токсикантов, делать выводы о степени опасности для человека и полезной биоты конкретных веществ или их сочетаний (Вронский, 1996).

Вредные химические вещества (поллютанты) снижают прирост деревьев и их плодоношение, вызывают суховершинность деревьев, разрушают покровные ткани листьев и хвои, тормозят фотосинтез, изменяют кислотность клеточного сока, нарушают действие ферментов и водный режим растений. Особенно губительны поллютанты для вечнозеленых пород, которые не сбрасывают на зиму листву (хвою) и вместе с ней не освобождаются от большей части поглощенных вредных веществ (Мартынов, 2008). В качестве критерия степени совершенства защитных приспособлений принято использовать их итоговый эффект – осуществление нормального органогенеза и прохождение растением полного онтогенеза (Григорьев, 1999).

У растений умеренных и северных широт для сохранения жизнеспособности особое значение имеет переход в состояние покоя в период пониженных температур. Если растение не прошло периода покоя, в последующем его темп роста снижается, ухудшается плодоношение. После периода покоя рост растений усиливается. При морозе, и особенно с ветром, растения, не завершившие переход в состояние покоя, продолжают терять воду, но компенсировать эти потери не могут, если почва замерзла. Следовательно, в зимних условиях для растения существует значительная опасность погибнуть в результате иссушения (Уоринг, 1984).

Традиционно контроль состояния растений осуществляется по фенологическим наблюдениям, однако данным способом невозможно отследить обратимые изменения. Регистрация термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ) хлорофилл-содержащих тканей позволяет получить оперативную информацию о сезонном физиологическом состоянии растения, а также об эффективности запасающей световой энергии.

Теоретической основой применения метода являются различия агрегированности составляющих хлорофилл-белковых комплексов, что отражается в качественных и количественных показателях кривых ТИНУФ в летнее и в зимнее время. В период активного метаболизма на кривых ТИНУФ (рис. 1) различимы два пика – низкотемпературный (50–55 °С), связанный с инактивацией реакционного центра фотосистемы 2 и высокотемпературный (65–70 °С), обусловленный «разгоранием» флуоресценции хлорофилл-белкового комплекса ФС1. В период зимнего покоя низкотемпературный максимум отсутствует (Гаевский, 1991). Количественным показателем различий кривых ТИНУФ в летнее и зимнее время может выступать отношение интенсивности флуоресценции в низкотемпературном и высокотемпературном максимумах – R2. Для периода зимнего покоя характерны низкие значения R2 (0,02–0,25), возрастающие при переходе растений к активному метаболизму до 1,0–2,5 (Гаевский, 1987).

Ранее было показано, что стрессовое воздействие загрязнения, как на хвойные, так и на лиственные растения приводит к уменьшению глубины покоя, а также к более раннему выходу из этого состояния в ве-

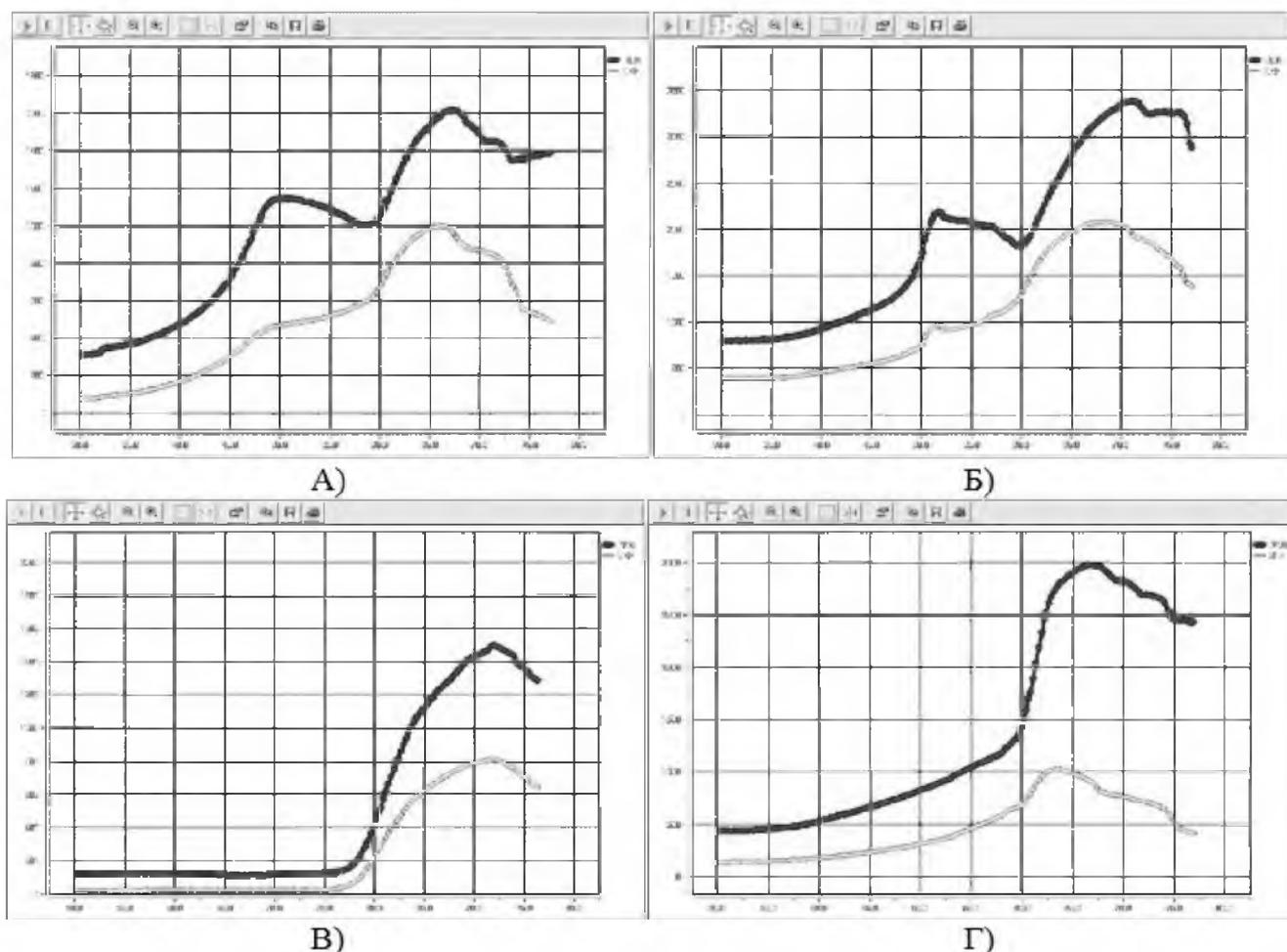


Рис. 1. Наглядный вид кривых ТИНУФ, январь 2012: А – липовенница; Б – ель; В – береза; Г – тополь.

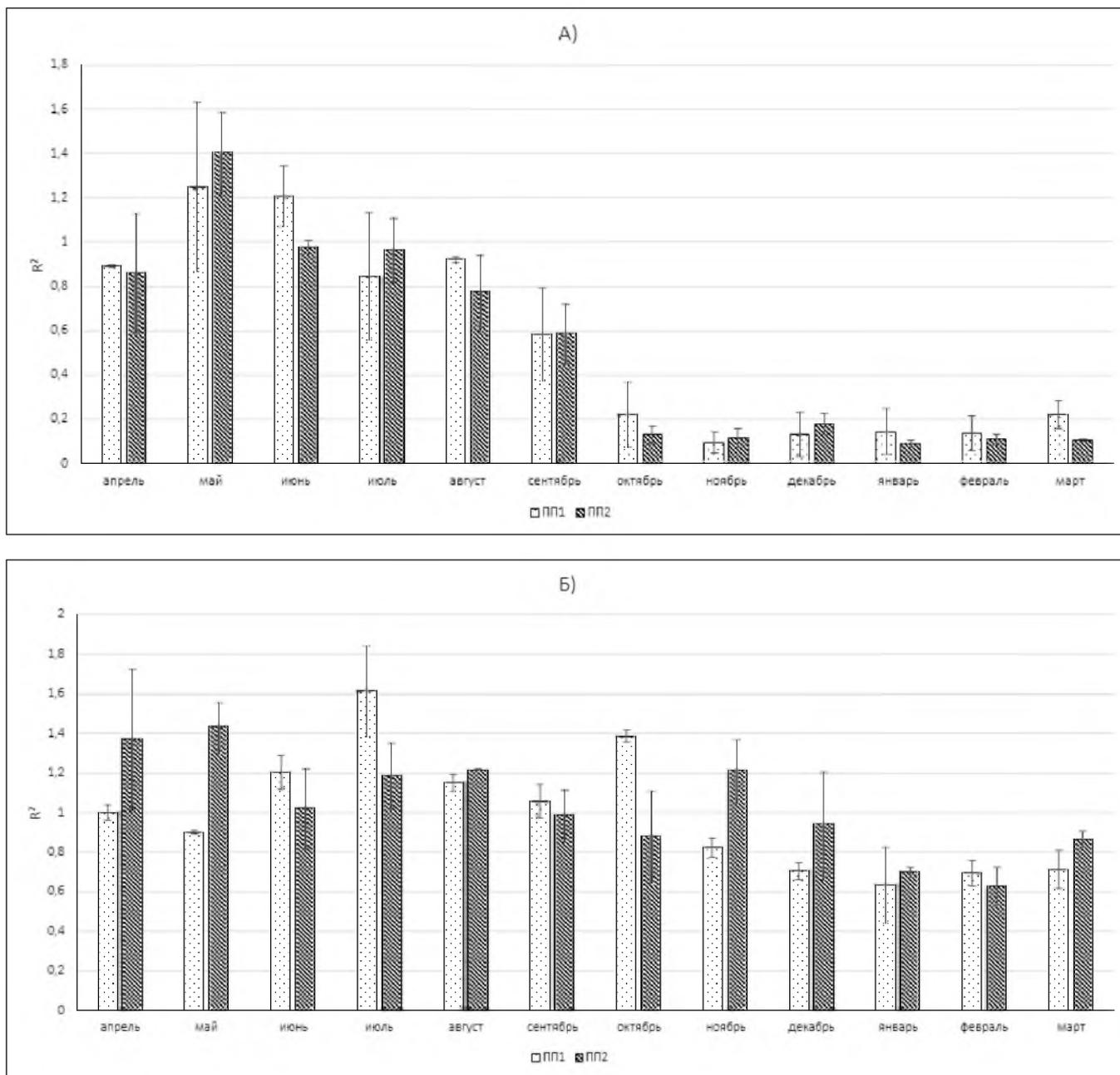


Рис. 2. Годовая динамика изменения величины соотношения низко- и высокотемпературных максимумов (R<sup>2</sup>) для феллодермы покрытосеменных и голосеменных видов древесных растений на примере березы повислой (а) и ели сибирской (б).

сенный период (Пахарькова, 2012).

С целью расширения списка видов растений-индикаторов состояния городской среды проведено сравнительное изучение сезонных изменений у березы обыкновенной (*Betula pendula* Roth.), клёна ясенелистного (*Acer negundo* L.), тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.), лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb) и ели сибирской (*Picea obovate* Ledeb.) из двух районов г. Красноярска с различным уровнем техногенной нагрузки на основе качественных различий кривых термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (далее ТИНУФ) в период активного метаболизма и состояния покоя (ПП 1 – условно чистый район, ПП 2 – с повышенной техногенной нагрузкой).

Были поставлены следующие задачи:

– изучить сезонную вариабельность ТИНУФ у феллодермы пяти видов древесных растений в усло-

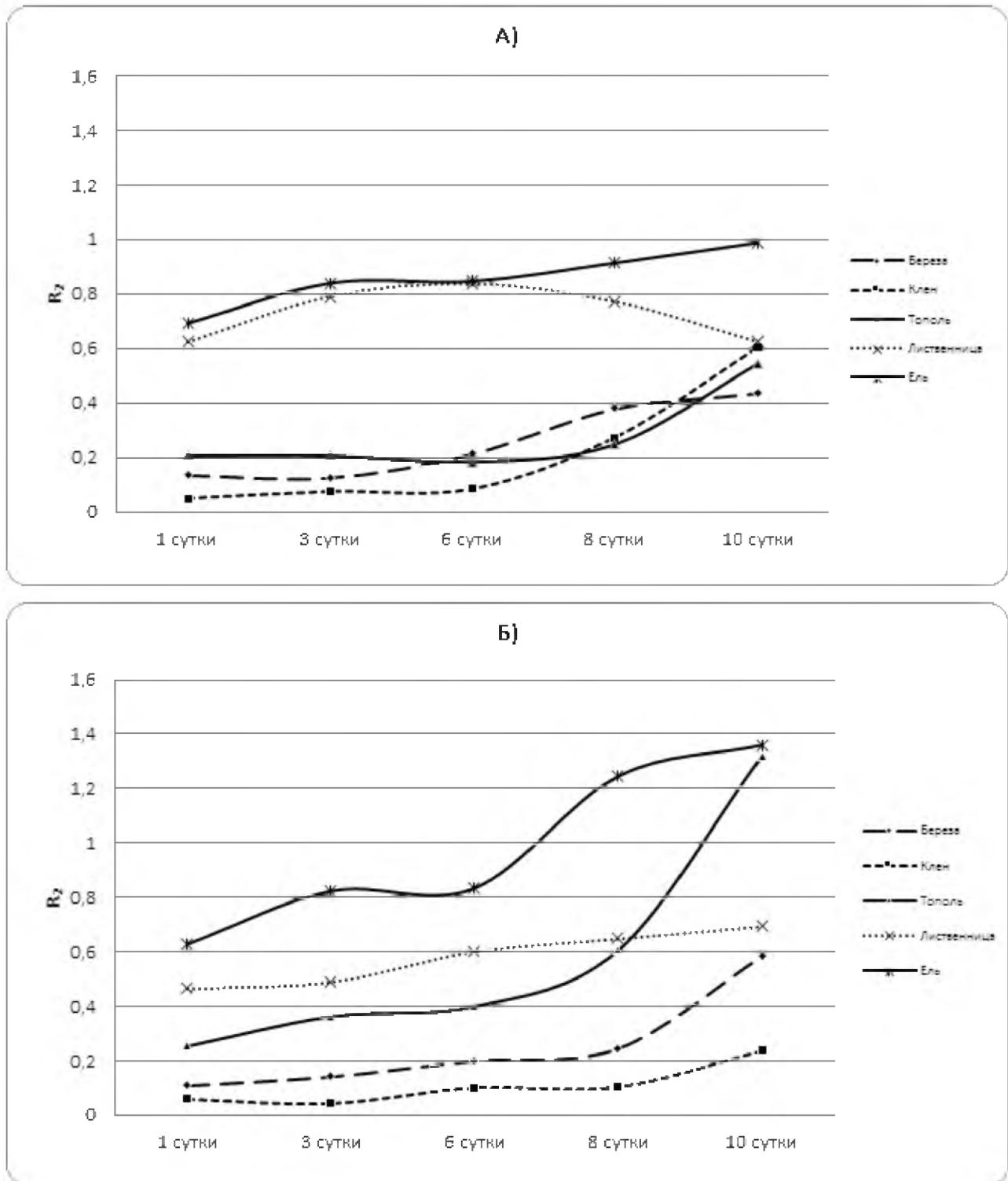


Рис. 3. Динамика изменения величины соотношения низко- и высокотемпературных максимумов ( $R_2$ ) для феллодермы древесных растений из районов г. Красноярск с различным уровнем загрязнения при выведении из покоя в лабораторных условиях (февраль 2012 г.): а – ПП1; б – ПП2.

виях разной антропогенной нагрузки;

– оценить глубину зимнего покоя данных видов растений, произрастающих на относительно чистом (контрольном) и загрязненном участках, при искусственном выведении растений из состояния зимнего покоя в лабораторных условиях;

– провести количественную оценку антропогенного воздействия на основе предложенного относи-

тельного показателя состояния растений (ОПС);

– сопоставить полученные результаты с данными замеров на импульсном флуориметре PAM.

Для оценки сезонных изменений растений проводилась регистрация флуоресцентных показателей феллодермы древесных растений двумя различными методами: термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ) и при помощи флуориметра Imaging PAM Maxi.

Непосредственно перед началом анализа у отрезков побегов растений (1,5–2,0 см.) удаляли покровные ткани, побеги разделяли пополам. Термоиндуцированные изменения нулевого уровня флуоресценции хлорофилла регистрировали на флуориметре «Фотон–11» (СФУ, Россия). Нагрев образцов, погруженных в воду, производили со скоростью 8 град/мин в диапазоне от 30 до 80 °С; флуоресценцию возбуждали слабым фотохимически неактивным светом от зеленого светоизлучающего диода (510–550 нм).

Флуоресценцию побегов тех же растений параллельно регистрировали на приборе IMAGE-PAM (maxi) (WALZ, Германия) без нагрева, для сопоставления различий показателей активности фотосинтетического аппарата при переходе данных видов в состояние покоя в естественных условиях (сентябрь – ноябрь 2015 г.).

В качестве показателя состояния растений и глубины покоя использовали отношение интенсивностей флуоресценции  $R2 = \text{Флт} / \text{Флвт}$ , соответствующих низкотемпературному и высокотемпературному максимумам кривой ТИНУФ ( $R2$ ), а также наглядный вид кривых ТИНУФ (Гаевский, 1991).

Для сравнения чувствительности разных видов растений к атмосферному загрязнению, проводился расчет относительного показателя состояния (ОПС), который используется для количественной оценки влияния загрязнения на состояние растений ( $\text{ОПС} = R_0 / R_k$ , где  $R_2(O)$  и  $R_2(K)$  – среднее значение отношения  $R2$  в исследуемом и контрольном районах соответственно) и отражает различия флуоресцентных показателей для контрольной и опытной пробных площадей.

Все измерения проводили в трех повторностях, рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение.

Согласно существующим теоретическим представлениям (Гаевский, 1987), полученные данные свидетельствуют о том, что феллодерма ели и лиственницы не переходят в состояние покоя в зимний сезон вне зависимости от погодных показателей (рис. 2 б), о чем свидетельствуют значения  $R2$  (больше 0,5) и форма кривых ТИНУФ (рис. 1 а–б), подтверждаемые трехлетними наблюдениями. На кривых отчетливо виден низкотемпературный пик, обусловленный действием нагревания на структуру и функции компонентов фотосистемы 2, тогда как у покрытосеменных наблюдается его полное отсутствие (рис. 1 в–г).

В зимний период выведение побегов растений из состояния покоя в лабораторных условиях позволяет определить глубину покоя по скорости перехода к активному метаболизму. Из рис. 3 видно, что выход из состояния покоя на ПП2 с повышенной техногенной нагрузкой происходит быстрее для всех видов.

В целом для изученных видов более высокая чувствительность наблюдается у хвойных, при этом ель более чувствительна, чем лиственница. Вероятно, это связано с морфоанатомическими характеристиками ели: на протяжении всего года хвоя образует большую площадь поверхности, способной аккумулировать загрязнение из воздушной среды (Рубцов, 1971). Из изученных видов ель единственная не сбрасывает ежегодно хвою, что также приводит к накоплению загрязняющих веществ. Среди покрытосеменных более высокая чувствительность отмечена для березы.

Проведенные исследования показали, что как голосеменные, так и покрытосеменные растения, произрастающие в загрязненных районах, позже переходят в состояние покоя и раньше выходят из него. При этом глубина покоя у них меньше на протяжении всего зимнего периода, о чем можно судить по скорости выхода побегов из покоя в лабораторных условиях.

Таким образом, степень сокращения сроков и уменьшение глубины состояния покоя растений можно использовать для определения резистентности деревьев, произрастающих в городской среде.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Вронский В.А. Прикладная экология. Учеб. пособие. – Ростов-на-Дону: Феникс, 1996. – 512с.
- Гаевский Н. А., Сорокина Г. А., Гехман А. В., Фомин С. А., Гольд В. М. Способ определения степени глубины покоя древесных растений. Авторское свидетельство № 1358843 от 15 августа 1987 г.
- Гаевский Н. А., Сорокина Г. А., Гольд В. М., Миролюбовская И. В. Сезонные изменения фотосинтетического аппарата древесных и кустарниковых растений // Физиология растений – 1991. – Т. 38, вып.4. – С. 685–692.
- Григорьев Ю. С. Биоиндикация загрязнений воздушной среды на основе замедленной флуоресценции хлорофилла

листьев и феллодермы деревьев / Григорьев Ю. С., Бучельников М. А. // Экология, 1999. – № 4. – С. 273–275.

**Мартынов А. Н., Мельников Е. С., Ковязин В. Ф., Аникин А. С., Минаев В. Н., Беляева Н. В.** Основы лесного хозяйства и таксация леса: учеб. пособие для студентов направления 250300 «Технология и оборудование лесозаготовительного и деревообрабатывающего производств» и специальности 120303 «Городской кадастр». – СПб.: ООО Изд-во «Лань», 2008. – 372 с.

**Павлов И. Н.** Древесные растения в условиях техногенного загрязнения. – Улан-Удэ: БНЦ СО РАН, 2005. – 360 с.

**Пахарькова Н. В., Шубин А. А., Сорокина Г. А.** Влияние загрязнения воздушной среды на зимний покой древесных растений // Теоретическая и прикладная экология, 2012. – № 2. – С. 20–25.

**Рубцов Л. И., Лантев А. А.** Справочник по зеленому строительству. – Киев: Будивельник, 1971. – 311 с.

**Уоринг Ф., Филлипс И.** Рост растений и дифференцировка: Пер. с англ. – М.: Мир, 1984. – 512 с.