

УДК 632.928

## ВАРИАЦИЯ ПИГМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА ПЛАСТИД *BETULA* L. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФАКТОРОВ СРЕДЫ

*Баландайкин М. Э.*<sup>1</sup>

VARIATION OF PIGMENTARY COMPLEX OF PLASTID OF *BETULA* L. IN DEPENDING ON FACTORS OF MEDIUM

Balandaykin M.E.

Specificity of response *Betula* L is displayed, on the stress generated by action of various bioecological factors, in aggregate which on destabilising ability predominating position occupies the phytopathologic. The response consists in restructuring of system of the basic photosynthetic pigments of sheet.

Keywords: *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil., *Betula pendula* Roth., chlorophyll, lipochromes, pigments.

### Введение

Фоторецепторная система фотосинтеза базируется на основе двух важнейших типов химических соединений: тетрапирролов, формирующих циклическую структуру хлорофиллов (магнийпорфиринов); полиизопреноидов, образующих большой и разнообразный класс пигментов каротиноидов.

У высших автотрофов лишь хлорофилл а способен осуществлять преобразование энергии, все остальные пигменты участвуют в процессах ее поглощения и миграции [1]. Главными функциями магнийпорфиринов, определенными спецификой химического строения молекулы, ее физико-химическими свойствами, природой электронно-колебательных спектров, являются: избирательная фиксация энергии света; депонирование ее в виде энергии электронного возбуждения; фотохимическое преобразование энергии возбужденного состояния в химическую энергию первичных фотовосстановленных и фотоокисленных соединений [2].

По химической природе каротиноиды представляют собой полиизопреноидную цепь, состоящую из 40 атомов углерода, которая у большинства каротиноидов замыкается по концам в два иононовых кольца. Центральная часть молекулы, состоящая из 18

атомов углерода, представляет собой систему сопряженных связей, образуя основную хромофорную группу молекулы пигмента.

В зависимости от содержания кислорода в молекуле каротиноида различают каротины (например,  $\beta$ -каротин), не содержащие кислорода, и ксантофиллы — содержащие кислород. У высших растений главными представителями ксантофиллов являются лютеин, виолаксантин, зеаксантин и неоксантин. В процессе фотосинтеза каротиноиды выполняют ряд важнейших функций — антенную (дополнительные пигменты в процессе поглощения солнечной энергии), защитную (тушители триплетного хлорофилла и синглетного кислорода) и фотопротекторную (предохраняют реакционный центр от мощных потоков энергии при высоких интенсивностях света и стабилизируют липидную фазу тилакоидных мембран, защищая ее от перекисления) [1, 3].

Количественное содержание хлорофиллов и каротиноидов в листьях зависит от жизнедеятельности организма, его генетической природы, а следовательно, оно может быть использовано как физиологический показатель, характеризующий онтогенетические, возрастные и генетические особенности растений. Количество пигментов отражает и реакцию растительного организма на условия произрастания. Поэтому при

<sup>1</sup>Баландайкин Михаил Эдуардович, аспирант института медицины, экологии и физической культуры Ульяновского государственного университета; e-mail: 131119892007@rambler.ru.

физиологических исследованиях часто возникает необходимость проследить за динамикой содержания хлорофилла и каротиноидов в листьях [4].

## 1. Экспериментальная часть

Пигментный состав листовых пластин березы определялся в соответствии с методикой, изложенной в Практикуме по физиологии растений [4].

Пробы листьев для анализа отбирались из верхней третьей части кроны в сухую погоду, в утренние часы, после высыхания росы. Каждая выборка содержала по 7 экземпляров деревьев. Сбор материала производился после остановки интенсивного роста листовых пластин (начиная с июля), что объясняется достижением зрелости большинством листьев дерева. Исследования проводились на территории Барышского участка лесничества Ульяновской области.

Для извлечения пигментов из мезофилла, солубилизации применялся полярный растворитель — 85%-й раствор ацетона. Экстракция осуществлялась только из свежего растительного материала.

В способе измерения экстинций растворов предпочтение было отдано молекулярно-абсорбционному спектрофотометрическому анализу как наиболее точному волновому методу количественного определения содержания пигментов в ассимиляционном аппарате и позволяющему выполнять анализ смесей веществ с близкими максимумами поглощения без их предварительного разделения в отличие от определения концентраций на фотоэлектроколориметре.

Концентрации хлорофиллов а, b и каротиноидов устанавливались по оптической плотности на спектрофотометре СФ-46 (спектральный диапазон — 190–1100 нм) в видимой области — 400–800 нм [5], с соответствующими ей кюветами из шлифованного оптического стекла. Толщина рабочего слоя кювет — 10 мм. Одна кювета (контрольная) заполнялась чистым растворителем (85%-й раствор ацетона), другая — поочередно рабочими растворами.

Плотность экстракта на спектрофотометре измерялась при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов а и b в красной области спектра — 663, 644 нм соответственно и при длине волны абсорбционного максимума каротиноидов — 452,5 нм.

Концентрации пигментов рассчитывались по Реббелену:

$$C_{\text{хл.а}} = 10,3D_{663} - 0,918D_{644};$$

$$C_{\text{хл.б}} = 19,7D_{644} - 3,87D_{663};$$

$$C_{\text{хл.а+хл.б}} = 6,4D_{663} + 18,8D_{644};$$

$$C_{\text{кар}} = 4,75D_{452,5} - 0,226C_{\text{хл.а+хл.б}}.$$

В уравнениях  $C_{\text{хл.а}}$ ,  $C_{\text{хл.б}}$ ,  $C_{\text{хл.а+хл.б}}$  и  $C_{\text{кар}}$  — соответственно концентрации хлорофиллов а, b, их суммы и каротиноидов, мг/л;  $D$  — экспериментально полученные величины оптической плотности при соответствующих длинах волн [4].

По установленной концентрации пигмента в вытяжке вычислялось его содержание в исследуемом материале с учетом объема гомогената и массы пробы:

$$F \text{ [мг/г сыр.массы]} = \frac{V \cdot C}{P},$$

где  $F$  — содержание пигмента в растительном материале, [мг/г сыр.массы];  $V$  — объем гомогенизированного извлечения, [л];  $C$  — концентрация пигмента, [мг/л];  $P$  — навеска растительного материала, [г]. Также осуществлялся расчет соотношений пигментов  $\text{Chl a}/\text{Chl b}$  и  $(\text{Chl a}+\text{b})/\text{car}$ .

Концентрации основных фотосинтетических пигментов в листьях определялись у автохтонного ценозообразователя Ульяновского региона — березы повислой (*Betula pendula* Roth.), произрастающей в центральной части города Барыша с выраженным доминированием аэрополлютантов в составе техногенных эмиссий (но все же у здоровых экземпляров деревьев), на границе с многолетней невозобновившейся вырубкой, в полегающей лесной полосе и насаждении. В последнем изучались деревья следующих категорий: инфицированные факультативным ксилосапротрофом *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. с разной степенью поражения (оценивалась по меристическим признакам чаги f. *sterilis* (Vanin) Nikol. и была репрезентирована двумя стадиями: 1 — до достижения стерильными экзогенными мицелиальными наростами средних размеров по литературным данным [6, 7], и 2 — свыше средних метрических характеристик), подрост березы бородавчатой, береза пушистая (*Betula pubescens* Ehrh.), гибрид этих двух видов, а также здоровые экземпляры деревьев березы повислой, которые служили в качестве условного контроля.

Таблица 1. Пигментный состав листьев березы, произрастающей в Барышском участковом лесничестве: некоторые биотопы и категории деревьев

Категории, месторасположение и вид деревьев	$C_{\text{хл.а}}$ , мг/г сыр.мас-сы	$C_{\text{хл.б}}$ , мг/г сыр.мас-сы	$C_{\text{хл.а+б}}$ , мг/г сыр.мас-сы	$C_{\text{кар}}$ , мг/г сыр.мас-сы	$C_{\text{хл.а}}/C_{\text{хл.б}}$ ( $\bar{x}$ )	$C_{\text{хл.а+б}}/C_{\text{кар}}$ ( $\bar{x}$ )
Центр г. Барыша	1,67±0,05	0,69±0,03	2,35±0,07	0,62±0,07	2,42	3,77
Граница с вырубкой	2,01±0,07	0,96±0,06	2,97±0,10	0,65±0,03	2,09	4,57
Лесная полоса	2,31±0,05	1,21±0,06	3,52±0,10	0,75±0,03	1,91	4,73
Деревья с чагой 1 ст.	1,67±0,08	1,25±0,08	2,92±0,12	0,44±0,11	1,33	6,69
Деревья с чагой 2 ст.	1,29±0,10	0,79±0,07	2,08±0,12	0,32±0,09	1,63	6,50
Подрост <i>B. pendula</i>	2,55±0,05	1,13±0,01	3,68±0,07	0,87±0,03	2,24	4,25
<i>Betula pubescens</i>	1,94±0,03	0,85±0,07	2,79±0,08	0,64±0,03	2,30	4,38
Гибридные экземпляры	2,53±0,08	1,18±0,03	3,71±0,09	0,76±0,07	2,14	4,87
<i>B. pendula</i> с насаждения	2,00±0,04	1,22±0,05	3,21±0,08	0,57±0,08	1,64	5,62

Так как в настоящем эксперименте число результатов измерений  $n \leq 15$ , то их принадлежность к нормальному распределению не проверялась [8]. Статистическая же обработка данных осуществлялась методом попарных сравнений, который допускает проведение математического анализа сравниваемых выборок по параметрам нормального распределения либо распределения Стьюдента в физиологических и биохимических исследованиях благодаря возможности сопоставления пар измерений [9].

В биологических исследованиях зачастую считается достаточным 5%-й уровень значимости — вероятность ошибочной оценки  $P = 0,05$  [10]. Именно поэтому здесь он и применялся.

Средняя квадратичная ошибка различий, наблюдаемых между парными вариантами, рассчитывалась по формуле

$$m_d = \sqrt{\frac{(\sum d^2/n) - D^2}{(n-1)}},$$

где  $d$  — расхождение между парными значениями сравниваемых величин;  $D$  — разница между средними величинами сравниваемых совокупностей. Величина критерия достоверности вычислялась по следующей формуле:  $t = D/m_d$ . При этом вносилась и поправка Бонферрони.

## 2. Обсуждение результатов и выводы

Полученные значения концентраций хлорофиллов а, b и каротиноидов, а также соотношений пигментов занесены в табл. 1.

Наибольшую описательную силу при множественных сравнениях выборочных совокупностей t-критерий проявляет, например, с введением поправки Бонферрони, которая в своем общем случае хорошо работает, если число сопоставлений невелико. Если оно превышает 8, метод становится слишком «строгим» и даже весьма большие различия приходится признавать статистически незначимыми. К тому же иногда задача заключается лишь в том, чтобы сравнить всего несколько групп только с одной. Преодолеть эту трудность позволяют специальные способы сравнений, и один из их числа — частичная модификация критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони [11]. В нашем случае второй вариант более оптимален, чем первый, поскольку доводит количество сравнений до 8, с полной поправкой было бы 36, что за счет снижения критического уровня  $t$  значительно повышает чувствительность метода в целом — с  $t = 5,59$  (0,001, 6) до 4,12 (0,006, 6) при стандартном  $t$  2,45 (0,05, 6); табл. 2.

Таким образом, по второму методу статистически достоверными оказываются раз-

Таблица 2. Оценка разности средних концентраций основных фотосинтетических пигментов в опытных образцах и листовых пластинах здоровой *B. pendula* с насаждения по t-критерию Стьюдента

Категории, месторасположение и вид деревьев	t, $C_{\text{хл.а}}$	t, $C_{\text{хл.б}}$	t, $C_{\text{хл.а+б}}$	t, $C_{\text{кар}}$
<i>Betula pendula</i> в центре города Барыша	4,49	7,85	6,93	0,43
Граница лесного массива с вырубкой ( <i>B. pendula</i> )	0,10	2,86	1,62	0,80
Лесная полоса из <i>Betula pendula</i>	4,21	0,09	2,12	1,77
Деревья березы повислой с чагой 1 стадии	3,17	0,29	1,72	0,84
Деревья березы повислой с чагой 2 стадии	5,68	4,29	6,74	1,79
Подрост повислой березы из лесонасаждения	7,35	1,44	3,81	2,97
<i>Betula pubescens</i> из лесонасаждения	0,98	3,74	3,20	0,67
Гибридные экземпляры двух видов берез	5,07	0,60	3,55	1,55
Контроль: здоровая <i>B. pendula</i> в лесонасаждении	–	–	–	–

личия концентраций отдельных пигментов в мезофилле со здоровой березой повислой, слагающей насаждение, у следующих категорий деревьев.

У подростка березы повислой ( $C_{\text{хл.а}}=2,55\pm 0,05$  мг/г сыр. массы), деревьев с чагой на второй условной стадии развития ( $C_{\text{хл.а}}=1,29\pm 0,10$  мг/г сыр. массы), гибридных экземпляров повислой и пушистой берез ( $C_{\text{хл.а}}=2,53\pm 0,08$  мг/г сыр. массы), деревьев, произрастающих в центральной части г. Барыша с доминацией аэрополлютантов в составе ксенобиотиков ( $C_{\text{хл.а}}=1,67\pm 0,05$  мг/г сыр. массы) и формирующих полезную лесополосу ( $C_{\text{хл.а}}=2,31\pm 0,05$  мг/г сыр. массы), концентрация хлорофилла типа а в листовых пластинах значимо отличается относительно здоровой *B. pendula* из лесонасаждения ( $C_{\text{хл.а}}=2,00\pm 0,04$  мг/г сыр. массы).

По содержанию хлорофилла b и общей концентрации хлорофиллов в листовом аппарате повислая береза с насаждения ( $C_{\text{хл.б}}=1,22\pm 0,05$  мг/г сыр. массы и  $C_{\text{хл.а+б}}=3,21\pm 0,08$  мг/г сыр. массы) преобладает над деревьями, располагающимися в центре города ( $C_{\text{хл.б}}=0,69\pm 0,03$  мг/г сыр. массы,  $C_{\text{хл.а+б}}=2,35\pm 0,07$  мг/г сыр. массы), и березой, инфицированной *I. obliquus*, имеющей стерильные экзогенные наросты мицелия ксилотрофа на стволе 2 ст. ( $C_{\text{хл.б}}=0,79\pm 0,07$  мг/г сыр. массы,  $C_{\text{хл.а+б}}=2,08\pm 0,12$  мг/г сыр. массы).

Сколько-нибудь статистически надежно со здоровой *B. pendula*, представляющей древостой ( $C_{\text{кар}}=0,57\pm 0,08$  мг/г сыр. массы), по опыту не дифференцировалась ни одна из репрезентированных выборочных совокупностей по общему бюджету каротиноидов в паренхиме мезофилла. Отдельные отличия концентраций фотосинтетических пигментов пластид во всех остальных, не перечисленных прежде случаях по отношению к *B. pendula* из лесонасаждения, соответственно, достоверными не были признаны.

Однако при элементарном использовании t-критерия Стьюдента для сравнения всего лишь двух групп деревьев – с f. *sterilis* (Vanin) Nikol. 1 стадии и из базовой совокупности – концентрации хлорофилла а их листовой паренхимы окажутся неинвариантными ( $C_{\text{хл.а}}=1,67\pm 0,08$  мг/г сыр. массы против  $C_{\text{хл.а}}=2,00\pm 0,04$  мг/г сыр. массы). Значимыми станут и несоответствия между  $C_{\text{хл.а}}$  ( $t=2,56$ ),  $C_{\text{хл.б}}$  ( $t=3,73$ ) и  $C_{\text{хл.а+б}}$  ( $t=4,27$ ) деревьев с наростами чаги на 1 и 2 ст. развития при употреблении последнего метода математического анализа (при этом  $t_{\text{кр}}=2,45$ ).

Несмотря на доверительную статистическую оценку степени варьирования выборочных средних арифметических, которая, кстати сказать, весьма показательна (табл. 2), все же концентрации отдельных пигментов порфириновой, полиизопреноидной природы и их пропорции в серии сопоставляемых выборок не всегда остаются близкими между

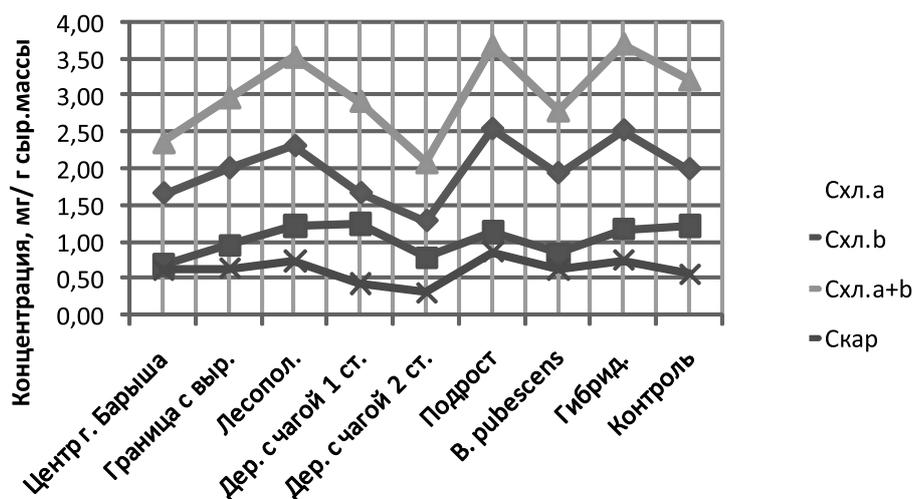


Рис. 1. Особенности пигментной системы мезофилла березы, подвергшейся влиянию флуктуирующих биотопических условий

собой, хотя *t*-критерий и свидетельствует об обратном. Ведь даже в случае неопровержения нулевой гипотезы вопрос о преимуществе одной совокупности перед другой остается открытым [10]. Поэтому следует подробнее остановиться на рассмотрении межгруппового изменения содержания основных фотосинтетических пигментов в листьях.

Как свидетельствуют результаты испытаний, наибольшей из всех выборок концентрацией хлорофилла а фотосинтезирующей системы располагает подрост березы повислой ( $2,55 \pm 0,05$  мг/г сыр. массы). Он обладает и наивысшей  $C_{кар}$  ( $0,87 \pm 0,03$  мг/г сыр. массы), а также достаточно высоким общим содержанием хлорофиллов ( $3,68 \pm 0,07$  мг/г сырого веса), уступающим лишь аналогичному фотосинтетическому параметру гибридных экземпляров ( $C_{хл.а+б} = 3,71 \pm 0,09$  мг/г сыр. массы), что может быть следствием различной требовательности древесной породы к свету на разных этапах ее онтогенеза. На ювенильной, виргинильной и имматурной она минимальна, а к возрасту возмужания достигает максимума. То есть теневыносливость вида выше в более молодом возрасте, а формирующиеся теневые листья имеют большую концентрацию молекул хлорофилла. При дальнейшем увеличении возраста растения требовательность к свету постепенно уменьшается. Это объясняется высокой адаптационной способностью аппарата ассимиляции в ювенильном, виргинильном и имматурном периодах. Впоследствии данная способность теряется [12].

По содержанию хлорофилла а и суммы каротиноидов в паренхиме листовых пластинок (соответственно  $2,53 \pm 0,08$  и  $0,76 \pm 0,07$  мг/г сыр. массы) гибридные деревья располагаются на втором месте после подростки березы бородавчатой в рядах постепенного снижения концентраций пигментов, а по сумме хлорофиллов а, б даже превосходят его, занимая первую позицию ( $3,71 \pm 0,09$  мг/г сыр. массы; т. к. в конкретном случае у них концентрация хлорофилла типа б в листьях выше, нежели у подростки). Подобное, а именно неплохая в целом фоторецепторная характеристика фотосинтетических структур, на наш взгляд, может быть свидетельством гетерозиса, обуславливающего повышенную гетерозиготность гибридам и их биохимическое обогащение и позволяющего гибридным экземплярам первого поколения превосходить по жизнестойкости, продуктивности и др. признакам лучшую из родительских форм: судя по результатам эксперимента (табл. 1), в плане жизнеспособности первая генерация гибридов двух видов превосходит как березу пушистую, так и повислую березу. Последнее достигается благодаря переходу генов в гетерозиготное состояние, при котором рецессивные летальные и полуметалельные аллели, снижающие жизнеспособность гибридов, не проявляются. Также в результате гетерозиготации могут образовываться несколько аллельных вариантов энзима, действующих в сумме более эффективно, чем в гомозиготном состоянии разрозненно. Гибридная сила через биохимическое

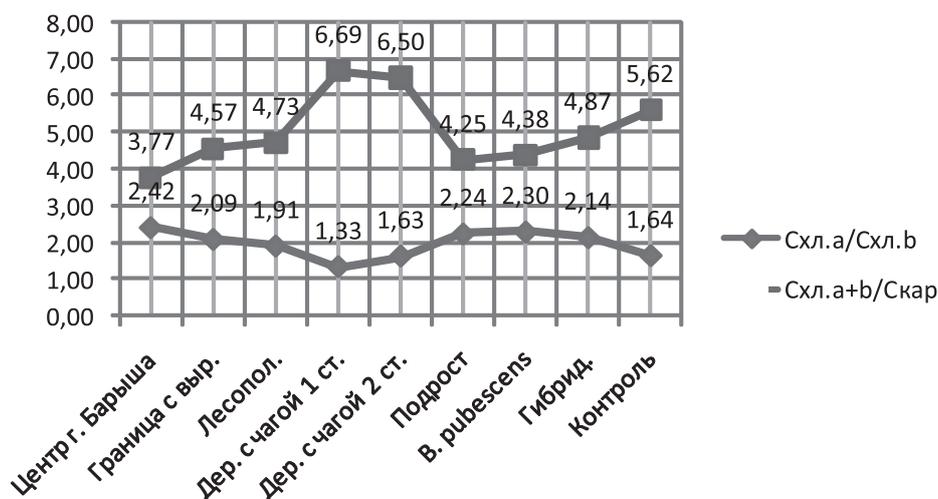


Рис. 2. Отношения концентраций хлорофиллов а и b и общего содержания хлорофиллов а, b к концентрации каротиноидов в листьях деревьев всех экспериментальных совокупностей

обогащение приводит и к усилению обмена веществ, непосредственно влияющего на иммунные свойства растительного организма. Во втором и последующих поколениях гетерозис обычно затухает.

По содержанию всех пигментов – первичных фотосенсибилизаторов в листьях, а также величине отношения концентраций хлорофиллов и каротиноидов дерева, образующие полезацидную лесную полосу, превосходят березу, произрастающую на границе лесонасаждения с вырубкой (рис. 1, 2), что, несомненно, указывает на лучшие условия роста (большая освещенность, меньшая интенсивность внутривидовой конкуренции) и меньшую активность протеолитических ферментов, продуктов магнийпорфириновой природы первых.

У деревьев с границы насаждения и вырубки по сравнению с *B. pendula*, организующей древостой и занимающей глубь лесонасаждения, выше лишь  $C_{кар}$  ( $0,65 \pm 0,03$  мг/г сырого веса) и  $C_{chl.a}/C_{chl.b}$  – 2,09. Параметр  $C_{chl.a}$  у этих двух выборочных совокупностей почти одинаков. В контексте настоящей работы надлежит заметить, что для березы повислой свет является лимитирующим фактором, поскольку она относится к типичным светолюбам. Согласно шкале относительной теневыносливости древесных пород, составленной М.К. Турским (1881) по совокупности их внешних признаков, береза бородавчатая по светолюбию уступает лишь лиственнице, располагаясь по мере увеличения теневыносливости (степени убывания требова-

тельности к свету) на втором месте в ряду основных лесобразователей; береза пушистая отстоит дальше – на 12 месте (после ольхи серой, но перед липой) [13].

Береза пушистая по  $C_{chl.a}$ ,  $C_{chl.a+b}$  и  $C_{chl.a+b}/C_{кар}$  листьев уступает повислой березе, но зато предупреждает последнюю по  $C_{кар}$  и  $C_{chl.a}/C_{chl.b}$  (табл. 1). Здесь именно такой характер динамики показателей фотосинтетической активности, вероятнее всего, указывает на худшие эдафические условия роста *B. pubescens* относительно *B. pendula*, а потому на перераспределение проявления конкурентных преимуществ не в ее пользу (в данном биотопе почвы свежие – эда топ А2, тогда как пушистая береза предпочитает гигрофильные условия среды обитания), поскольку, как следует из [14], в целом межвидовые различия у берез повислой и пушистой, произрастающих в оптимальных для каждой из них условиях, по содержанию базовых пигментов фотосинтеза отсутствуют. У этих двух видов существуют лишь разные направления адаптации фотосинтетических центров к условиям светового режима.

Одни из самых низких в серии сравниваемых выборок значения концентрации хлорофилла а в листовых пластинках у деревьев из центральной части г. Барыша и с чагой на первой условной стадии формирования мицелиальной продукции (фонды  $1,67 \pm 0,05$  и  $1,67 \pm 0,08$  мг/г сыр. массы), наименьшая же – у деревьев, имеющих экзогенные стерильные наросты факультативного ксилотрофа на стволе 2 стадии раз-

вития ( $1,29 \pm 0,10$  мг/г сыр. массы). По параметру  $C_{\text{кар}}$  листьев береза с чагой 1 ст. уступает деревьям с центра города и в общем ряду снижения уровня содержания каротиноидов находятся на предпоследнем месте ( $0,44 \pm 0,11$  мг/г сыр. массы). Необходимо особо отметить, что у последней совокупности наибольшая из всех величина соотношения  $C_{\text{хл.а+b}}/C_{\text{кар}}$  (6,69) и наименьшая пропорция  $C_{\text{хл.а}}/C_{\text{хл.б}}$  (1,33). Значения рассматриваемых показателей с увеличением времени воздействия *I. obliquus* на березу (с 1 по 2 стадию; за исключением разве что  $C_{\text{хл.а}}/C_{\text{хл.б}}$ ) уменьшаются (рис. 2).

В паренхиме мезофилла деревьев с чагой, находящейся на 2 ст., наименьшие из всех репрезентированных выборок  $C_{\text{хл.а}}$ ,  $C_{\text{хл.а+b}}$  и  $C_{\text{кар}}$  (соответственно  $1,29 \pm 0,10$ ,  $2,08 \pm 0,12$  и  $0,32 \pm 0,09$  мг/г сыр. массы). По содержанию (дефициту) хлорофилла типа b в морфологических структурах фотосинтеза они уступают лишь березе, расположенной в центре города.

По-видимому, снижение уровня содержания хлорофиллов (в том числе феофитинизация молекул) и каротиноидов относительно нормы можно рассматривать как нарушение функционирования фоторецепторного фотосинтетического аппарата, а следовательно, гомеостаза дерева в целом. Притом лишь хлорофилл а из основных пигментов фотосинтеза обладает наибольшей стабильностью. В нашем случае при неспецифическом и интегрированном действии эколого-биологических факторов разнородного генеза на березу в ее листовых пластинах снижение  $C_{\text{хл.а}}$  проходит соразмерно с увеличением тяжести стресса у растительного организма. Поскольку поддержание стабильного уровня концентрации молекул хлорофилла а, имеющего представительство как в реакционных центрах, так и в антенном комплексе, при большей изменчивости «антенных» хлорофилла b и каротиноидов, является выражением поддержания физиологической нормы, так необходимой для оптимизации протекания фотосинтетических процессов. В целом, как на это указывается в специальной литературе [15], фонды молекул хлорофилла b и каротиноидов обычно более изменчивы, так как первые, синтезируясь в дополнительном количестве, компенсируют недостаточное освещение (поступление световых квантов ниже уровня насыщения), а вторые (каротиноиды), помимо участия в фотосинтезе, выполняют роль важнейших компонен-

тов антиоксидантной системы. Они выступают в качестве эффективной защиты от свободных радикалов, которые неизбежно образуются в результате метаболических реакций не только в листьях, но и в других вегетативных органах растений.

Снижение бюджетов доминирующих фотосинтетических пигментов в ассимиляционных системах растений вследствие воздействия ксенобиотиков подтверждается сведениями, содержащимися в ряде работ [16, 17].

Так, исследования, проведенные Е.Ю. Колмогоровой (2009) [17] и касающиеся изучения ответной реакции пигментного комплекса некоторых древесных пород (береза, рябина, лиственница и сирень) на загрязнение атмосферного воздуха эмиссиями автотранспорта, показали, что в результате стрессового действия последнего у *Betula pendula* (как, впрочем, и у других таксономических видов) в большей степени снижается содержание хлорофилла b по сравнению с хлорофиллом а. Нечто подобное также произошло и в настоящем эксперименте: листья деревьев, выросших в урбанизированной среде со специфической архитектуроникой — центре города — и постоянно подвергающихся влиянию поллютантов, обладали большей величиной  $C_{\text{хл.а}}/C_{\text{хл.б}}$  относительно повислой березы, образующей лесонасаждение на значительном удалении от основных источников выбросов антропогенных токсикантов. Все же отсутствие в Барыше многоэтажных архитектурных конструкций благоприятно сказывается на почти беспрепятственном воздушном оттоке и интегральной дефляции из города определенной доли ксенобиотиков, само собой разумеется, за исключением их персистентной составляющей. Увеличение по сравнению с контрольным участком, т. е. здоровой *B. pendula*, слагающей древостой, отношения хлорофиллов а/b паренхимы листьев у деревьев из центрального городского биотопа, вероятно, свидетельствует о глубоких изменениях в хлорофилл-белковых комплексах мембран, гран тилакоидов, содержащих электротранспортную цепь пластид, хлоропластов, происходящих под влиянием атмосферного загрязнения.

В связи со сказанным следует особо подчеркнуть, что антропогенное загрязнение токсикантами лесных массивов в ряде районов нашей страны иногда может приобретать впечатляющие формы и масштаб, вызывая последующую дистрессию и усыха-

ние насаждений, расстройство биомов. Атмосферные эмиссии, как правило, всегда предполагают весьма обширным полисопряженным комплексом и довольно сложным спектром аэроксенобиотиков: смесью газов, паров и твердых частиц, в состав которых входят разнообразные гомо- и гетерогенные химические вещества. Наиболее распространенными газовыми агентами являются сернистый ангидрид, соединения фтора, хлора, окислы азота, непредельные углеводороды и другие. Твердые частицы, поступающие в атмосферу, чаще всего состоят из несгоревших частиц угля, золы, сульфатов и сульфитов металлов (железа, меди, цинка, свинца), кремнезема, хлоридов, соединений кальция, натрия, магния и др. В состав жидких аэрозолей входят пары кислот, фенолов и других веществ, а также соединения, образующиеся в результате взаимодействия газов и твердых частиц с водяным паром.

Лучше всего изучено влияние на древесные растения кислых газов, особенно сернистого ангидрида (двуокиси серы). Он парализует процесс фотосинтеза, что приводит, согласно исследованиям Н. П. Красинского (1940, 1950), к фотодинамическому действию хлорофилла — окислению стромы, а затем и всего содержимого хлорофиллового зерна [18].

Первые признаки нарушений в организме растения под влиянием стрессора — сернистого ангидрида — трудно обнаруживаются даже с помощью биохимических исследований и электронного микроскопа. Только после глубоких, чаще всего необратимых изменений, заканчивающихся разрушением пигментов, клеточных и субклеточных структур, у растений появляются внешне различимые признаки поврежденных листьев. Постоянное поступление в приземный слой воздуха ничтожных количеств сернистого газа (менее  $0,1 \text{ мг/м}^3$ ) вызывает деформацию листовых пластинок в виде морщинистости, скрученности без заметного изменения окраски.

При остром поражении сернистым ангидридом (более  $2 \text{ мг/м}^3$ ), по наблюдениям Г. М. Илькуна (1971), уже через 1–2 ч происходит побурение и гибель листьев, чаще отдельных их участков в виде пятнышек с четко очерченной границей между живыми и отмершими клетками и тканями. Поврежденные участки листа обычно локализованы по периферии и в середине между жилками. При слабой концентрации серы двуокиси (менее  $0,5 \text{ мг/м}^3$ ) и ее длительном действии

происходят слабые поражения листовых пластинок, они дихромируются (обесцвечиваются).

Лиственные породы значительно устойчивее к воздействию данного сернистого стрессора, нежели хвойные. Оценка газостойкости *B. pendula*, которая выбрана нами в качестве модельного объекта исследований, противоречива и часто не аргументирована. В ряде работ отмечается, что ее активно фотосинтезирующие структуры легко поражаются ангидридом даже при кратковременных газовых атаках или восстанавливаются в течение летнего вегетационного периода. Наряду с этим имеются указания, что береза относится к среднеповреждаемым и даже малоповреждаемым видам. Объясняя эти противоречия, Ю. З. Кулагин (1974) считает, что газостойкость березы очень сильно зависит от времени воздействия газовых атак. Если газовые поражения приурочены к концу июня — июлю, они (как и осенние) мало опасны, так как к этому времени все главнейшие процессы роста и формирования побегов, цветения и развития семян уже в основном заканчиваются. Средней силы частичные ожоги приводят лишь к преждевременному листопаду. Однако в объяснениях Ю. З. Кулагина также содержатся противоречия, поскольку при июльской дефолиации листва не восстанавливается и очень часто происходит гибель дерева. Кроме того, предполагается, что газовые атаки не настолько сильные и после них происходит только частичное уничтожение ассимилирующих образований. Интересен вывод автора о неустойчивости к означенному стрессору березы пушистой, что часто не учитывается при оценке березы без ее конкретной видовой принадлежности [18].

Сходные с сернистым ангидридом физиолого-биохимические изменения у древесных пород вызывают окислы азота, но они менее токсичны, а также многие другие токсиканты.

Промышленные газы поступают в листья через устьица нижнего эпидермиса и проходят в непосредственный контакт с губчатой паренхимой мезофилла. В апопласте губчатой паренхимы происходит накопление вредных веществ, которые в результате диффузии и поглощения цитозолем попадают внутрь клетки.

Техногенные газообразные эмиссии вызывают в клетках и тканях листьев самые различные повреждения, которые являют-

ся следствием дестабилизации нормального хода физиологических процессов. Они приводят к нарушению регулирующей деятельности устьиц, разрушению протоплазмы и хлоропластов, утолщению стенок мезофилла, подавлению процесса деления и растяжения клеток, некрозу тканей и другим патологическим явлениям. Под влиянием газового загрязнения происходит ингибирование, подавление фотосинтеза, нарушение водообмена и многих биохимических процессов, снижение транспирации, общее угнетение роста и развития древесных пород.

Общей причиной фитотоксичности кислых промышленных газов, по мнению Г. М. Илькуна (1971), является резкое снижение катионно-анионного равновесия. Поэтому растения с повышенным содержанием свободных катионов кальция, калия и натрия более устойчивы [18].

Говоря о действии агентов техногенеза на древесные растения, нельзя не отметить характер поступления токсикантов в растительный организм, эндогенную локализацию и активность загрязняющих веществ. Сейчас уже очевидно, что основным источником ксенобиотиков в системе растение-эдафотоп является аэрозольное их осаждение из воздуха, поскольку почва, будучи основным резервуаром минерального питания растений, влияет на элементарный состав последних опосредованно из-за наличия у растений защитно-приспособительных свойств, проявляющихся в избирательном поглощении элементов из питательных сред и регуляции внутренней среды. А так как многие поллютанты концентрируются в клетках преимущественно в хлоропластах и вакуолях, то в строении фотосинтезирующих клеток, особенно в хлоропластах, проявляются серьезные изменения. По данным В. К. Жирова и др. (2007), в сильно нарушенных экосистемах наблюдается заметное уменьшение объема клеток ассимиляционной паренхимы, объема и количества хлоропластов при достаточном плотном их прилегании друг к другу [19].

Многие физиологические процессы у зеленых растений обладают высокой чувствительностью к промышленным загрязнителям, и фотосинтез не является исключением. Кислые газы вызывают вначале слабое ингибирование, затем активацию и далее устойчивое подавление фотосинтеза. Многие газообразные оксиды оказывают влияние на энзимы фотосинтетического цикла и коферменты дыхания.

Например, имеются сведения, согласно которым под влиянием десорбций низких доз  $\text{SO}_2$  и HF стимулируется пигментообразование, а высокие концентрации данных газов приводят к снижению содержания химических соединений магнийпорфириновой природы, что может быть следствием разрушения хлорофиллов и превращения их в соответствующие феофитины, а также уменьшения синтеза тетрапирролов. Отмечается, что хлорофилл типа a и каротиноиды более чувствительны к промышленным выбросам, чем хлорофилл b [19].

Что же касается фитопатологического действия *I. obliquus* на пигментный состав фоторецепторной системы фотосинтеза березы повислой, то здесь может иметь место следующая интерпретация, представленная в работе [20]. В соответствии с ней, болезнь приводит ко многим физиолого-биохимическим изменениям в пораженных органах древесного растения: изменению в процессах фотосинтеза, дыхания и окислительно-восстановительных реакций; нарушению водного режима, понижению осмотического давления в клетках.

Чаще всего у инфицированных патогенными грибами древесных растений происходит значительное снижение интенсивности фотосинтеза, которое у больных деревьев вызывается рядом причин: с разрушением токсинами гриба хлорофилла и ферментов, управляющих фотосинтезом; с общим ослаблением жизнедеятельности деревьев; нарушением обмена веществ и водоснабжения растения при поражении паразитом не только ассимиляционного аппарата, но и стебля и корня.

Несмотря на то, что уменьшение содержания хлорофилла в листьях является одной из причин снижения интенсивности фотосинтеза больных деревьев, прямой связи между содержанием хлорофилла и интенсивностью фотосинтеза не обнаружено. Это объясняется тем, что на фотосинтез сильно влияют и другие факторы. Например, фотосинтетический процесс при большом количестве хлорофилла в листьях чаще всего лимитируется температурой, а при малом светом. На фотосинтезе значительно сказывается состояние корневой системы растений: при изменении соотношения между массой листьев и корней в пользу последних фотосинтетическая интенсивность существенно повышается.

Интенсивность фотосинтеза зависит также от площади ассимилирующей поверхности растений.

Некоторые исследователи, наоборот, отмечают повышение интенсивности процесса фотосинтеза у древесных растений при отдельных инфекционных болезнях. Так, при поражении древесных растений облигатными паразитами, чаще всего ржавчинными грибами, и некоторыми факультативными сапротрофами с высокой степенью паразитизма, например, *Rhizina acerinum*, на начальных стадиях инфекционного процесса при слабой степени поражения древесных растений наблюдается усиление фотосинтеза. В этом случае иногда повышается и содержание хлорофилла в листьях, а их пораженные участки бывают окружены кольцом более интенсивной зеленой окраски. Такая стимуляция фотосинтеза больных деревьев объясняется мобилизацией энергетических ресурсов растения для ростовых процессов. В это время на ветвях и стволах пораженных деревьев формируются споронии гриба, для образования которых патогену требуется дополнительное количество питательных веществ. Вполне вероятно, что для получения этих веществ грибы выделяют специфические стимуляторы фотосинтезирующей активности больных деревьев.

Определенное влияние оказывают инфекционные болезни и на содержание каротиноидов в листьях. По данным В.К. Смирновой, при поражении сосны сосновой губкой наблюдается повышение содержания каротиноидов в хвое зараженных деревьев. А.Н. Пряжников также считает, что инфицирование сосны сосновой и корневой губками приводит к увеличению содержания каротиноидов в хвое больных деревьев. В то же время Н.И. Федоров отмечает, что корневая губка слабо влияет на биосинтез и накопление каротиноидов в хвое больных деревьев, а сезонная динамика содержания каротиноидов у больных и здоровых деревьев различается незначительно.

У пораженных патогенными грибными организмами деревьев изменяется ферментативная активность, что в свою очередь приводит к изменениям интенсивности физиологических процессов. При инфекционных болезнях древесных растений наблюдаются также дестабилизации обмена веществ, в первую очередь, белков и углеводов. Все это в конечном итоге способствует нарушению процессов образования пластид [20].

## Выводы и заключение

Таким образом, резюмируя вышеизложенное, можно подойти к следующему. Воздействие скошенного трутовика на фоторецепторный комплекс фотосинтеза деревьев с учетом синергетического действия остаточных факторов постепенно приводит к снижению концентраций всех основных фотосинтетических пигментов в листовом аппарате (функция времени), являясь одним из сильнейших стрессоров для березы. Причем на фоне общего снижения количества отдельных пигментов в мезофилле зараженных деревьев по сравнению со здоровыми в фотосинтезирующих структурных центрах первых заметно вырастает удельное содержание каротиноидов относительно скорости пополнения фонда хлорофиллов, а величина отношения концентраций хлорофиллов  $a$  и  $b$ , наоборот, уменьшается (судя по  $C_{хл.а}/C_{хл.б}$  и  $C_{хл.а+б}/C_{кар}$  на ранее приведенных иллюстрациях с рис. 1, 2). Феофитинизация и деградация порфириновых молекул со временем происходит постольку, поскольку в условиях стресса высокая фотосинтетическая активность древесным растениям не требуется, и поэтому происходит последовательная редукция аппарата фотосинтеза.

Уместно отметить, что в подобных исследованиях необходимо наиболее полно учитывать всю специфику поведения составляющих пигментной системы растений при предполагаемых эмпирических обстоятельствах, как обособленно, так и комплексно. Так, например, сведения относительно использования содержания хлорофилла и других пигментов в качестве биоиндикационных признаков в литературе довольно противоречивы. Ряд немецких ученых считает этот показатель недостаточно информативным и специфичным, хотя первой стадией видимых хлорозов и дихромации листьев как раз и является разрушение тетрапирролов под влиянием неблагоприятных факторов. В то же время другие исследователи, в том числе русские, показали, что у чувствительных к загрязнению видов (липы, клена) наблюдается уменьшение концентрации хлорофилла еще до появления видимых изменений и это может служить достаточно надежным неспецифическим биоиндикационным признаком [21].

### Литература

1. *Алехина Н.Д. и др.* Физиология растений. М.: Академия, 2005. 640 с.
2. *Полевой В.В.* Физиология растений. М.: Высш. шк., 1989. 464 с.
3. *Медведев С.С.* Физиология растений. СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. 336 с.
4. *Третьяков Н.Н. и др.* Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.
5. *Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И.* Биоорганическая химия. М.: Медицина, 1991. 528 с.
6. *Сурков В.А., Павлова М.Е.* Экологические группы грибов. М.: 1998. 27 с.
7. *Юдин А.В.* Большой определитель грибов. М.: Издательство АСТ, 2001. 256 с.
8. Прямые измерения с многократными наблюдениями. Методы обработки результатов измерений [Текст]: ГОСТ 8.207-76. – Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 15 марта 1976 г. №619 утвержден и введен в действие с 01.01.77. 8 с.
9. *Чупахина Г.Н.* Физиологические и биохимические методы анализа растений: Практикум. Калининград: Калинингр. ун-т, 2000. 59 с.
10. *Лажин Г.Ф.* Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
11. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.
12. *Мартынов А.Н. и др.* Основы лесного хозяйства и таксация леса. СПб.: Лань, 2008. 372 с.
13. *Атрохин В.Г.* Лесоводство и дендрология. М.: Лесн. пром-сть, 1982. 368 с.
14. *Юдина П.К., Мигалина С.В., Горбунова В.Д.* Изменение содержания пигментов *B. pendula* и *B. pubescens* вдоль широтного и высотного градиентов на Урале // Экология: от генов до экосистем: Материалы конф. молодых ученых, 25–29 апреля 2005 г. ИЭРиЖ УрО АН. Екатеринбург: Академкнига, 2005. С. 321–324.
15. *Кавеленова Л.М. и др.* К методологии экофизиологических исследований листьев древесных растений // Поволжский экологический журнал. 2008. №3. С. 200–210.
16. *Ерофеева Е.А., Сухов В.С., Наумова М.М.* Двухфазная зависимость некоторых эколого-морфологических и биохимических параметров листовой пластинки березы повислой от уровня автотранспортного загрязнения // Поволжский экологический журнал. 2009. №4. С. 288–295.
17. *Кольмогорова Е.Ю.* Реакция пигментного комплекса древесных растений на загрязнение атмосферного воздуха выбросами автотранспорта // Экологические проблемы промышленных городов. Сб. науч. тр. Под ред. проф. Т.И. Губиной. Ч. 1. Саратов, 2009. С. 162–164.
18. *Воронцов А.И.* Патология леса. М.: Лесная промышленность, 1978. 272 с.
19. *Неверова О.А.* Применение фитоиндикации в оценке загрязнения окружающей сред // Биосфера. 2009. Т. 1. №1. С. 82–92.
20. *Чураков Б.П., Чураков Д.Б.* Фитопатология. М.: Изд-во Московского гос. ун-та леса, 2007. 424 с.
21. *Слонов Л.Х.* Экология растений и фотосинтез: Методические указания к лабораторным занятиям. Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2009. 38 с.

Ключевые слова: *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil., *Betula pendula* Roth., хлорофилл, каротиноиды, пигменты.