

РАДИАЦИЯ И БИОСФЕРА

УДК 574.24+504.064.2

Концентрация пигментов и красная флуоресценция листьев *Elytrigia repens* в процессе вегетации растений

Е.Н. Заворуева¹, В.В. Заворуев^{1,2*}

¹ Сибирский федеральный университет
660041, г. Красноярск, просп. Свободный, 82

² Институт вычислительного моделирования СО РАН
660036, г. Красноярск, Академгородок, 50/44

Поступила в редакцию 17.04.2013 г.

Вегетационная динамика отношения дальней красной (F_{734}) к красной (F_{682}) флуоресценции листьев холодоустойчивой травы *Elytrigia repens* отличается от подобных зависимостей, полученных для тополей и берез. Показано, что в весенний и осенний периоды параметр F_{734}/F_{682} возрастает с понижением температуры. В условиях городской среды Красноярска параметр F_{734}/F_{682} более устойчив к влиянию поллютантов, чем концентрация суммы хлорофиллов листьев *Elytrigia repens*.

Ключевые слова: флуоресценция, хлорофилл, вегетация, *Elytrigia repens*; fluorescence, chlorophyll, vegetation, *Elytrigia repens*.

Введение

Флуоресценция листьев растений характеризуется двумя пиками излучения в красной (680–689 нм, F_k) и дальней красной области спектра (730–742 нм, $F_{д.к}$). Для их измерения в настоящее время используют различные методы, которые можно сгруппировать в два кластера. В один кластер входят методики, использующие для возбуждения флуоресценции листьев растений монохроматическое излучение [1, 2], а во второй — те, в которых применяется широкополосный свет [3, 4]. Первая группа методов позволяет получить величины отношения $F_{д.к}/F_k$ чаще всего не выше 1, а вторая — более 10 [5]. Величина отношения интенсивностей пиков флуоресценции является одним из параметров, используемых при изучении физиологического состояния растений [1–5].

С целью решения теоретических и прикладных задач на протяжении многих лет исследуется связь параметра $F_{д.к}/F_k$ с концентрацией хлорофиллов [5, 6]. Для измерения, как правило, одновременно берутся листья растений с различной цветовой окраской [1, 6]. Корректность такого отбора проб остается невыясненной. В этом случае не решается вопрос о физиологическом состоянии тех листьев, окраска которых не характерна для всей кроны дерева, и, самое главное, остается неясной причина изменения их пигментации. Кстати, изменение концентрации хлорофиллов и параметра $F_{д.к}/F_k$ по сравнению с контролем происходит под воздействием некоторых антропогенных факторов [5].

Наша точка зрения состоит в том, что изучение закономерности изменения флуоресценции листьев в зависимости от содержания пигментов должно проводиться с соблюдением двух условий: первое — для исследования берутся репрезентативные листья; второе — наблюдение ведется от момента формирования листьев до окончания их опада. Эти условия соблюдены в [3, 7]. Для листопадных деревьев, таких как тополь и береза, получены сложные зависимости отношения $F_{д.к}/F_k$ от концентрации хлорофилла. Надо отметить, что эти зависимости существенно отличаются от тех, которые получены при одномоментном отборе проб [5]. В настоящее время установлено три типа зависимости параметра $F_{д.к}/F_k$ от концентрации хлорофилла, и нет основания утверждать, что не существует других.

Из анализа литературных источников следует, что вегетационная динамика красной и дальней красной флуоресценции изучена, в основном, для листопадных деревьев и кустарников. Остаются без внимания очень многие классы растительности. Например, хвойные растения, способные сохранять жизнеспособность при нулевых и даже небольших отрицательных температурах.

В настоящей статье представлены результаты анализа изменения параметра F_{734}/F_{682} и концентрации пигментов в процессе вегетации холодоустойчивой травы *Elytrigia repens*, растущей в различных экологических условиях.

Материал и методы исследования

Объектом исследования являлись листья пырея ползучего (*Elytrigia repens*). Оптимальная температура вегетации травы составляет 20–25 °С. Рост листьев

* Елена Николаевна Заворуева (elena_zavorueva@mail.ru); Валерий Владимирович Заворуев (valzav@icm.krasn.ru).

прекращается при температуре 2 °С [8]. Наземная часть растений сохраняет жизнеспособность при кратковременных (до 24 ч) заморозках (до –10 °С), а корневища способны выжить при температуре вплоть до –17 °С [9].

Пробы собирали в мае–ноябре 2011 г. в Октябрьском, Свердловском и Железнодорожном районах Красноярска. Эти районы характеризуются относительно низким индексом загрязнения атмосферы (ИЗА₅) по сравнению с ИЗА₅ для всего города.

Для проведения модельных экспериментов растения пырея ползучего выращивали в лабораторных условиях под люминесцентными лампами типа L 36W/965 (OSRAM). Режим освещения – непрерывный (5000 лк). Растения выращивали в пластмассовых емкостях объемом 0,5 дм³, наполненных землей, собранной в загородной зоне. Валовое содержание микроэлементов в почвах Красноярского края (мг/кг): кобальт – 9,3; марганец – 436; цинк – 52,3; медь – 18,2 [10, табл. 1]. Видно, что содержание всех ионов, кроме марганца, превышает предельно допустимую концентрацию (ПДК) для почв в 2–6 раз. В связи с этим обстоятельством для изучения влияния поллютантов на фотосинтетические процессы в пырее были приготовлены водные растворы, содержащие соли металлов в концентрациях 10 ПДК. Этими растворами поливали лабораторные растения раз в сутки на протяжении эксперимента.

Методика измерения интенсивности красной и дальней красной флуоресценции хлорофилла листьев растений и описание флуориметра даны в работе [11].

Перед регистрацией флуоресценции высеочки листьев пырея выдерживали в темноте в чашке Петри с влажной фильтровальной бумагой в течение 10–15 мин [1].

Фотосинтетические пигменты из листьев экстрагировали 96%-м этанолом, концентрации пигментов определяли спектрофотометрически, используя коэффициенты экстинкции [12].

Результаты исследования и обсуждение

Вегетационная динамика параметра F_{734}/F_{682} , усредненная по всем районам наблюдения, представлена рис. 1. Она хорошо аппроксимируется параболической функцией

$$y = 0,0005X^2 - 0,1068X + 10,209; R^2 = 0,91. \quad (1)$$

Минимальные значения отношения интенсивностей дальней красной к красной флуоресценции листьев были зарегистрированы в июле и сентябре. По отношению к этим величинам в октябре и ноябре было зафиксировано достоверное увеличение параметра F_{734}/F_{682} . Причем в осенний период самое большое значение наблюдалось при отрицательных средне-суточных температурах атмосферного воздуха.

Факт линейного роста отношения $F_{д.к}/F_{к}$ с понижением температуры окружающей среды был описан для морозоустойчивых растений *Broad bean* [13].

Следует заметить, что эксперименты на листьях *Broad bean* выполнялись в лабораторных условиях, а диапазон вариации температуры составлял 3–26 °С.

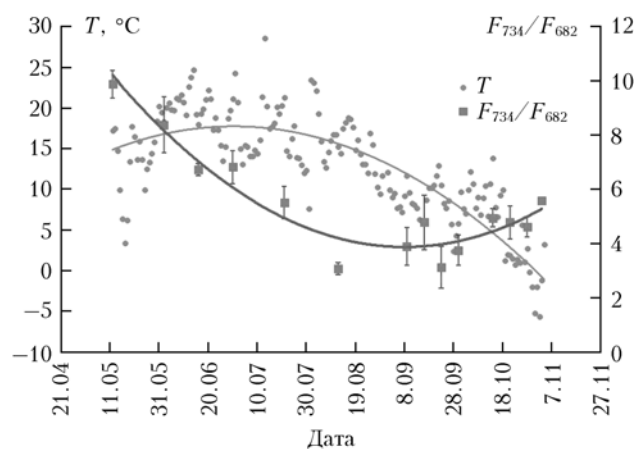


Рис. 1. Динамика температуры и параметра F_{734}/F_{682} в процессе вегетации листьев пырея

В естественной среде температурная зависимость параметра $F_{д.к}/F_{к}$ для листьев пырея не так однозначна, как в лабораторных условиях для растений *Broad bean*. Убедимся в этом. Тренд температуры аппроксимируется функцией

$$y = -0,0012X^2 + 0,1174X + 14,845; R^2 = 0,69. \quad (2)$$

Из анализа уравнений (1) и (2) видно, что экстремумы уравнений не совпадают: температурный максимум приходится на 30.06, а минимум флуоресцентного параметра – на 27.08. То есть в течение почти 2 мес (июнь и июль) ход температуры и параметра F_{734}/F_{682} однонаправлен, а в остальные сроки вегетации – противоположен.

Представленная на рис. 1 динамика изменения интенсивностей дальней красной к красной флуоресценции листьев пырея отличается от аналогичных зависимостей, полученных для тополя и березы [5]. Напомним, что для листьев деревьев характерно увеличение параметра F_{734}/F_{682} к середине лета и его снижение к окончанию вегетации. Причины различия неизвестны. Более того, температурные зависимости параметра $F_{д.к}/F_{к}$ для растений, различающихся таксономической принадлежностью и условиями вегетации, практически не изучены. Выявленные к настоящему времени два типа изменения параметра $F_{д.к}/F_{к}$ (с минимумом и максимумом) в процессе вегетации фотосинтетиков могут быть обусловлены принадлежностью растений к кластеру деревьев или к кластеру трав, а также разной толерантностью фототрофов к низким температурам. Эти предположения будут являться предметом наших дальнейших исследований.

Динамика изменения концентрации суммы хлорофиллов и параметра F_{734}/F_{682} в процессе вегетации травы, растущей в различных районах города, представлена на рис. 2–4. Показаны также линии тренда исследуемых параметров. Уравнения линий тренда

и коэффициенты корреляции между экспериментальными данными и аппроксимирующими параболоми следующие.

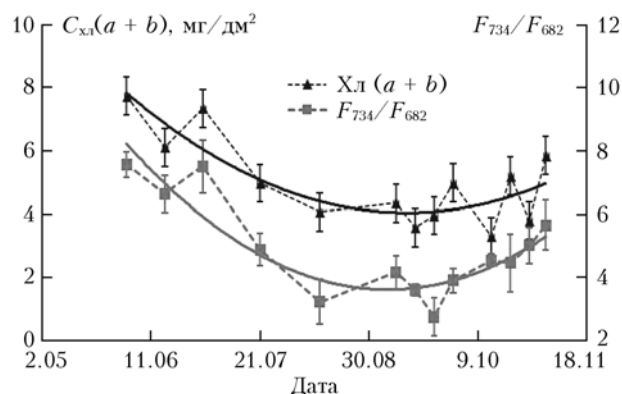


Рис. 2. Динамика изменения концентрации суммы хлорофиллов и параметра F_{734}/F_{682} в листьях пырея, растущего в Октябрьском районе

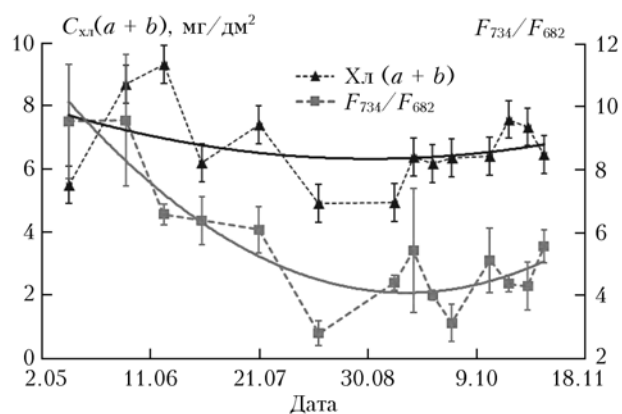


Рис. 3. Динамика изменения концентрации суммы хлорофиллов и параметра F_{734}/F_{682} в листьях пырея, растущего в Свердловском районе

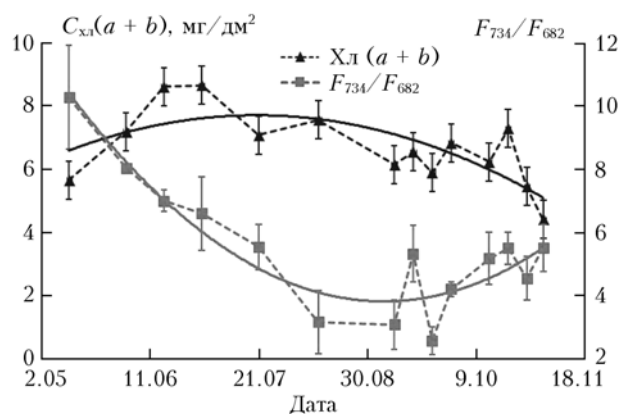


Рис. 4. Динамика изменения концентрации суммы хлорофиллов и параметра F_{734}/F_{682} в листьях пырея, растущего в Железнодорожном районе

Октябрьский район:

$$F_{734}/F_{682} = 0,0005X^2 - 0,1175X + 10,475; R^2 = 0,82.$$

$$C_{chl} = 0,0004X^2 - 0,891X + 9,554; R^2 = 0,72.$$

Свердловский район:

$$F_{734}/F_{682} = 0,0004X^2 - 0,0974X + 11,134; R^2 = 0,81.$$

$$C_{chl} = 0,0001X^2 - 0,0248X + 7,6955; R^2 = 0,09.$$

Железнодорожный район:

$$F_{734}/F_{682} = 0,0005X^2 - 0,1132X + 10,374; R^2 = 0,86.$$

$$C_{chl} = -0,0002X^2 + 0,0323X + 6,5632; R^2 = 0,52.$$

Из представленных данных видно, что вегетационный ход параметра F_{734}/F_{682} хорошо аппроксимируется параболической функцией. Коэффициенты корреляции составляют 0,82; 0,81; 0,86 для Октябрьского, Свердловского и Железнодорожного районов соответственно. Однако наблюдаются различия в диапазоне изменения параметра F_{734}/F_{682} листьев пырея в процессе вегетации в различных районах города (табл. 1). Видно, что в Свердловском и Железнодорожном районах максимальные значения параметра F_{734}/F_{682} выше, чем в Октябрьском.

Таблица 1
Диапазон изменения параметра F_{734}/F_{682} в процессе вегетации травы, растущей в различных районах Красноярска

| Район города | Значение F_{734}/F_{682} | |
|-----------------|----------------------------|-----------------|
| | min | max |
| Октябрьский | $2,75 \pm 0,40$ | $7,57 \pm 0,39$ |
| Свердловский | $2,81 \pm 0,39$ | $8,01 \pm 0,08$ |
| Железнодорожный | $2,59 \pm 0,64$ | $9,54 \pm 0,64$ |

Примечание. Максимальные значения взяты по результатам измерения 02.06.

Динамика изменения суммы концентрации хлорофиллов хорошо описывается квадратичным уравнением только для растений Октябрьского района (рис. 2). Об этом свидетельствует достаточно высокий коэффициент корреляции, равный 0,82. Для пырея, растущего в Свердловском районе, аналогичный коэффициент очень низкий и равняется 0,09. Надо отметить, что для травы Железнодорожного района ход аппроксимирующей концентрацию хлорофилла параболы противоположен изменению параметра F_{734}/F_{682} (рис. 4).

В процессе вегетации растений *Elytrigia repens* отбирались репрезентативные листья, которые использовали для измерения красной и дальней красной флуоресценции, а также концентрации фотосинтетических пигментов. На основе этих измерений была изучена связь параметра F_{734}/F_{682} с концентрацией суммы хлорофиллов (рис. 5).

Корреляционный анализ всего массива экспериментальных точек показал отсутствие связи между исследуемыми параметрами ($R^2 = 0,19$). Однако для каждого из районов, где отбирались пробы, коэффициенты корреляции были различны: 0,02 в Железнодорожном; 0,14 в Свердловском; 0,75 в Октябрьском (Академгородок). Для листьев пырея, растущего

в Академгородке (западная окраина города Красноярска), наблюдалась прямо пропорциональная зависимость параметра F_{734}/F_{682} от концентрации хлорофиллов (рис. 5).

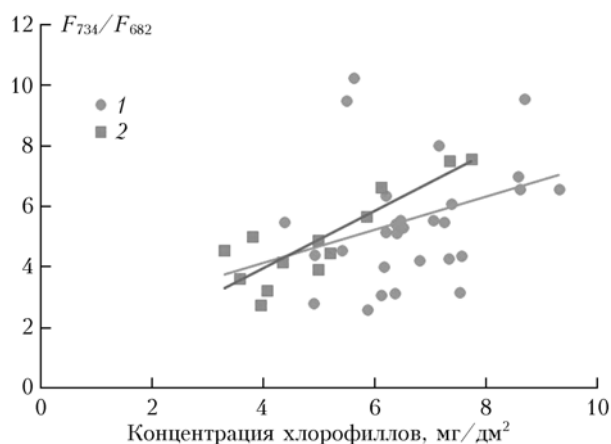


Рис. 5. Зависимость параметра F_{734}/F_{682} от концентрации суммы хлорофиллов: для всего массива данных (1) и для результатов измерений в Октябрьском районе (2)

Можно предположить, что различия в трендах концентраций хлорофилла (см. рис. 2–4) и значений корреляционных связей параметра F_{734}/F_{682} с содержанием пигментов (см. табл. 1) связаны с разными уровнями загрязнения атмосферы в городских районах.

Согласно официальным данным [14], ИЗА₅ в Железнодорожном районе в 2011 г. составлял 20,78. Для сравнения, ИЗА₅ в Свердловском районе был практически таким же и равнялся 19,45. В Октябрьском районе комплексных исследований загрязнения воздуха не проводится, в связи с чем не рассчитывается величина ИЗА₅. Тем не менее о содержании некоторых поллютантов в атмосфере различных районов города можно судить по данным в табл. 2, из которых следует, что воздух в Октябрьском районе чище, чем в Свердловском и Железнодорожном. В последних двух районах значительных различий концентраций поллютантов не наблюдается.

Таблица 2

Индексы загрязнения атмосферы поллютантами в различных районах Красноярска в 2011 г.

| Поллютант | Район города | | |
|---------------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Октябрьский | Свердловский | Железнодорожный |
| Оксид углерода | 0,41 | 0,45 | 0,49 |
| Оксид азота | 0,35 | 0,43 | 0,53 |
| Диоксид азота | 0,60 | 1,19 | 1,15 |
| Взвешенные вещества | 0,86 | 1,12 | 1,50 |
| Гидрофторид | нет данных | 0,36 | 0,34 |
| Формальдегид | нет данных | 8,31 | 8,88 |
| Бенз(а)пирен | нет данных | 8,30 | 8,80 |

Вывод о более благоприятных для растений пырея экологических условиях в Октябрьском районе, по сравнению с другими территориями, был подтвержден следующим экспериментом. Снег, скопив-

шийся на протяжении зимы 2011/12 г., был собран в трех районах города. Талой водой поливали траву, растущую в лабораторных условиях. Результаты измерения параметра F_{734}/F_{682} представлены в табл. 3.

Таблица 3

Динамика изменения параметра F_{734}/F_{682} для растений пырея при поливе талым снегом, собранным в различных районах города

| Время, сут | Район города | | |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Октябрьский | Свердловский | Железнодорожный |
| 0 | $6,98 \pm 0,95$ | $6,09 \pm 0,40$ | $6,31 \pm 0,45$ |
| 2 | $6,92 \pm 1,28$ | $7,26 \pm 0,84$ | $6,91 \pm 0,43$ |
| 3 | $6,75 \pm 0,77$ | $8,71 \pm 0,72$ | $8,37 \pm 0,67$ |
| 5 | $6,73 \pm 0,40$ | $8,40 \pm 0,89$ | $9,46 \pm 1,42$ |

Видно, что за 5 сут эксперимента флуоресценция пырея, поливаемого талым снегом Октябрьского района, не изменилась. В двух других случаях наблюдалось достоверное возрастание параметра F_{734}/F_{682} . Естественно, что это вызвано влиянием поллютанта (одного или нескольких), содержащегося в снеге Свердловского и Железнодорожного районов.

Таким образом, эксперимент со снегом показывает разный уровень загрязнения районов города.

В снеге Красноярска обнаруживается множество анионов и катионов. Концентрация некоторых из них превышает ПДК для вод хозяйственно-бытового назначения [15]. Естественно, что эти ионы попадают в почву. В условиях техногенного загрязнения тяжелыми металлами экологический фактор формирования элементного состава растений становится ведущим [16]. Пырей ползучий накапливает металлы в листьях и корневой системе [17, 18]. Это может вызывать нарушение биосинтеза пигментов в листьях травы и приводить к структурным изменениям в фотосинтетическом аппарате растений.

Специально проведенные лабораторные эксперименты позволили нам установить, что ионы цинка и меди в концентрации 10 ПДК вызывают достоверное увеличение параметра F_{734}/F_{682} по сравнению с контролем на 26 и 21% соответственно (рис. 6). Эти ионы не оказывали влияния на концентрацию суммы хлорофиллов в листьях растений (рис. 7).

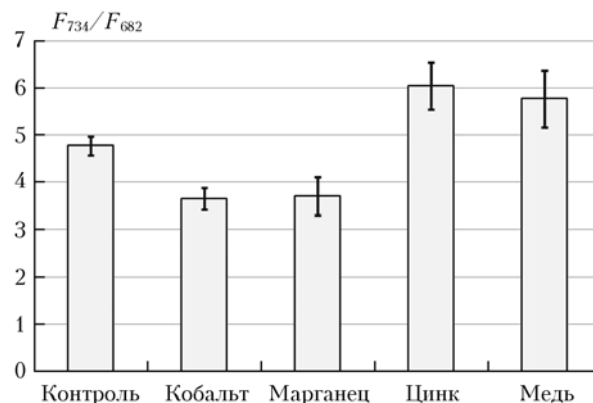


Рис. 6. Параметры F_{734}/F_{682} срединной части листьев пырея на 5-е сут полива растений растворами, содержащими ионы тяжелых металлов

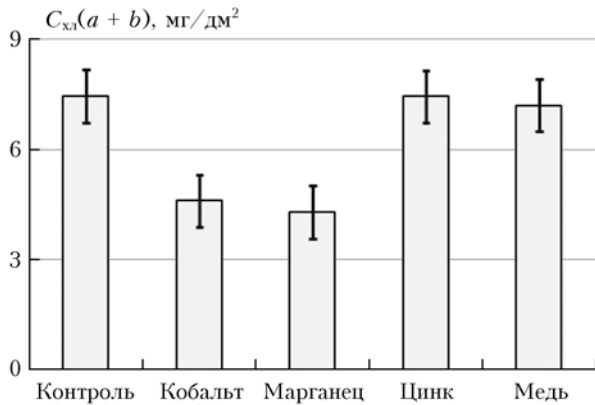


Рис. 7. Концентрация суммы хлорофиллов в листьях пырея на 5-е сут полива растений растворами, содержащими ионы тяжелых металлов

Ионы кобальта и марганца в такой же концентрации вызывали уменьшение параметра F_{734}/F_{682} на 24 и 22% соответственно. Они же изменяли содержание пигментов в листьях растений на 39 и 43%.

Полученные результаты позволяют убедиться в верности сделанного нами предположения о влиянии поллютантов, в том числе и тяжелых металлов, на фотосинтетические процессы в пырее.

Заключение

Вегетационная динамика параметра F_{734}/F_{682} холодоустойчивого растения *Elytrigia repens* отличается от подобных зависимостей, полученных для деревьев, и характеризуется параболической функцией, имеющей минимум, приходящийся на конец летнего сезона. Ход параметра F_{734}/F_{682} не зависит от экологических условий вегетации, сложившихся в различных районах Красноярска в 2011 г.

Концентрация суммы хлорофиллов в листьях растения зависела от района произрастания травы. Только на наименее загрязненной, по сравнению с остальными районами Красноярска, территории Академгородка для растений пырея зарегистрированы одинаковые сезонные тренды концентрации пигментов и параметра F_{734}/F_{682} . В лабораторных условиях проверено предположение, что концентрация хлорофилла регулируется поллютантами. Показано, что содержание фотосинтетических пигментов изменяется при внесении в почву таких микроэлементов, как кобальт, марганец, цинк и медь.

Для *Elytrigia repens* показано, что величина параметра F_{734}/F_{682} возрастает с увеличением концентрации суммы хлорофиллов в листьях растений. Эта прямо пропорциональная зависимость ($R^2 = 0,75$) характерна для трав, растущих в экологически благоприятных условиях.

Установлено, что в весенний и осенний периоды вегетации пырея параметр F_{734}/F_{682} возрастает с уменьшением температуры окружающей среды.

1. Lichtenthaler H.K., Rindler U. The Role of Chlorophyll Fluorescence in detection Stress Condition in Plants //

CRC Crit. Rev. Anal. Chem. 1988. V. 19, suppl. 1. S. 29–85.

- Афонасенко А.В., Иглакова А.Н., Матвиенко Г.Г., Ошляков В.К., Прокопьев В.Е. Лабораторные и лидарные измерения спектральных характеристик листьев березы в различные периоды вегетации // Оптика атмосф. и океана. 2012. Т. 25, № 3. С. 237–243.
- Заворуев В.В., Заворуева Е.Н. Флуоресценция листьев тополей, растущих вблизи автомобильных дорог // Оптика атмосф. и океана. 2011. Т. 24, № 5. С. 437–440.
- Кочубей С.М., Кобец Н.И., Шадшина Т.М. Спектральные свойства растений как основа методов дистанционной диагностики. Киев: Наук. думка, 1990. 136 с.
- Заворуева Е.Н., Заворуев В.В., Крум С.П. Лабильность первой фотосистемы фототрофов в различных условиях окружающей среды. Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2011. 152 с.
- Gitelson A.A., Buschmann C., Lichtenthaler H.K. The Chlorophyll Fluorescence Ratio F_{735}/F_{700} as an Accurate Measure of the Chlorophyll Content in Plants // Remote Sens. Environ. 1999. V. 69, N 3. P. 296–302.
- Заворуев В.В., Заворуева Е.Н. Изменение отношения пиков красной флуоресценции хлорофилла листьев *Populus balsamifera* в процессе вегетации // Докл. РАН. 2002. Т. 387, № 2. С. 258–260.
- Evans R.A., Young J.A. Seedbed microenvironment, seedling recruitment, and plant establishment on rangelands // Proc. sympos. «Seed and seedbed ecology of rangeland plants», 1987 April 21–23, Tucson, AZ; Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1987. P. 212–220.
- Stoller E.W. Differential cold tolerance of quackgrass and johnsongrass rhizomes // Agronomy Journ. 1977. V. 25, N 4. P. 348–351.
- Волошин Е.И. Содержание и распределение микроэлементов в почвах Средней Сибири // Вестн. КрасГАУ. 2008. № 4. С. 28–40.
- Заворуев В.В., Заворуева Е.Н., Шелегов А.В. Флуоресценция, возбуждаемая светом 380–540 нм, в листьях огурца в зависимости от времени вегетации и спектральных условий выращивания // Биофизика. 2000. Т. 45, № 4. С. 704–711.
- Wintermans I.F., De Mots A. Spectrophotometric Characteristics of Chlorophyll a and b their Pheophytins in Ethanol // Biochim. Biophys. Acta. 1965. V. 109. P. 448–453.
- Agati G. Response of the in vivo chlorophyll fluorescence spectrum to environmental factors and laser excitation wavelength // Pure and Appl. Opt. 1998. V. 7, N 4. P. 797–807.
- О санитарно-эпидемиологической обстановке в Красноярском крае в 2011 году: Государственный доклад. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Красноярскому краю, 2012. 243 с.
- Роговенко Е.С., Блишкова Н.В., Шубин А.А., Бондарева Л.Г. Экологический контроль антропогенного загрязнения снежного покрова одного из промышленных районов г. Красноярска // Ж. Сиб. федерального ун-та. Химия. 2010. Т. 3, № 4. С. 387–394.
- Позняк С.С. Содержание некоторых тяжелых металлов в растительности полевых и луговых агрофитоценозов в условиях техногенного загрязнения почвенного покрова // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2011. № 1. С. 123–137.
- Васильева Т.Н., Брудастов Ю.А. Загрязнение металлами почв города Оренбурга: Общие параметры взаи-

мосвязи с фитоаккумуляцией металлов представителями синантропной флоры // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. 2007. № 12. С. 83–86.

18. Валова Е.Э., Цыбенков Ю.Б. Тяжелые металлы в почвенно-растительном покрове г. Улан-Удэ // Вестн. Бурят. гос. ун-та. 2011. № 4. С. 200–203.

*E.N. Zavorueva, V.V. Zavoruev. The concentration of pigments and red fluorescence leaves **Elytrigia repens** in the process of vegetation of plants.*

The growing dynamics of the relations of the far red (F_{734}) to red (F_{682}) fluorescence leaves of crymophilic grass of *Elytrigia repens* differs from similar dependencies obtained for poplar and birch. It is shown that in the spring and autumn periods the value of F_{734}/F_{682} increases as the temperature decreases. In the urban environment of the city of Krasnoyarsk parameter F_{734}/F_{682} is more resistant to the influence of pollutants, than the concentration of the amount of chlorophylls leaves of *Elytrigia repens*.