

УДК 551.510.536

**Комплексные исследования отклика
фотосинтетического аппарата ели сибирской
(*Picea obovata* Ledeb.)
на воздействие УФ-В-радиации**

**В.В. Зуев*, Н.Е. Зуева,
А.П. Зотикова, О.Г. Бендер, В.Л. Правдин**
*Институт мониторинга климатических
и экологических систем СО РАН
Россия 634055, Томск, пр. Академический, 10/3¹*

Received 3.12.2010, received in revised form 10.12.2010, accepted 17.12.2010

*Характер влияния ультрафиолетовой радиации на физиологические процессы растения зависит от длины волны, интенсивности и продолжительности облучения. В статье представлены результаты комплексного исследования влияния ультрафиолетовой радиации на фотосинтетический аппарат ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) на длине волны 308 нм при облученности, близкой к уровню радиации на данной длине волны в условиях «озоновой дыры», в течение 30 дней. Выделены периоды длительностью 7-8 дней, на границе которых в зависимости от возраста хвои существенно меняется отклик фотосинтетического аппарата на облучение. Так, в течение первой недели экспозиции, т.е. внутри естественного синоптического масштаба времени, значимых изменений функционального состояния фотосинтетического аппарата не происходит. Второй семидневный период характеризуется выраженным спадом содержания фотосинтетических пигментов, квантового выхода первичного разделения зарядов ФС II и интенсивности наблюдаемого фотосинтеза, увеличивается интенсивность дыхания, замедляется рост хвои текущего года. В течение 15 суток, что соответствует среднему времени жизни блокирующего антициклона при минимальных уровнях общего содержания озона, действие механизмов фотоадаптации не проявляется. В дальнейшем действие УФ-В-радиации стимулирует функционирование адапционных механизмов, в результате чего происходит восстановление пигментного фонда. Однако с последствиями аномальных по продолжительности (более трех недель) воздействий коротковолновой УФ-В радиации механизмы адаптации уже не справляются, что приводит к серьезным нарушениям структуры и функционального состояния фотосинтетического аппарата.*

Ключевые слова: ультрафиолетовая радиация, общее содержание озона, структура хвои, интенсивность фотосинтеза, адаптация, хлорофилл, квантовый выход.

Введение

В течение последних полутора столетий в атмосфере Земли наблюдается монотонный

рост концентрации диоксида углерода, одного из основных парниковых газов. Основной сток диоксида углерода из атмосферы осу-

* Corresponding author E-mail address: vvzuev@imces.ru

¹ © Siberian Federal University. All rights reserved

ществляется за счет фотосинтеза. Примерно половину поглощенного CO_2 растения возвращают в атмосферу при дыхании. При стрессовом воздействии, как правило, не только угнетаются процессы фотосинтеза, но и увеличивается интенсивность дыхания. Поэтому действие стрессоров на обширных территориях способствует накоплению диоксида углерода в атмосфере.

Значимую роль в стабилизации углеродного обмена играют бореальные леса, большая часть которых расположена на территории России, преимущественно в сибирской тайге. Над лесными массивами юга Западной Сибири фотосинтетическим стоком обусловлена внутригодовая изменчивость концентрации CO_2 в тропосфере (по крайней мере, до высоты ~ 7 км) с выраженным минимумом в летние месяцы (Зуев и др., 2005). В то же время таежные леса, основу которых составляют вечнозеленые хвойные деревья, наиболее чувствительны к воздействию как природных, так и антропогенных факторов (Кондратьев, Крапивин, 2004), причем негативные изменения могут накапливаться и усиливаться за счет кумулятивного эффекта (Šprtova et al., 1999).

Негативное влияние на фотосинтетический аппарат (ФСА) хвойных и, как следствие, на активность фотосинтеза может оказывать солнечная радиация биологически активного спектрального УФ-В-диапазона 300–310 нм, изменения приземного уровня которой регулируются преимущественно изменениями общего содержания озона (ОСО) (Зуева, 2008). Понижение ОСО, приводящее к увеличению уровня УФ-В-радиации, как правило, связано с формированием малоподвижного высокого антициклона или высотного барического гребня. Блокирующие антициклоны со временем жизни от пяти до семи суток (естественный синоптический масштаб) наблюдаются

в атмосфере регулярно (Хромов, Мамонтова, 1974). Однако повторяемость блокирующих антициклонов со временем жизни более 15 суток составляет всего около 1 %. Аномальное понижение ОСО относительно многолетней нормы может происходить при вулканогенных возмущениях стратосферы, как правило, носящих спорадический характер (Зуев, 2004). Наиболее высокий приземный уровень коротковолновой ультрафиолетовой радиации наблюдается в условиях возникновения «озоновой дыры» (при значениях ОСО менее 220 е.Д.). К регулярным изменениям уровня УФ-В радиации растительные организмы достаточно устойчивы. Чтобы противостоять повреждающему действию повышенных доз УФ-В-радиации, у растений в процессе эволюции сформировались механизмы защиты (Кузнецов, Дмитриева, 2005). В то же время последствия аномальных по уровню и продолжительности воздействий коротковолновой УФ-В-радиации могут быть значительными и необратимыми.

Чтобы оценить, насколько серьезными могут быть последствия влияния биологически активной части спектра УФ-В радиации и в течение какого времени механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата растения могут противостоять ему, мы провели комплексные исследования функционального состояния ФСА ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) при длительной экспозиции на длине волны 308 нм и облученности ~ 2 Вт/м², что фактически соответствует приземному уровню УФ-В-радиации на данной длине волны в условиях «озоновой дыры».

Материалы и методы

Для проведения эксперимента были выбраны саженцы ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) с закрытой корневой системой в возрасте 7 лет, выращенные в питомнике ИМ-

КЭС СО РАН в естественных условиях. Растения были помещены в вегетационную комнату (04.06.2010 г.) за две недели до начала эксперимента для адаптации к новым условиям. Влажность почвы в группах была постоянной за счет регулярных поливов. В помещении поддерживалась постоянная температура, $22 \pm 3^\circ \text{C}$, при относительной влажности воздуха $65 \pm 5\%$.

Необходимый уровень фоновой фотосинтетически активной радиации (ФАР) обеспечивали люминесцентными фитолампами Hagen Sun-Glo (Япония), создающими излучение, по своим спектральным характеристикам близкое к мягкому дневному свету (цветовая температура 4200 К). Освещенность менялась от 7000 лк для верхнего яруса елей до 2000 лк на уровне почвы, что практически соответствует распределению в ясный солнечный полдень в лесном массиве на средней географической широте Сибири. Фотопериод составлял 10 ч (07:00 – 17:00) при суточной экспозиции УФ-В в течение 8 ч (08:00 – 16:00).

В качестве источника УФ-В-радиации использовали ХеС1-эксилампу барьерного типа с узким максимумом на длине волны 308 нм (Ломаев и др., 2006), которая располагалась на расстоянии 35 см от объекта исследования, обеспечивая необходимый уровень облученности $\sim 2 \text{ Вт/м}^2$.

Поскольку коротковолновая УФ-В-радиация может стимулировать фотохимическую генерацию озона (O_3), повышенные концентрации которого оказывают существенное негативное влияние на листовую аппарат растений, его уровень в процессе эксперимента контролировался хемилюминесцентным газоанализатором 3.02.п (Россия), а вегетационная комната была обеспечена принудительной вентиляцией. Концентрация O_3 в течение всего периода наблюдений не превышала 30 мкг/м^3 . Базовые условия в течение

эксперимента не менялись, а учесть сезонные изменения позволили параллельные исследования контрольной группы растений.

Исследования проводили в три этапа. На каждом этапе формировалась новая экспериментальная группа из 3 саженцев ели. На *первом этапе* (18.06-09.08.2010) опытная группа растений подвергалась УФ-В-экспозиции в течение 3 недель (18.06-09.07.2010), затем источник коротковолновой радиации был отключен и по истечении месяца (09.08.2010) для выяснения пролонгированного действия УФ-В-радиации был произведен дополнительный отбор хвои с опытных и контрольных растений. В ходе эксперимента анализировали структурно-функциональные изменения и анатомическое строение ФСА опытной и контрольной групп. Исследовали динамику оводненности хвои, содержания и соотношения фотосинтетических пигментов, линейных размеров и толщины покровных тканей в двухлетней (второго года) хвое и в хвое текущего года (однолетней).

Содержание фотосинтетических пигментов определяли на спектрофотометре UV-1601PC (SHIMADZU, Япония) согласно принятым методикам (Шлык, 1971; Lichtenthaler, 1987). Для анатомических исследований хвоя фиксировалась в 70 % этаноле. Поперечные срезы толщиной 30 мкм производили в средней части хвои на замораживающем микротоме МЗ-2 (Россия) и помещали в глицерин. Все измерения анатомических показателей проводили на временных препаратах при помощи аппаратно-программного комплекса SIAMS MesoPlant, включающего микроскоп AxioStar Plus (Zeiss, Германия), видеокамеру Watec LCL 217 (Watec America Corporation, США) и специализированное программное обеспечение SIAMS MesoPlant (Россия).

На *втором этапе* (07.08-18.08.2010) исследовали межсуточную изменчивость ин-

тенсивности наблюдаемого фотосинтеза саженьцев ели при повышенной облученности на длине волны 308 нм (УФ- B_{308}). На время эксперимента для контроля межсуточной динамики наблюдаемого фотосинтеза опытную и контрольную группы, по 3 растения в каждой, помещали в ассимиляционные камеры. В остальном условия эксперимента оставались прежними. Измерение фоновых концентраций углекислого газа и концентраций CO_2 в камерах с облучаемыми УФ- B_{308} растениями и на контроле осуществлялось посредством инфракрасных газоанализаторов Li-820 (Li-Cor, США).

На третьем этапе (04.09-04.10.2010) проводили дистанционный анализ эффективности функционирования ФСА ели методом импульсно-модулируемой индукции флуоресценции хлорофилла, который, в отличие от стандартных методов диагностики, дает возможность оперативного получения информации о динамике функционального состояния фотосинтетического аппарата исследуемого объекта в целом. В ходе данного этапа эксперимента у растений, адаптированных к темноте, регистрировались фоновый (F_0) и максимальный (F_m) уровни флуоресценции, где в принятых обозначениях: F_0 – фоновый уровень флуоресценции, характеризующий долю хлорофилла, энергия которого не используется в прямых процессах фотосинтеза; F_m – максимальный уровень флуоресценции, обусловленный блокированием транспорта электронов на акцепторной стороне ФС II при восстановлении всех первичных хинонных акцепторов Q_A . Уровень F_m пропорционален содержанию хлорофилла a объекта. Динамику фотохимической активности ФС II оценивали по изменению максимального кван-

тового выхода разделения зарядов $\frac{F_m - F_0}{F_m}$

(Genty et al., 1989; Rosema et al., 1998; Гавриленко, Жигалова, 2003).

Для регистрации выхода флуоресценции и определения параметров, позволяющих оценить эффективность использования световой энергии в ходе первичных процессов фотосинтеза, создан автоматизированный экспериментальный стенд, блок-схема которого приведена на рис. 1.

Слабое (фоновое) световое возбуждение не вызывает заметных изменений фотосинтетического состояния растений, а регистрируемый при этом уровень флуоресценции адаптированного к темноте листа определяют как фоновый уровень флуоресценции хлорофилла (F_0). В разработанном нами стенде для генерации слабого возбуждающего света используется полупроводниковый лазер (4), имеющий следующие параметры: длина волны излучения 532 нм, длительность импульса 2 мкс, частота следования 2 кГц, выходная оптическая мощность 100 мВт. Для создания интегральной плотности потока фотонов ~ 1 мкмоль/($m^2 \cdot c$) применяется расширитель луча на основе двухлинзового коллиматора.

Для генерации насыщающего светового импульса применяется галогенная лампа (3) Philips (ELC/5H 24V 250W, КНР), создающая освещенность на исследуемом объекте ~ 2500 мкмоль/($m^2 \cdot c$) в спектральном диапазоне 340÷630 нм, который вырезается из спектра излучения лампы с помощью светофильтра СЗС21 (10). Мощный световой импульс длительностью 2 с переводит все реакционные центры ФС II в неактивное состояние и регистрируется максимальный уровень флуоресценции (F_m).

Режим работы источников ФАР (1) и УФ- B_{308} (2)-радиации регламентируется таймером. В данном случае измерения проводили один раз в сутки после отключе-

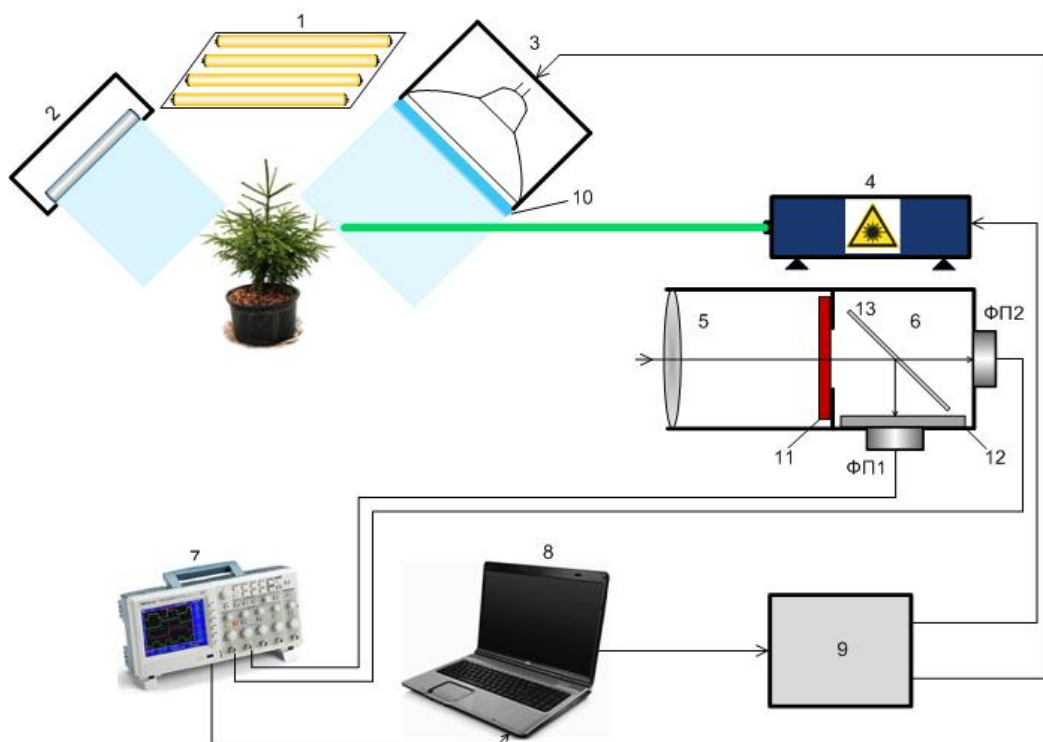


Рис. 1. Блок-схема экспериментального стенда для измерения выхода флуоресценции: 1 – люминесцентные фитолампы Sun Glo, 2 – Хе-Сl-эксилампа, 3 – галогенная лампа Philips, 4 – полупроводниковый лазер, 5 – приемная система, 6 – блок фотоприемников, 7 – регистратор, 8 – компьютер, 9 – схема управления, 10 – светофильтр СЗС21, 11 – светофильтр КС19, 12 – нейтральный светофильтр НС11, 13 – светоделительная пластина

ния источников радиации. Время темновой адаптации растений, необходимое для полного восстановления реакционных центров ФС II и перехода Q_A в окисленное состояние, составляло, 30 мин (Гавриленко, Жигалова, 2003).

Включение источников фонового света и насыщающего светового импульса осуществляется управляющим компьютером с программным обеспечением (8) через схему управления (9). Первоначально для регистрации F_0 на 5 с включается полупроводниковый лазер (4), затем на 2 с включается галогенная лампа (3) и измеряется уровень F_m . Регистрация излучения флуоресценции реализуется через приемную систему, состоящую из линзового объектива (5), красного светофильтра КС19 (11) со спектральной

полосой пропускания на длинах волн более 680 нм для отсекающего фона рассеянного возбуждающего света и блока фотоприемников (6), включающего светоделительную пластину (13) с коэффициентами пропускания 90 % и отражения 10 % и двух фотодиодов ФД-24К (ФП1 и ФП2). При регистрации F_m для предотвращения насыщения фотоприемника ФП1 перед ним поставлен нейтральный светофильтр НС11 (12), дополнительно ослабляющий сигнал на два порядка. Ослабители подобраны таким образом, что амплитуды сигналов F_0 и F_m соотносятся примерно как 1:6. Оцифровка и регистрация сигналов осуществлялась с помощью 4-канального осциллографа Tektronix TDS2022B (США) (7). Погрешности измерения F_0 и F_m составляют $\pm 3\%$.

Результаты и обсуждение

Анализ структурно-функциональных изменений ФСА ели сибирской

Для выявления влияния УФ-В-радиации на оводненность хвои определяли содержание воды (и сухого вещества) в контрольных и опытных растениях. Для хвои второго года измерения были проведены в начале и в конце первого этапа эксперимента, а в хвое текущего года только в конце, так как к началу эксперимента она находилась под покровом почечных чешуй. Данные о содержании воды в хвое приведены в табл. 1. Очевидно, что действие дополнительных, предусмотренных условиями эксперимента, доз УФ-В-радиации фактически не оказывает значимого влияния на оводненность хвои.

Особое внимание при обработке полученных результатов было уделено анализу содержания и соотношения фотосинтетических пигментов, поскольку изменение этих параметров является неспецифическим индикатором в ответ на воздействие природных и антропогенных факторов. Однако в контексте наших исследований наибольшее значение имеет анализ тенденции изменений содержания хлорофилла *a*, каротиноидов и доли каротиноидов в пигментном комплексе (соотношение содержания хлорофиллов и каротиноидов). Известно, что действие коротковолновой УФ-В-радиации провоцирует возникновение в клетках растений активных форм кислорода, способных инактивировать ферменты, повреждать ДНК, структуру белков и мембран (Кузнецов, Дмитриева, 2005). В

этом случае каротиноиды выполняют функцию антиоксидантов. Будучи легко окисляющимися веществами, они играют роль акцепторов кислорода, связывая перекисные соединения и предохраняя пигмент-белковые комплексы фотосинтетических мембран и хлорофилл от фотоокисления (Maslova, Popova, 1993). Следовательно, их доля в пигментном фонде является важной характеристикой, свидетельствующей о функционировании адаптационных механизмов. Динамика содержания хлорофилла *a*, каротиноидов и доли каротиноидов в пигментном комплексе представлена на рис. 2.

В начальной стадии эксперимента содержание пигментов в хвое второго года опытных и контрольных растений было приблизительно равным (достоверных различий не обнаружено). Но уже к началу второй недели облучения (выделенная область на рис. 2 а, б) наблюдался выраженный спад содержания фотосинтетических пигментов как хлорофилла *a*, так и каротиноидов (на 35,7 и 13,9 % соответственно). Поскольку фотодеструкция каротиноидов проявляется в меньшей степени, отмечено некоторое повышение их доли в пигментном комплексе (рис. 2 в). Однако наиболее подверженной негативному влиянию УФ-В-радиации (судя по различию пигментного фонда контрольных и опытных образцов) оказалась хвоя текущего года. На фоне более низкой доли каротиноидов в пигментном комплексе (рис. 2 в) содержание хлорофилла *a* и каротиноидов в опыте оказалось, соответствен-

Таблица 1. Общее содержание воды в хвое ели, % от сырого веса

Дата	Хвоя второго года		Хвоя текущего года	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
18.06.2010	50	49	—	—
09.07.2010	44	43	55	52

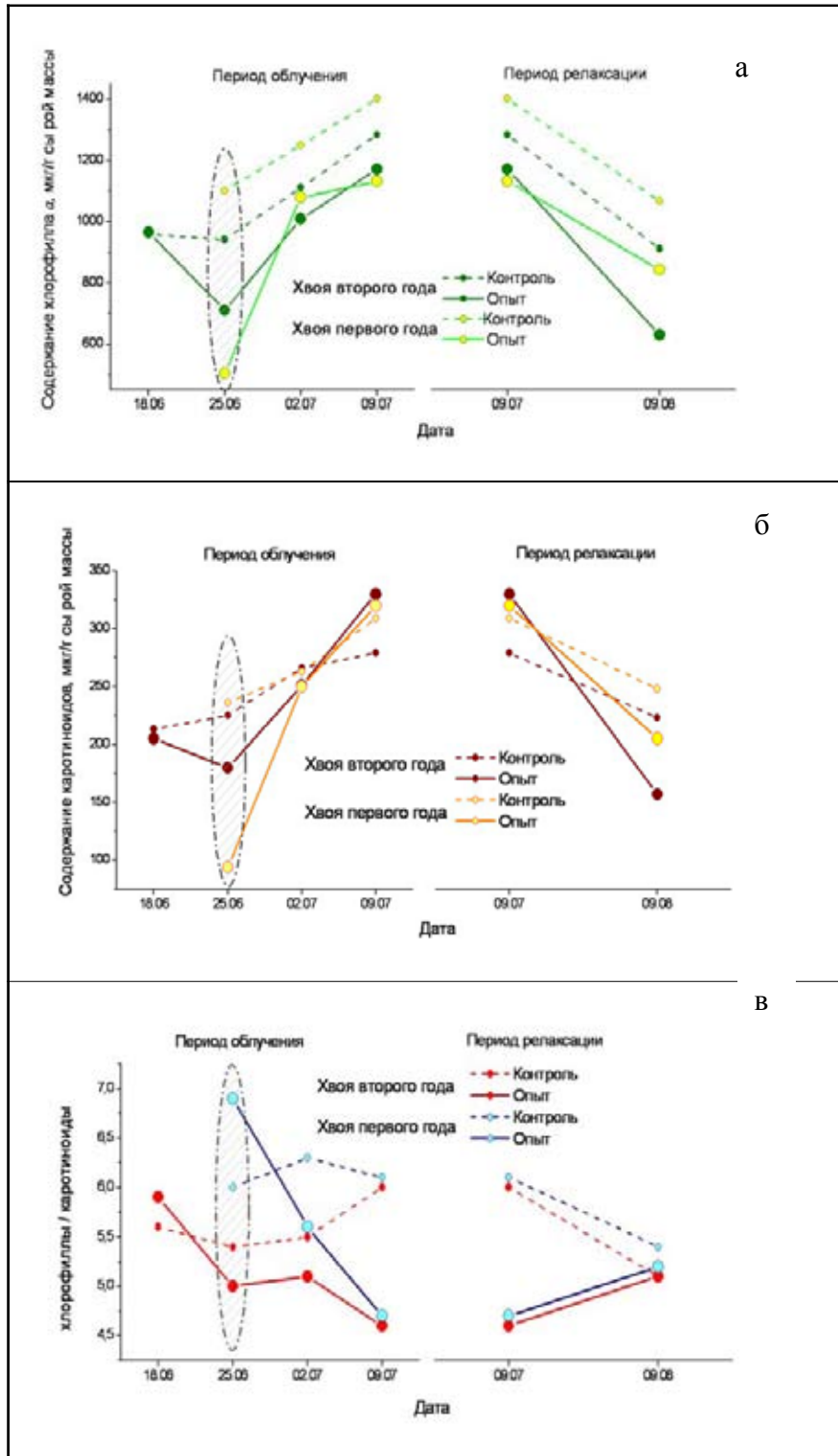


Рис. 2. Динамика содержания хлорофилла *a* (а), каротиноидов (б) и доли каротиноидов в пигментном комплексе (в) в хвое первого и второго годов за указанный период (выделены результаты, полученные после экспозиции экспериментальной группы в течение 7 дней)

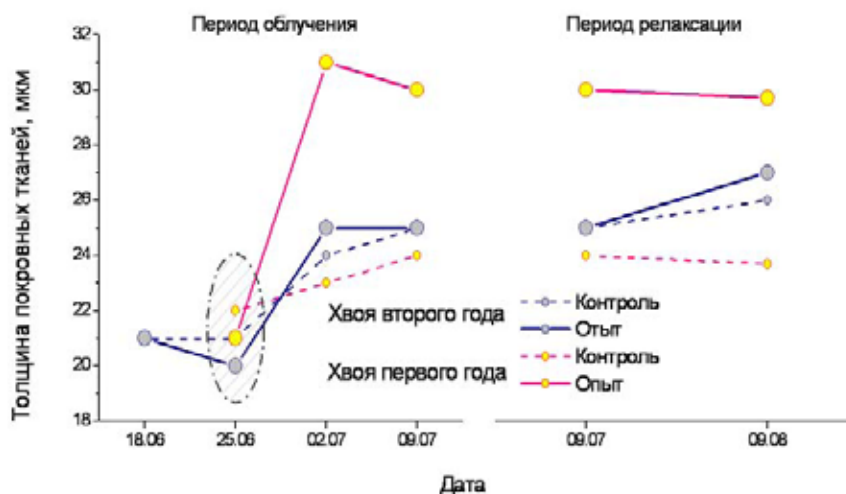


Рис. 3. Изменение толщины покровных тканей в хвое первого и второго годов (выделены результаты, полученные после экспозиции экспериментальной группы в течение 7 дней)

но, в 2,2 и в 2,5 раза меньше, чем в контрольных растениях.

Важную роль в защите ФСА растений от УФ-В-радиации играет эпидерма листа. Поэтому одной из адаптивных реакций растения считается утолщение покровных тканей листовой пластинки. Изменение толщины покровных тканей в двухлетней хвое и в хвое текущего года саженцев ели контрольной и экспериментальной группы показано на рис. 3.

Очевидно, что к началу второй недели облучения толщина покровных тканей достоверно не изменилась и имела достаточно близкие значения указанного параметра как в опыте, так и в контрольной группе (рис. 3, выделенная область).

Данные, полученные после двухнедельной экспозиции, свидетельствуют о фотоадаптации растений опытной группы к повышенному уровню УФ-В-радиации. Существенно выросло содержание контролируемых пигментов, и, хотя количество хлорофилла *a* не достигло значений контроля, содержание каротиноидов оказалось достаточно близким к нему (рис. 2 а, б). Следует особо отметить, что в экспонированной хвое

первого года существенно возросла доля каротиноидов в пигментном комплексе (на 23,2 %) (рис. 2 в). Кроме того, на фоне незначительного утолщения покровных тканей листовых пластинок второго года, вероятно, сезонного характера, толщина покровных тканей хвои текущего года в опыте на 34,8 % превысила аналогичный параметр в контрольной группе (рис. 3).

К окончанию основной части первого этапа эксперимента после трехнедельного облучения опытной группы растений по-прежнему сохранилась тенденция к накоплению хлорофилла *a* в хвое второго года, при этом его количество в хвое первого года фактически не изменилось (рис. 2 а). Продолжился рост содержания каротиноидов (рис. 2 б), что привело к увеличению их доли в пигментном фонде (рис. 2 в). Значимых изменений толщины покровных тканей в течение третьей недели облучения не наблюдалось (рис. 3).

Одним из критериев переживаемого растением стресса является изменение скорости роста его листьев. Поэтому, в дополнение к исследованию функциональных изменений, на первом этапе эксперимента проводили

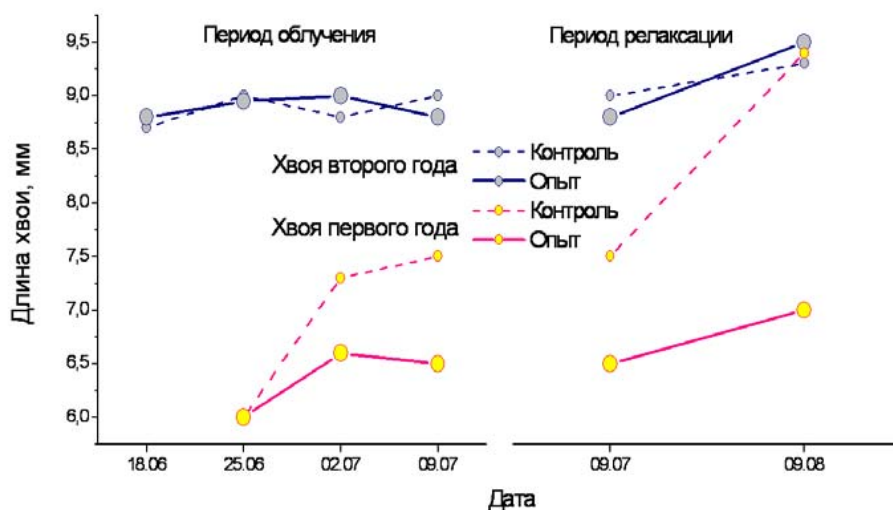


Рис. 4. Изменение длины хвои первого и второго годов

морфологический анализ хвои, в ходе которого определяли ее линейные размеры. Изменение длины хвои за период наблюдений показано на рис. 4.

На фоне неизменной длины хвои второго года, которая уже закончила рост, явно проявилось угнетающее действие ультрафиолетовой радиации на хвою текущего года. Анализ динамики роста показал достоверные различия в опытной и контрольной группах уже после двух недель облучения. После трех недель воздействия УФ-В-радиации линейные размеры хвои первого года экспериментальных растений оказались на 15,4 % ниже, чем в контроле.

Исследование анатомического строения хвои второго года елей, экспонированных УФ-В₃₀₈, выявило изменение окраски содержимого клеток эпидермы и устьиц. Можно предположить, что наряду с увеличением содержания каротиноидов в хлоропластах в клеточной стенке происходит накопление защитных веществ фенольной природы, поглощающих коротковолновую УФ-В-радиацию (Smith et al., 2000). В результате содержимое эпидермальных клеток приобрело желтоватую окраску.

Чтобы проверить справедливость данного предположения и убедиться в том, что изменение окраски не является результатом деградации клеток эпидермы, а также оценить пролонгированное действие повышенных доз УФ-В₃₀₈-радиации, было проведено исследование хвои участвующих в эксперименте саженцев через месяц после прекращения облучения. Результаты измерений также представлены на рис. 2-4.

В течение периода релаксации произошло снижение содержания пигментов хвои опытной группы. Поскольку аналогичные изменения регистрировались в контрольной группе растений, наблюдаемый спад содержания пигментов служит проявлением сезонных изменений. Однако количество хлорофилла *a* в хвое экспериментальной группы осталось ниже, чем в контроле, а уменьшение содержания каротиноидов происходило более интенсивно (рис. 2 а, б). При устранении стрессора исчезла необходимость функционирования механизмов адаптации. В результате, на фоне сезонного роста доли каротиноидов в пигментном комплексе растений в контроле, произошло уменьшение их доли в пигментном комплексе опытной группы

(рис. 2 в). Достоверных изменений толщины покровных тканей хвои в течение месяца не зарегистрировано (рис. 3).

Динамика роста хвои первого года в контрольной группе отражала сезонную изменчивость, и к окончанию периода наблюдений ее длина достигла линейных размеров двухлетней хвои. В опытной группе, несмотря на устранение стрессового фактора, длина хвои первого года за весь последующий период наблюдений фактически не изменилась (рис. 4), а отставание по отношению к контролю достигло 37 %.

Исследование анатомического строения образцов хвои показало, что желтоватая окраска содержимого эпидермальных клеток полностью исчезала и, следовательно, была результатом накопления защитных веществ.

Динамика суточного хода наблюдаемого фотосинтеза

Непрерывные измерения CO_2 в ассимиляционных камерах выполняли циклами по трое суток в связи с необходимостью периоди-

ческой просушки системы воздушной прокачки газоанализатора Li-820. Первые два цикла не выявили значимых различий в суточном ходе наблюдаемого фотосинтеза в опытной и контрольной группе. При этом амплитуды суточных колебаний и максимальные значения концентрации CO_2 в закрытых ассимиляционных камерах всегда были выше, чем в открытой атмосфере. Однако в третьем цикле (с 18⁰⁰ 15.08 по 16⁰⁰ 18.08.2010), начавшемся на восьмые сутки экспозиции, были зарегистрированы выраженные различия суточного хода CO_2 в опытной и контрольной группах. Данные динамики наблюдаемого фотосинтеза и фоновых концентраций CO_2 (фон) в этот период отображены на рис. 5.

Полученные кривые показывают суточный ход CO_2 с выраженным послеполуденным минимумом и утренним максимумом. В контрольной группе значения концентраций диоксида углерода в экстремумах в течение цикла практически не менялись. В камере с опытными растениями проявился спад интенсивности наблюдаемого фотосинтеза. За

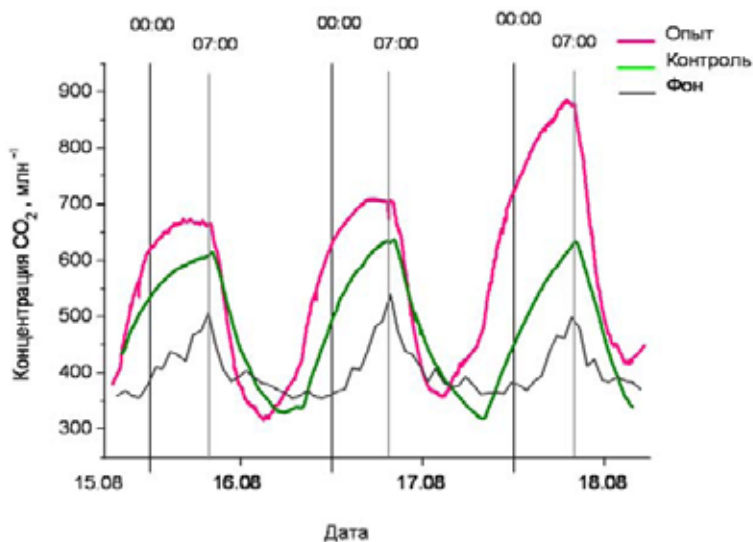


Рис. 5. Динамика наблюдаемого фотосинтеза саженцев ели сибирской опытной и контрольной групп и фоновых концентраций CO_2 (вертикальными линиями отмечено местное время: черными – начало текущих суток, серыми – время включения источника ФАР)

период, представленный на рис. 5, минимальные суточные концентрации CO_2 выросли на 32,5 %. Кроме того, существует посуточный рост концентрации углекислого газа в утренние часы, что свидетельствует о значительном увеличении интенсивности дыхания опытных растений вследствие стресса, вызванного действием УФ- B_{308} -радиации.

Таким образом, воздействие дополнительных доз ультрафиолетовой радиации на длине волны 308 нм в течение временного периода, превышающего 7 дней, снижает интенсивность наблюдаемого фотосинтеза и увеличивает интенсивность дыхания. Отметим, что оводненность хвои в опытных и контрольных образцах растений не изменялась.

Дистанционные измерения индукции флуоресценции хлорофилла ели сибирской

На третьем этапе эксперимента у адаптированных к темноте растений, которые в течение месяца подвергались воздействию УФ- B_{308} -радиации, регистрировали фоновый (F_0) и максимальный (F_m) уровни флуоресценции, по которым определяли квантовый выход первичного разделения зарядов ФС II

$$\frac{F_m - F_0}{F_m}$$

за период наблюдений (04.09-04.10.2010) представлено на рис. 6.

На данном временном интервале можно выделить четыре характеристичных периода длительностью 7-8 дней, на границе которых поведение рассматриваемых параметров существенно меняется. Очевидно, что в течение первой недели облучения значимых изменений не наблюдалось. Следовательно, фотосинтетический аппарат ели обладает достаточной устойчивостью, чтобы противостоять

влиянию стрессора, оказывающего ежесуточное 8-часовое воздействие.

Угнетающее действие УФ- B_{308} -радиации проявилось в течение второй недели облучения. Наблюдался выраженный суточный спад максимального уровня флуоресценции F_m (рис. 6 а), что свидетельствует о существенном снижении количества хлорофилла a в хвое опытных растений. Полученный результат хорошо согласуется с данными первого этапа эксперимента, представленными на рис. 2 а. Зарегистрированный в этот период спад величины квантового выхода (рис. 6 б) также свидетельствует об ухудшении функционального состояния ФС II. Именно в этот временной период отмечено нарастающее подавление наблюдаемого фотосинтеза (рис. 5).

На границе II и III периодов зарегистрирован рост интенсивности F_m , хотя уровень ее не достиг значений, которые фиксировали в течение первой недели экспозиции (рис. 6 а). Повышение значений F_m свидетельствует об увеличении содержания хлорофилла a в хвое облучаемых растений, что согласуется с результатами структурного анализа (рис. 2 а). В этот же период наблюдался рост квантового выхода первичных фотохимических про-

$$\text{цессов } \frac{F_m - F_0}{F_m} \text{ (рис. 6 б). Таким образом,}$$

механизмы адаптации в хвое ели сибирской значительно активизируются, когда период воздействия повышенных доз приземной коротковолновой УФ- B -радиации сопоставим с временем жизни блокирующего антициклона (до 15 суток).

Регистрируемый уровень сигнала фоновой флуоресценции F_0 позволяет оценить тенденции изменения доли неактивного хлорофилла исследуемого объекта, энергия которого не используется в прямых процессах фотосинтеза (рис. 6 в). Очевидно, что трех-

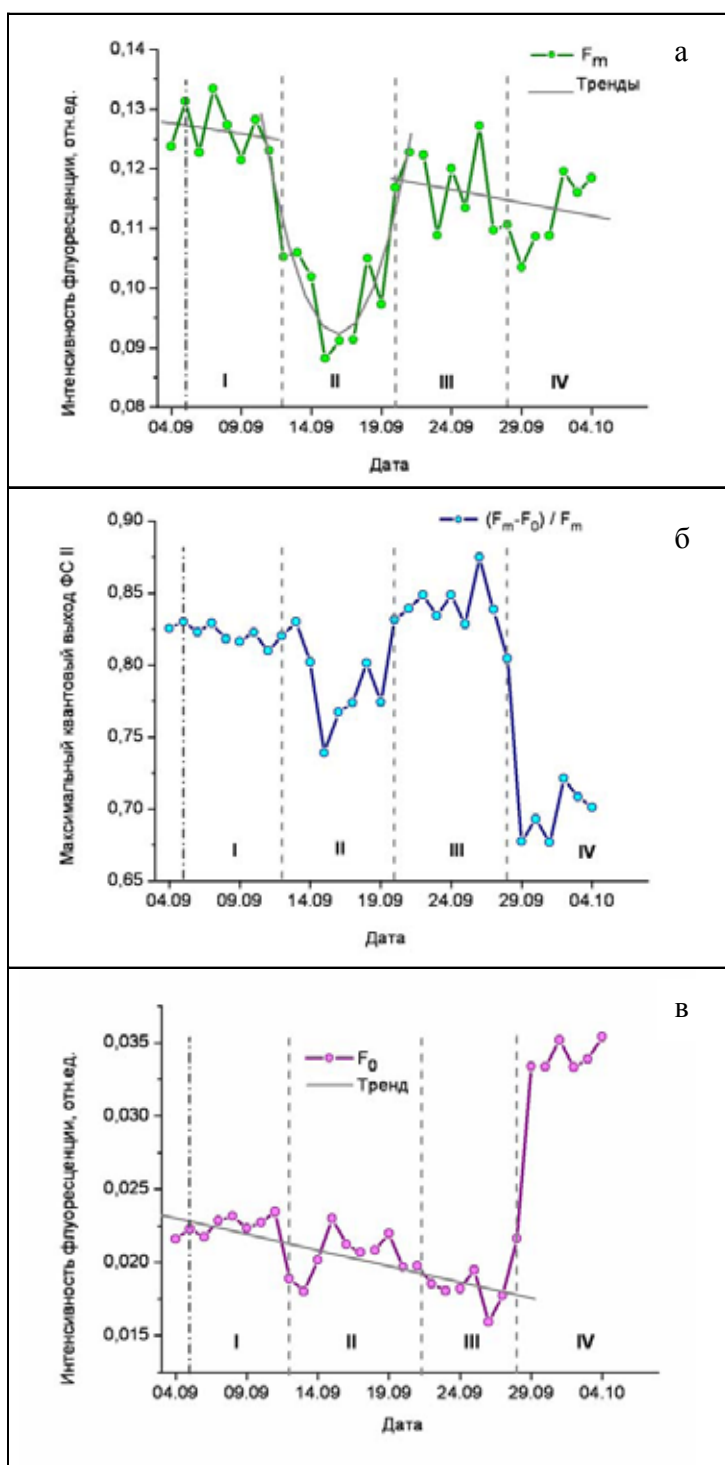


Рис. 6. Временной ряд суточных изменений интенсивности максимальной (F_m) флуоресценции (а),

квантового выхода первичного разделения зарядов ФС II $\frac{F_m - F_0}{F_m}$ (б) и фоновой (F_0) флуоресценции (в)

адаптированных к темноте растений при воздействии повышенных доз УФ- B_{308} -радиации (пунктирными линиями обозначены границы характеристичных периодов и дата начала облучения)



Рис. 7. Структура клеток мезофилла двухлетней хвои ели сибирской после 30-дневного воздействия УФ- B_{308} -радиации

недельное воздействие УФ- B_{308} -радиации проявилось в монотонном снижении данного параметра в хвое, главным образом, в течение II и III периодов.

При воздействии повышенных доз УФ- B_{308} -радиации более трех недель (IV период; рис. 6 а) на фоне отрицательного тренда F_m максимально высоким становится уровень фоновой флуоресценции (рис. 6 в), что свидетельствует о резком увеличении доли неактивного хлорофилла. В то же время происходит выраженный спад фотохимической активности ФС II, квантовый выход первичного разделения зарядов достигает своих минимальных значений за период наблюдений.

Анатомический анализ облученной хвои второго года, проведенный по окончании эксперимента, показал серьезные нарушения в структуре органелл клеток мезофилла по сравнению с контролем (рис. 7). Так, в контроле хлоропласты клеток характеризуются четкими очертаниями, а ядра содержат хорошо различимый диффузный хроматин. В опытных образцах отдельные хлоропласты практически невозможно различить, их контуры расплывчаты и нечетки. Вероятно, это связано с изменением прозрачности цитоплаз-

мы, в которую они погружены. В клеточных ядрах хроматин практически не различим, их содержимое не структурировано. Отметим, что изменение окраски клеток эпидермы не регистрируется.

Оценить степень длительного воздействия повышенных доз УФ- B_{308} -радиации на хвою второго года ели сибирской позволяют сравнительные данные структурно-функционального анализа, проведенного по окончании третьего этапа эксперимента (табл. 2). Содержание хлорофилла *a* в опыте оказалось на 38,8 % меньше, чем в контроле при незначительном различии в содержании каротиноидов (6,4 %). При этом показатель доли каротиноидов в пигментном комплексе в опыте на 43,7 % ниже, чем в контроле. Поскольку к моменту начала третьего этапа эксперимента растения входили в одну контрольную группу, тенденцию сезонных структурных изменений можно проследить, используя заключительные данные для контрольной группы елей первого этапа эксперимента (данные на 09.08.2010 в табл. 2).

Таким образом, результаты комплексного эксперимента показали, что фотосинтетический аппарат ели сибирской устойчив к

Таблица 2. Содержание хлорофилла *a*, суммы каротиноидов (мкг/г от сырого веса) и соотношение фотосинтетических пигментов в хвое второго года ели сибирской по окончании третьего этапа эксперимента

Параметры	Контроль	Опыт	*Данные на 09.08.2010
Хлорофилл <i>a</i>	908±12	654±10	911±11
Сумма каротиноидов	264±5	281±5	223±6
Хлорофиллы/каротиноиды	4,6	3,2	5,1

* В течение первого этапа эксперимента растения входили в состав контрольной группы.

воздействию УФ-В-радиации в течение временных масштабов естественных синоптических процессов. Активизация механизмов защиты ФСА ели сибирской проявляется только при аномальной в естественных условиях продолжительности воздействия УФ-В-радиации, около 15-23 суток. Адаптация хвои к УФ-В-облучению осуществляется на различных уровнях организации и определяется ее возрастом. В хвое первого года фотозащита ФСА реализуется преимущественно на структурном уровне в результате утолщения покровных тканей, хвоя второго года адаптируется на биохимическом уровне за счет синтеза и накопления защитных веществ (вероятно, флавоноидов) в клетках эпидермы. Угнетающее действие повышенных доз УФ-В-радиации отражается преимущественно на динамике морфологических параметров хвои первого года. Влияние повышенных доз радиации в течение времени, превышающего период синоптических колебаний, практически блокирует ее рост. Критичным с точки зрения влияния на ФСА хвои ели сибирской оказалось воздействие повышенных доз УФ-В₃₀₈-радиации более трех недель. При долговременной аномальной экспозиции механизмы фотоадаптации уже не справляются с нагрузкой. В хвое облучаемых растений регистрируется резкий спад концентрации хлорофиллов, в том числе и хлорофилла *a*, сопровождающийся выраженным ростом доли неактивного хлорофилла. Происходит стре-

мительное снижение фотохимической активности ФС II. Фиксируются серьезные повреждения клеток мезофилла.

Заключение

Отклик фотосинтетического аппарата ели сибирской (*Picea obovata*) на длительное облучение повышенными дозами УФ-В-радиации с длиной волны 308 нм зависит от продолжительности облучения и возраста хвои. Причем в динамике структурно-функциональных изменений ФСА прослеживается выраженная закономерность. К кратковременному воздействию в границах естественного синоптического периода фотосинтетический аппарат ели толерантен. Однако более длительное облучение приводит к серьезным изменениям: уменьшается содержание фотосинтетических пигментов, в том числе хлорофилла *a* и каротиноидов, снижается квантовый выход первичного разделения зарядов ФС II и интенсивность наблюдаемого фотосинтеза, увеличивается интенсивность дыхания, хвоя текущего года начинает отставать в росте.

Полученные результаты дают основание полагать, что снижение интенсивности фотосинтеза бореальных лесов в течение последних двадцати лет (Bunn, Goetz, 2006) в значительной степени обусловлено длительным превышением приземных доз УФ-В-радиации в период вулканогенной депрессии озоносферы в 80-90-х гг. прошлого столетия.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №08-05-00558-а и проекта Президиума РАН №4.10.

Список литературы

Гавриленко В.Ф, Жигалова Т.В. (2003) Большой практикум по фотосинтезу / Под ред. И.П. Ермакова. М.: Издательский центр «Академия», 256 с.

Зуев В.В. (2004) Лидарный контроль стратосферы. Новосибирск: Наука, 307 с.

Зуев В.В., Белан Б.Д., Зуева Н.Е., Инойе Г., Мачида Т. (2005) Связь стока углекислого газа из атмосферы над бореальными лесами Сибири с колебаниями озоносферы. Оптика атмосферы и океана. 18 (7): 618-620.

Зуева Н.Е. (2008) Связь изменений биологически активной УФ-В солнечной радиации с колебаниями общего содержания озона. Журнал Сибирского федерального университета, Биология. 1 (4): 345-357.

Кондраатьев К.Я., Крапивин В.Ф. (2004) Моделирование глобального круговорота углерода. М.: ФИЗМАТЛИТ, 336 с.

Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. (2005) Физиология растений. М.: Высшая школа, 737 с.

Ломаев М.И., Соснин Э.А., Тарасенко В.Ф., Шитц Д.В., Скакун В.С., Ерофеев М.В., Лисенко А.А. (2006) Эксилампы барьерного и емкостного разрядов и их применение (обзор). Приборы и техника эксперимента. №4: 1-22.

Хромов С.П., Мамонтова Л.И. (1974) Метеорологический словарь. Л.: Гидрометеиздат, 568 с.

Шлык А.А. (1971) Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. В: Биохимические методы в физиологии. М.: Наука, с. 154 – 170.

Bunn A.G., Goetz S.J. (2006) Trends in satellite-observed circumpolar photosynthetic activity from 1982 to 2003: the influence of seasonality, cover type, and vegetation density. Earth Interactions. 10(12): 1-11.

Genty B., Briantais J.M., Baker N.R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta. 990 (1): 87-92.

Lichtenthaler H.K. (1987) Chlorophylls and Carotenoids. In: Methods Enzymol. V.148, Pigments of Photosynthetic Biomembranes, p. 350-383.

Maslova T.G., Popova I.A. (1993) Adaptive properties of the plant pigment systems. Photosynthetica. 29 (2): 195-203.

Rosema A., Snel J.F.H., Zahn H., Buurmeijer W.F., Van Hove L.W.A. (1998) The relation between laser-induced chlorophyll fluorescence and photosynthesis. Remote Sensing of Environment. 65 (2): 143-154.

Smith J.L., Burritt D.J., Bannister P. (2000) Shoot dry weight, chlorophyll and UV-B-absorbing compounds as indicators of a plant's sensitivity to UV-B radiation. Annals of Botany. 86: 1057-1063.

Šprtova M., Marek M.V., Nedbal L., Prasil O., Kalina J. (1999) Seasonal changes of photosynthetic assimilation of Norway spruce under impact of enhanced UV-B radiation. Plant Science. 142: 37-45.

Integrated Studies of the Response of the Photosynthetic Apparatus of the Siberian Spruce (*Picea obovata* Ledeb.) to the Effects of UV-B Radiation

Vladimir V. Zuev*,
Nina E. Zueva, Albina P. Zotikova,
Olga G. Bender and Vladimir L. Pravdin
*Institute for Monitoring of Climatic
and Ecological Systems SB RAS,
10/3 Akademichesky, Tomsk, 634055 Russia*

*The nature of the effect of ultraviolet radiation on the physiological processes of plants depends on the wavelength, intensity and the duration of the exposure. The article presents the results of the integrated study of the effect of ultraviolet radiation on the photosynthetic apparatus of the Siberian spruce (*Picea obovata* Ledeb.) at a wavelength of 308 nm and the irradiation, which is close to the level of radiation at a given wavelength in the "ozone hole" within 30 days. The periods of 7-8 days are distinguished. At the boundaries of these periods the response of the photosynthetic apparatus to irradiation varies significantly, depending on the age of the needles. So during the first week of exposure, i.e. within the natural synoptic time-scale, there are no significant changes in the functional state of the photosynthetic apparatus. The second week is characterized by a pronounced decline in photosynthetic pigment content, the quantum yield of primary charge separation of PS II and the intensity of the observed photosynthesis. There is also a respiration increase and the growth of pine needles of the current year is slowing down. In fact, within 15 days, which correspond to an average lifetime of a blocking anticyclone at the lowest levels of total ozone, the action of photo adaptation mechanisms is not observed. Furthermore, the effect of UV-B radiation stimulates the functioning of adaptive mechanisms, resulting in the restoration of the pigment fund. However, the adaptation mechanisms can no longer cope with the effects of abnormal duration influences (more than 3 weeks) of the short UV-B radiation and this leads to serious structural failures and malfunction of the photosynthetic apparatus.*

Keywords: ultraviolet radiation, total ozone needle structure, photosynthetic intensity, adaptation, chlorophyll, quantum yield.
