

## БИОЛОГИЯ

УДК 581.132.:582.475.4

Р.О. Собчак, А.П. Зотикова

## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫСОКОГОРЬЯ НА АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ХВОИ СОСНЫ СИБИРСКОЙ

Приведены результаты морфоанатомических и физиологических исследований хвои *Pinus sibirica* Du Tour разного возраста. Установлено, что в условиях Горного Алтая продолжительность жизни хвои достигает семи лет. Соотношение анатомических структур по мере старения хвои кедрового не претерпевает возрастных изменений. Однако с возрастом изменяется и содержание пигментов, число хлоропластов и их фотосинтетическая активность.

**Ключевые слова:** *Pinus sibirica*; анатомо-физиологические показатели хвои; Республика Алтай; возрастные изменения.

Многолетнее существование листового аппарата хвойных обуславливает наличие у него ряда структурных [1] и функциональных [2, 3] особенностей по сравнению с покрытосеменными растениями. Процессы старения хвои голосеменных в отличие от листопадных и вечнозеленых двудольных растений варьируют от одного года у лиственницы до 12–15 лет у ели [4]. Вместе с тем продолжительность жизни хвои различна в пределах одного вида и зависит от географической точки произрастания [5], светового режима [6], увлажнения почвы [7]. Условия высокогорья Алтая характеризуются комплексом неблагоприятных факторов: снижением парциального давления  $\text{CO}_2$  и  $\text{O}_2$ , повышением доз озона и ультрафиолета, резкими перепадами температур, уменьшением вегетационного периода и др. Воздействие вышеперечисленных особенностей горного климата на растения предполагает специфику роста и развития листового аппарата.

Целью данной работы явилось изучение структурно-функциональных особенностей разновозрастной хвои кедрового (*Pinus sibirica* Du Tour), произрастающего в горных условиях.

Сбор образцов проводили на площадке, расположенной на пологом участке моренного комплекса ледника правый Актру на высоте 2350 м над ур. м. Пробы брали с деревьев 60–80-летнего возраста со среднестатистическими показателями роста и развития в августе. В этот период фотосинтетический аппарат хвои обычно имеет оптимальное развитие пигментной системы и анатомической структуры. Изучение физиологических характеристик проводили на среднем образце хвои, отобранном из 4–5 женских ветвей из верхней части кроны с четырех деревьев. Хвою отбирали по всей длине побегов, начиная с прироста текущего года и заканчивая последним охвоенным приростом. Содержание пигментов определяли спектрофотометрически [8]. Изолирование хлоропластов из хвои и определение их функциональной активности проводили согласно [9, 10]. Хвою растирали в среде выделения следующего состава: 0,05 М трис- $\text{HCl}$ -буфер pH 8,0; 0,4 М сахараза; 1 мМ ЭДТА; 1 мМ  $\text{MgCl}_2$ ; 0,5% бычий альбумин. Функциональную активность хлоропластов определяли спектрофотометрически с использованием феррицианида калия. Реакционная смесь содержала: 100 мкМ трис, pH 7,4; 10 мкМ  $\text{NaCl}$ ; 10 мкМ  $\text{MgCl}_2$ ; 3 мкМ  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ; 4 мкМ АДФ + 10 мкМ

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Реакции измеряли при освещении кюветы белым светом интенсивностью 150 Вт/м<sup>2</sup>.

Для анатомических исследований хвою фиксировали в 70%-ном спирте, из средней части хвои делали поперечные срезы на замораживающем микротоме. Ряд производных показателей морфологии хлоропластов рассчитывали, используя методику Мокроносова [11]. Повторность измерений морфологических и анатомических показателей хвои была 30–40-кратная, измерений числа и параметров хлоропластов 40–60-кратная.

На рис. 1 и в табл. 1–3 приведены средние арифметические и их стандартные ошибки. Уровень достоверной вероятности был задан равным 95%.

Проведенные исследования показали, что при произрастании кедрового на моренном комплексе ледника Актру (2350 м над ур. м.) хвоя сохранялась на деревьях до 7 лет. По данным других авторов, на ряде видов хвойных растений также показано, что срок жизни хвои при произрастании деревьев в горных условиях увеличивается по сравнению с растениями равнин [12, 13]. Кроме того, продолжительность жизни хвои увеличивается по мере продвижения с юга на север [14]. По-видимому, более длительное сохранение хвои прошлых лет компенсирует существенное сокращение продолжительности сезонного роста в верхнем поясе гор. У хвои разного возраста были различны количественные показатели длины и площади поверхности хвои (рис. 1). Большое варьирование длины хвои, скорее всего, связано с погодными условиями в различные годы. Известно, что рост хвои зависит от погодных условий как во время заложения почек [15], так и в период роста хвои [16].

Размер смоляных ходов, площадь центрального цилиндра и мезофилла определяют степень дифференцировки листа. Абсолютные значения этих показателей варьировали в хвое разного возраста (рис. 1). Однако отношения суммарной площади смоляных ходов и жилки к площади мезофилла были практически одинаковы, т.е. в процессе старения хвои соотношения ассимилирующей, проводящей и смолоносной структур не изменяются. По-видимому, такое первоначально сформированное соотношение тканевых структур является оптимальным для жизнедеятельности листового аппарата.

Анализ характеристик пластидного аппарата показал, что число хлоропластов уменьшалось с возрастом хвои, в то время как объем хлоропласта не изменялся (табл. 1).

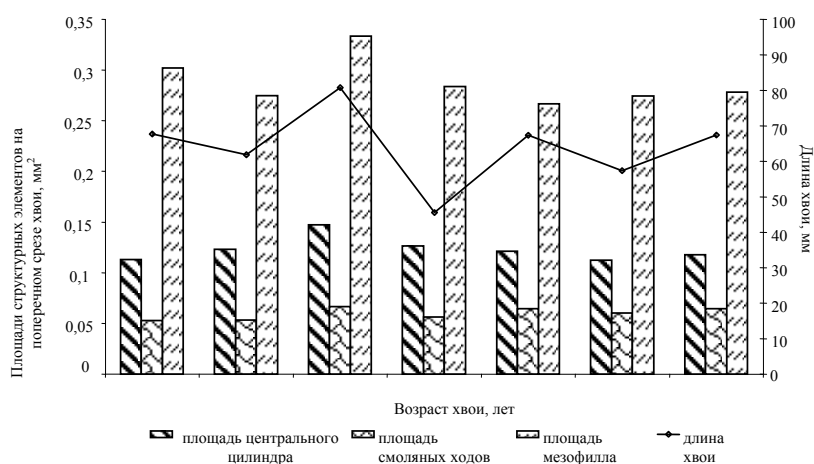


Рис. 1. Изменение морфоанатомических структур в зависимости от возраста хвои

По нашим наблюдениям, число хлоропластов уменьшалось с трехлетнего возраста хвои, что приводило к сокращению внутренней ассимилирующей поверхности. Известно, что существует прямая корреляция между площадью внутренней ассимилирующей поверхности и интенсивностью фотосинтеза [17]. Отношение суммарной площади максимальной проекции хлоропластов в клетке к площади клетки характеризует полноту использования пластидами клеточной поверхности при диффузии углекислоты в клетку. С возрастом хвои это отношение уменьшалось, по нашим данным, на 20%, что свидетельствует об увеличении сопротивления диффу-

зии углекислоты в клетку. Очевидно, уменьшение поверхностной площади мембран хлоропластов в клетке в среднем на 19%, а в целой хвоинке на 31% приводит к снижению интенсивности фотосинтеза с возрастом хвои. Это было подтверждено дальнейшими исследованиями по изучению пигментного комплекса и функциональной активности хлоропластов.

Исследование пигментного фонда хлоропластов однолетней хвои, когда ее рост полностью закончился, показало довольно высокое содержание зеленых и желтых пигментов, однако их соотношение не было оптимальным для выполнения фотосинтетической функции (табл. 2).

Таблица 1

Показатели, определяющие морфологию хлоропластов хвои кедрового

| Возраст хвои, лет | Показатель         |                 |                   |                         |                         |
|-------------------|--------------------|-----------------|-------------------|-------------------------|-------------------------|
|                   | N <sub>хл/кл</sub> | V <sub>хл</sub> | ΣS <sub>max</sub> | ΣS <sub>п.н.м. кл</sub> | ΣS <sub>п.н.м. хв</sub> |
| 1                 | 41,0±0,9           | 30,4±1,3        | 308,5±12,5        | 1250±36                 | 21,3±0,8                |
| 2                 | 42,7±1,1           | 29,9±1,1        | 319,8±10,9        | 1296,2±35,9             | 17,6±0,6                |
| 3                 | 39,5±0,9           | 28,8±1,2        | 287,4±10,6        | 1181,4±31,6             | 24,0±0,7                |
| 4                 | 37,2±0,5           | 27,9±1,1        | 264,6±9,0         | 1106,5±24,4             | 12,8±0,4                |
| 5                 | 36,3±0,6           | 29,0±0,8        | 263,8±6,4         | 1090,7±19,1             | 16,9±0,5                |
| 6                 | 35,4±0,6           | 30,3±1,1        | 267,2±8,8         | 1081,2±23,7             | 13,5±0,5                |
| 7                 | 33,9±0,9           | 28,9±0,7        | 246,1±6,6         | 1018,2±25,0             | 14,6±0,5                |

Примечание. N<sub>хл/кл</sub> – число хлоропластов в клетке; V<sub>хл</sub> – объем хлоропласта, мкм<sup>3</sup>; ΣS<sub>max</sub> – суммарная максимальная проекция хлоропласта в клетке, мкм<sup>2</sup>; ΣS<sub>п.н.м. кл</sub> – суммарная площадь поверхности наружных мембран хлоропластов в клетке, мкм<sup>2</sup>; ΣS<sub>п.н.м. хв</sub> × 10<sup>7</sup> – суммарная площадь поверхности наружных мембран хлоропластов в хвоинке, мкм<sup>2</sup>.

Таблица 2

Содержание фотосинтетических пигментов в разновозрастной хвое кедрового, мкг/г сырой массы

| Возраст хвои, лет | Хлорофилл <i>a</i> | Хлорофилл <i>b</i> | Каротиноиды | <i>a/b</i> | <i>a+b/кар.</i> |
|-------------------|--------------------|--------------------|-------------|------------|-----------------|
| 1                 | 495,6±11,8         | 102,6±10,0         | 386,4±10,2  | 4,84       | 1,54            |
| 2                 | 550,4±10,5         | 111,4±3,5          | 424,0±8,1   | 5,00       | 1,56            |
| 3                 | 729,8±1,2          | 210,6±1,8          | 572,7±2,4   | 3,46       | 1,64            |
| 4                 | 741,0±27,9         | 258,0±19,1         | 617,3±21,8  | 2,90       | 1,62            |
| 5                 | 668,1±30,0         | 189,1±15,5         | 593,7±17,3  | 3,52       | 1,44            |
| 6                 | 546,0±18,2         | 132,7±5,4          | 408,1±7,8   | 4,11       | 1,66            |
| 7                 | 228,5±3,5          | 81,9±8,4           | 203,5±6,6   | 2,79       | 1,52            |

По литературным данным, отношение хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* в нормально развитом фотосинтетическом аппарате составляет 2,5–3 [8]. Двухлетняя, трехлетняя и четырехлетняя хвоя практически не отличались по пигментному составу. С пятилетнего возраста содержание как зеленых, так и желтых пигментов начинало постепенно снижаться, различалось также их соотношение. Интересно, что по мере старения хвои содержание желтых

пигментов изменялось значительно меньше, чем зеленых, что свидетельствует о важнейшей защитной роли каротиноидов от высокой инсоляции в горных условиях. Кроме того, расчет размеров пигмент-белковолипидных комплексов листового аппарата показал, что по мере старения хвои уменьшалось соотношение длинноволновых и коротковолновых форм пигментов. Очевидно, пигментный фонд хлоропластов постоянно находится в метаболичес-

подвижном состоянии и начиная с пятилетнего возраста начинаются деструктивные изменения.

Для характеристики функциональной деятельности хвои была изучена активность некоторых первичных фотосинтетических реакций на уровне фотосистемы 2. Хлоропласты, изолированные из разновозрастной хвои, характеризовались неодинаковой фотохимической активностью (табл. 3). Однолетняя хвоя обладала относительно низкой скоростью реакций фотовосстановления феррицианида

калия и нециклического фотофосфорилирования, а также слабой сопряженностью вышеуказанных процессов. Это свидетельствует о низком энергетическом выходе процесса фотосинтеза. Наибольшей фотосинтетической активностью обладала хвоя второго и третьего года жизни. Судя по изученным фотосинтетическим процессам, пятилетняя хвоя слабо жизнеспособна и поставляет, вероятно, недостаточное количество метаболитов и энергетических эквивалентов для роста и развития кедра сибирского.

Таблица 3

Функциональная активность хлоропластов хвои кедра сибирского разного возраста

| Возраст хвои, год | Скорость реакции Хилла, мкМ феррицианида/мг Хл ч | Скорость нециклического фотофосфорилирования, мкМ Р/мг Хл ч | P/2e |
|-------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------|
| 1                 | 185,4±18,4                                       | 110,5±10,8                                                  | 0,59 |
| 2                 | 472,0±15,7                                       | 384,1±3,2                                                   | 0,81 |
| 3                 | 509,4±34,1                                       | 483,9±20,1                                                  | 0,95 |
| 4                 | 278,7±11,9                                       | 194,4±2,5                                                   | 0,69 |
| 5                 | 85,4±8,9                                         | 60,5±7,2                                                    | 0,71 |

В общей ассимилирующей массе хвои преобладала хвоя первых пяти лет жизни, доля шести- и семилетней хвои была незначительной и ее вклад в процесс фотосинтеза по активности первичных фотосинтетических процессов невозможно было оценить. Проведенные нами исследования согласуются с данными других авторов о том, что в процессе старения хвои уменьшается ее роль как датчика ассимилятов, и преобладающей становится функция запасаания и распределения продуктов фотосинтеза [19, 20].

Таким образом, проведенные исследования показали, что соотношение анатомических структур по мере

старения хвои кедра сибирского не претерпевает возрастных изменений. В то время как пластом, пигментный комплекс и функциональная активность хвои с возрастом значительно изменяются. Наиболее развитый фотосинтетический аппарат имеет двух- и трехлетняя хвоя. В дальнейшем происходит снижение пула зеленых пигментов и числа хлоропластов наряду с уменьшением их внутренней ассимилирующей поверхности и функциональной активности, что влечет за собой увеличение сопротивления диффузии CO<sub>2</sub> и в целом падение интенсивности фотосинтеза.

## ЛИТЕРАТУРА

- Ходасевич Э.В. О состоянии фонда пигментов и пластид в онтогенезе листа хвойных // Проблемы биосинтеза хлорофиллов. Минск, 1971. С. 173–198.
- Ottander C., Campbell D., Oquist G. Seasonal changes in photosystem II organisation and pigment composition in *Pinus sylvestris* // Planta. 1995. № 197. Р. 176–183.
- Гирс Г.И., Стаканов В.Д. Продукционный процесс сосняков Красноярской лесостепи // Лесоведение. 1986. № 3. С. 34–41.
- Гамалей Ю.В., Куликов Г.В. Развитие хлоренхимы листа. Л.: Наука, 1978. 192 с.
- Козубов Г.М. Некоторые особенности адаптации хвойных к экстремальным условиям Севера // Вопросы адаптации растений к экстремальным условиям Севера. Петрозаводск, 1975. С. 89–104.
- Терещин Ю.А., Завьялова Н.С., Юшков В.И. Влияние затенения на ассимиляционный аппарат и рост сосны обыкновенной // Экология и физиология основных лесобразующих видов Урала. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1986. С. 54–71.
- Зуровская Л.Н. Исследования хвои *Pinus sylvestris* L. и *Pinus sibirica* (Rupr.) Mayr. На болотах разных типов // Ботанический журнал. 1965. Т. 50, № 2. С. 234–237.
- Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1975. С. 154–170.
- Зотикова А.П., Ананьев Г.М., Аллахвердиев С.И., Ганаго И.Б., Симонова Е.И. Спектральные и функциональные свойства хлоропластов проростков сосны, выращенных на свету и в темноте // Физиология растений. 1987. Т. 34, вып. 3. С. 445.
- Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высш. шк., 1975. 392 с.
- Мокроносов А.Т., Борзенкова Р.А. Методика количественной оценки структуры и функциональной активности фотосинтезирующих тканей и органов // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1978. Т. 61, вып. 3. С. 119–133.
- Луганский Н.А. Изменчивость деревьев кедра сибирского по коре на Среднем Урале // Труды по лесному хозяйству Сибири. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1960. Вып. 6. С. 85–88.
- Koike T., Hasler R., Item H. Needle Longevity and Photosynthetic Performance in Cembran Pine and Norway Spruce Growing on the North and East Facing Slope at the Timberline of Stillberg in the Swiss Alps // International Workshop on Stone Pines and Their Environment: the Status of Our Knowledge. 1994. Р. 78–80.
- Бобкова К.С., Загирова С.В. Некоторые аспекты структурно-функциональной организации сосновой хвои разного возраста // Лесоведение. 1999. № 4. С. 58–63.
- Бобкова К.С., Патов А.И. Сезонная динамика роста побегов и корней // Эколого-биологические основы повышения продуктивности таежных лесов европейского Севера. Л.: Наука, 1981. С. 93–102.
- Елазин И.Н. Сезонное развитие сосновых лесов. Новосибирск: Наука, 1976. 230 с.
- Araus J.L., Algere L., Tapia L., Calafell R., Serret M. Relationship between Photosynthetic Capacity and Leaf Structure in Several Shade Plants // Amer. J. Bot. 1986. Vol. 73. Р. 1760–1770.
- Пьянков В.И., Иванов Л.А. Структура биомассы у растений бореальной зоны с разными типами экологических стратегий // Экология. 2000. № 1. С. 3–10.
- Мокроносов А.Т. Онтогенетические аспекты фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.
- Козина Л.В. Метаболизм фотоассимилятов и передвижение веществ у хвойных. Владивосток: Дальнаука, 1995. 128 с.

Статья представлена научной редакцией «Биология» 6 июня 2009 г.