

О возможности использования физиолого-биохимических показателей листьев осины (*Populus tremula* L.) в ранней биоиндикации состояния экосистем

О. Б. ВАЙШЛЯ, Г. В. ЛАПИНА, Н. С. МОСКВИТИНА

Томский государственный университет
634010 Томск, просп. Ленина, 36

АННОТАЦИЯ

Исследовали изменение структурно-функциональных характеристик листьев осины, произрастающей на различных участках Северного промышленного узла г. Томска. Основными источниками загрязнения здесь являются Сибирский химический комбинат, Томский нефтехимический комбинат, свинокомплекс, птицефабрики, тепличный комплекс, промышленность областного центра и транспорт. Многофакторность антропогенного воздействия не позволила идентифицировать характер и уровень загрязнения по изученным параметрам. Однако одновременное использование таких биотестов, как замедленная кинетика флуоресценции хлорофилла, соотношение фотосинтетических пигментов, содержание крахмала, белка, активность РБФК, ФЕПК, ГАФДГ, МДГ, ИДГ и АДГ, дает возможность выявления отклонений от нормального физиологического состояния растений, не регистрируемых визуально. Наиболее серьезные изменения в работе фотосинтетического аппарата – трехкратное снижение ассимиляционного числа, минимальное значение отношения максимального уровня флуоресценции к стационарному, отсутствие активации дыхательных анаплеротических ферментов – обнаружены в листьях осины в районе д. Кузовлево.

Развивающаяся в настоящее время биотическая концепция контроля природной среды предполагает существование причинной связи между характером и уровнем воздействия на биоту и ее откликом на эти воздействия [1, 2]. Одной из важнейших задач является поиск методов оценки состояния биоты в соответствии с региональными условиями, включающими как естественные, так и антропогенные факторы. Использование системы разноуровневой биоиндикации позволяет фиксировать различные изменения в экосистемах – от видимых повреждений до первоначальных, не имеющих внешних симптомов изменений физиологических или биохимических параметров. Последнее особенно важно, поскольку позволяет уловить неблагоприятные тенденции и по возможности предотвратить необратимые изменения состояния биоты.

Зеленые растения, как известно, являются базовой составляющей любого биогеоценоза,

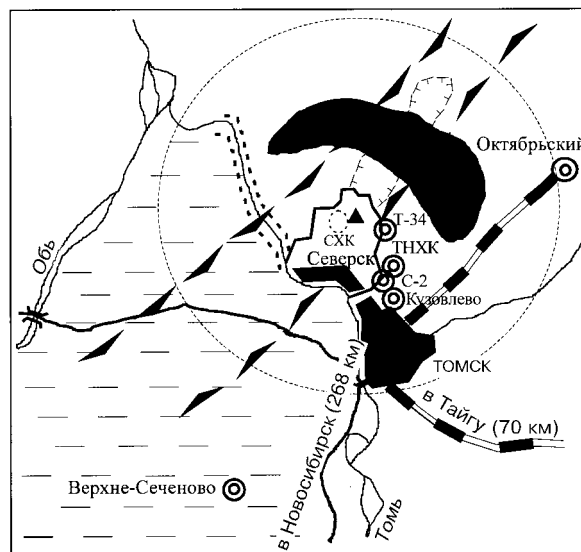
вследствие чего их состояние во многом определяет состояние всей экосистемы. С другой стороны, отклонения биохимических и физиологических реакций растений, весьма чувствительных к изменению условий среды, могут служить индикатором ее состояния. Цель настоящей работы – изучение структурно-функциональных изменений фотосинтетического аппарата на уровне первичных реакций и метаболизма в листьях осины с различных участков экологически напряженной зоны Северного промышленного узла (СПУ) г. Томска. В числе загрязняющих атмосферу веществ – сернистый ангидрид, оксиды азота, оксид углерода, цементная и древесная пыль, сажа, углеводороды, аммиак, метиловый спирт, бензин, бензол и многие другие элементы и соединения [3]. Кроме того, на территории СПУ выявлен широкий спектр тяжелых металлов, включающий специфические элементы, используемые в атомной промышленности.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал для изучения отбирали на площадках, заложенных лабораторией биоиндикации и экологического мониторинга Томского государственного университета для комплексной оценки состояния природной среды: в "подфакельной" зоне Томского нефтехимического комбината (в дальнейшем обозначение ТНХК); в санитарно-защитной зоне ТНХК (д. Кузовлево); в районе Сосновского контрольного пункта Сибирского химического комбината; на участке, расположенном слева от автомагистрали Томск–Самусь у границы следа аварии на СХК в апреле 1993 г. (Т-34); на северо-западной оконечности Северного промузла в окрестностях пос. Октябрьский (рис. 1). Контролем служил участок леса в районе д. Верхне-Сеченово как зона, свободная от влияния агропромышленного комплекса и расположенная в направлении, противоположном "розе ветров".

Для анализа использовали закончившие рост листья – с первого по шестой от основания годичного прироста ветки, так как осина относится к породам деревьев с гетерофильными побегам [4]. Пробы отбирали в одно и то же время суток во избежание циркадных эффектов. Содержание пигментов определяли в 100 % ацетоне и рассчитывали по Лихтенхалеру [5]. Изменение кинетики замедленной флуоресценции хлорофилла регистрировали с помощью индуктофлуориметра "ФЛ-3006" [6]. Флуоресценцию возбуждали фиолетовым светом с длиной волны 390 нм, используя светофильтры СЗЗ-22 и ФС-1, $I_0 = 0,3 \text{ эрг/см}^2 \times \text{с}$. Спектры испускания флуоресценции записывали с помощью осциллографа и самописца КСП-4.

Выделение хлоропластов проводили методом дифференциального центрифугирования при $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ на центрифуге К-24 с пятикратным промыванием средой выделения без цистеина. Среда выделения содержала 0,35 М сахарозы, 5 мМ аскорбата натрия, 50 мМ ТРИС-НСI буфера (рН 7,8), 1 мМ MgCl_2 , 5 мМ дитиотрейтола и 3 мМ цистеина. Чистоту выделения фракций хлоропластов контролировали по соотношению Хл/белок и цитологическим мето-












-  Территория Сибирского химического комбината (СХК)
-  Площадка подземного и поверхностного захоронения жидких радиоактивных отходов
-  Радиохимическое производство СХК
-  Контур радиоактивного загрязнения территории от выброса 06.04.93 г.
-  Ореол радиоактивного загрязнения воды и донных отложений от сбросов производств СХК по данным аэрогеодезической съемки
-  Зона с превышением фона естественного содержания естественных радионуклидов в 1,5–2 раза
-  Ореол загрязнения поверхностных и подземных вод радионуклидами и сопутствующими им компонентами – нитратами, трибутилфосфатом, гелием, фтором
-  Территория Томского водозабора
-  ТНХК-С-2
Томский нефтехимический комбинат
Сосновский контрольно-пропускной пункт

Рис. 1. Ситуационная схема обстановки в районе Северного промузла г. Томска.

дом в фазово-контрастном микроскопе с использованием камеры Горяева.

Активность ферментов измеряли при длине волны 340 нм на спектрофотометре СФ-46 [7], содержание крахмала определяли сульфосалициловым методом, водорастворимого белка – по реакции с Кумасси G-250. В работе исполь-

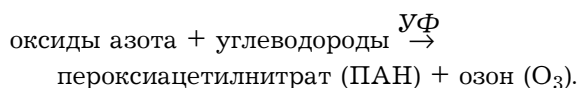
зовали реактивы фирм "Reanal" (Венгрия), "Serva" (Германия), "Calbiochem" (США) и минеральные соли х. ч. (Россия). В таблицах приведены средние арифметические значения из трех биологических повторностей (по 5 аналитических в каждой) и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что у растений губительный эффект совместного влияния загрязнений проявляется прежде всего в изменении хлоропластов – клеточных органелл, где происходят преобразование квантов солнечного света в энергию химических связей и фотосинтетическое выделение кислорода [8–11]. Основным структурным компонентом тилакоидной мембраны хлоропластов являются пигменты – хлорофиллы *a* и *b* (Хл), каротиноиды (ксантофиллы и каротины). Изучение пигментного фонда в листьях осины показало, что содержание Хл *a* достоверно ниже контроля в точках ТНХК, Т-34 и у Сосновского КП (табл. 1).

Поскольку Хл *a* составляет большую часть в общем пигментном фонде, входя в состав как светособирающих комплексов, так и антенн и в сами реакционные центры фотосистем, значительное снижение его содержания свидетельствует о глубоких структурных изменениях фотосинтетического аппарата растений. Кроме того, так как из общего количества содержащегося в листьях хлорофилла 70 % находится в прочносвязанном состоянии и 30 % – в слабосвязанном, а именно для Хл *a* очень высока доля пигмента, прочно связанного с белково-липидным комплексом, то все это говорит о серьезной деградации фотосинтетических мембран [12]. Что касается Хл *b*, то этот показатель снижен по отношению к контролю в тех же точках, где отмечено уменьшение содержания Хл *a*. В пос. Ок-

тябрьском не выявлено отличий от контрольного варианта, что доказывает стабильность Хл *b* в светособирающих комплексах фотосистем в этом районе. Как следствие изменения содержания хлорофиллов показатель Хл *a*/Хл *b* уменьшается в районе Т-34 и пос. Октябрьском. Увеличение этого отношения в точке ТНХК и у Сосновского КП указывает на относительное уменьшение размеров светосборщиков, так как Хл *b* почти полностью содержится в этих комплексах. Считается, что основная роль каротиноидов в зеленой клетке – это сбор световой энергии и защита от фотоокисления, однако в последнее время появляются работы, доказывающие прямое участие каротиноидов в фотохимических реакциях. Изучение содержания желтых пигментов выявило увеличение их доли в общем пигментном фонде по отношению к контролю в районе ТНХК и Сосновского КП, Т-34 и пос. Октябрьский. Литературные [1, 13, 14] и собственные данные (исследования проводились на листьях березы) позволяют сделать предположение, что, скорее всего, усиление каротиногенеза в точках ТНХК, Т-34 и Сосновский КП может быть связано либо с повышенным радиационным фоном, либо с действием фотоокислителей, либо с тем и другим вместе взятым. Повышенную концентрацию "фотохимического смога" в указанных районах можно объяснить синергическим влиянием аэрозольных загрязнений при действии солнечного света [2]:



Действительно, увеличение содержания диоксида азота и органических соединений в атмосферном воздухе СПУ [3] свидетельствует о повышенных концентрациях ПАН и O₃-веществ, очень токсичных для растений.

Т а б л и ц а 1

Пигментный фонд листьев осины, мкг на 1 г сырой массы

Место отбора проб	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Каротиноиды	УФ	
				$\frac{\text{Хл}a}{\text{Хл}b}$	$\frac{\text{Кар.} \times 100}{\text{Хл}(a + b) + \text{Кар.}}$
Контроль	1180 ± 40	454 ± 16	285 ± 18	2,6	14,9
ТНХК	720 ± 29	204 ± 8	280 ± 13	3,5	23,3
Сосновский КП	890 ± 38	300 ± 17	395 ± 16	2,9	24,9
Т-34	620 ± 23	270 ± 13	312 ± 12	2,3	31,2
Кузовлево	1060 ± 65	408 ± 15	278 ± 8	2,6	15,8
Октябрьский	1040 ± 39	420 ± 15	375 ± 11	2,5	20,4

Внешние симптомы вредного воздействия – бронзовая окраска листьев и хлоротичные пятна – можно часто наблюдать у растений около ТНХК. На клеточном уровне ПАН блокирует реакцию Хилла, а O_3 тормозит образование молодых молекул пигментов, блокирует фотофосфорилирование, транспорт электронов и подавляет активность ферментов.

Выявленные нарушения в биосинтезе пигментов и, следовательно, в структуре основных пигмент-белковых комплексов сказывается прежде всего на электротранспортной цепи тилакоидной мембраны хлоропластов. Одним из методов, позволяющих быстро и надежно оценить относительную скорость реакций световой стадии фотосинтеза в интактных листьях, является метод регистрации замедленной флуоресценции хлорофилла, возникающей в процессе рекомбинации первичных фотопродуктов [6, 15, 16]. В последнее время растущий интерес к таким интегральным показателям определяется возможностью создания на их основе экспрессных и бесконтактных, а в будущем и дистанционных методов диагностики состояния растений [6, 17].

Использование этого метода в комплексе с другими позволяет изучать действие на фотосинтез практически любых возмущающих факторов на достаточно тонком уровне организации фотосинтетических мембран хлоропластов растительной клетки.

Так, сравнительное изучение кинетики индукционных кривых замедленной флуоресценции хлорофилла листьев осины выявило существенные отличия от контроля (рис. 2, 3). Известно, что такая флуоресценция испускается вследствие обратной реакции пары хлорофилл – обратный хинон $P_{680}^+Q^-$. Сложная кинетика затухания флуоресценции определяется наложением на процесс рекомбинации в паре $P_{680}^+Q^-$ отдельных реакций прямого и обратного переноса электронов на донорной и акцепторной сторонах фотосистемы II. Это приводит к появлению или исчезновению восстановленного и окисленного компонентов рекомбинационной пары за периоды, характерные для протекания этих реакций.

Обращает на себя внимание то, что во всех изученных вариантах максимальный уровень

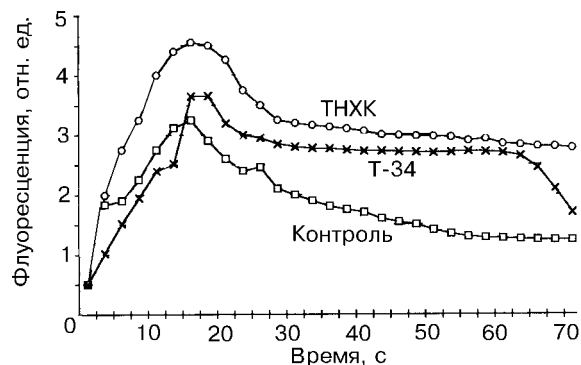


Рис. 2. Характер индукционных переходов замедленной флуоресценции хлорофилла листьев осины.

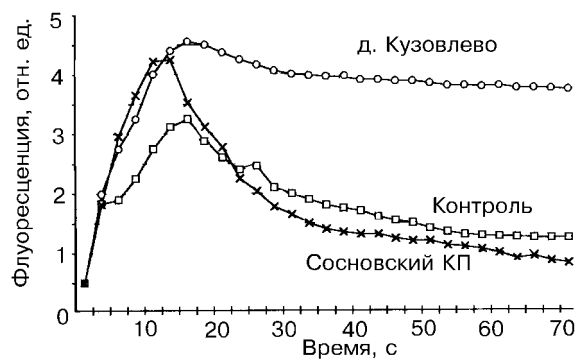


Рис. 3. Характер индукционных переходов замедленной флуоресценции хлорофилла листьев осины.

флуоресценции выше контроля (рис. 2, 3, табл. 2).

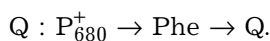
Поскольку первоначальный быстрый рост интенсивности свечения после включения возбуждающего света связан с первичными фотохимическими реакциями – разделением зарядов и последующей энергизацией тилакоидной мембраны, то увеличение $ФЛ_{\text{макс}}$ свидетельствует о том, что скорость темновой релаксации электрохимического градиента протонов на мембранах хлоропласта в этих районах значительно снижена, а уменьшение величины фотоиндуцированного стационарного протонного градиента $\Delta\mu\text{H}^+$ означает невысокие выходы энергетической "валюты" клетки-АТФ в процессе фотофосфорилирования. Большой выход $ФЛ_{\text{макс}}$ также может быть связан с показанным ранее уменьшением содержания хлорофилла (см. табл. 1), однако показатель удельной флуорес-

Некоторые показатели индукционных переходов замедленной флуоресценции хлорофилла листьев осины в районе Северного промузла

Место отбора проб	Флуоресценция, отн. ед		Медленная компонента, с	$\frac{\text{Фл}_{\text{макс}}}{\text{Фл}_{\text{стан}}}$	$\frac{\text{Фл}_{\text{макс}}}{\text{мг Хл}}$
	$\text{Фл}_{\text{макс}}$	$\text{Фл}_{\text{стан}}$			
Контроль	55 ± 3	37 ± 1	60 ± 2	1,5	34
ТНХК	127 ± 8	68 ± 2	59 ± 1	1,9	137
Сосновский КП	94 ± 3	30 ± 1	54 ± 1	1,9	79
Т-34	73 ± 4	49 ± 2	61 ± 2	1,5	82
Кузовлево	84 ± 2	69 ± 3	98 ± 3	1,2	57
Октябрьский	60 ± 5	40 ± 2	66 ± 2	1,5	39

ценции (см. табл. 2) оказался выше контроля во всех точках, кроме района пос. Октябрьский.

Нарушения в фазе подъема кривой (отсутствие пика) в точке ТНХК и Кузовлево свидетельствуют об изменении связи между антенным комплексом ФС II и его энергетической ловушкой – открытым реакционным центром, причём здесь возможно нарушение самого центра. Увеличение быстрой компоненты флуоресценции в ТНХК, Т-34 и Кузовлево, согласно концепции Дюйзанса–Свирса, связано с уровнем восстановленности пула



Эффективность же фотовосстановления акцептора Q, обусловленная высокой вероятностью рекомбинации Q с окисленными переносчиками донорной стороны ФС II, описывается показателем $\text{Фл}_{\text{макс}}/\text{Фл}_{\text{стан}}$. Увеличение этого соотношения в районе ТНХК и Сосновского КП указывает на возрастание эффективности фотовосстановления акцептора Q в хлоропластах листьев данных вариантов. Исключение составляет д. Кузовлево, где снижение отношения $\text{Фл}_{\text{макс}}/\text{Фл}_{\text{стан}}$ свидетельствует о существенных изменениях в системе переносчиков электронтранспортной цепи фотосинтеза, снижающих скорость фотовосстановления акцептора Q.

Размытый пик кривой флуоресценции в хлоропластах листьев осины, растущей в "подфакельной зоне" ТНХК, связан с уменьшением скорости темновой релаксации доноров электронов от фотосистемы I. Отсутствие снижения выхода флуоресценции после освещения до стационарного уровня выявлено в точках ТНХК и Кузовлево, что объясняется либо за-

труднением переноса электронов между акцептором Q и пластохиноном, либо плохой работой ферментной системы темновых реакций. Изменение кинетики флуоресценции может быть связано с нарушениями во второй фотосистеме, вызванными набуханием тилакоидов под действием SO₂ и NO₂, а нарушение восстановленности акцептора Q – с ингибирующим действием гербицидов в двухэлектронном шлюзе Q-цикла. Кроме того, изменение pH цитоплазмы в результате кислых и щелочных дождей над территорией СПУ нарушает работу транспортных систем мембран, что ведёт к накоплению тяжёлых металлов [18]. В свою очередь, они соединяются с белком, изменяя его конфигурацию и активность, нарушая тем самым фундаментальные процессы в клетках растений.

Многочисленными исследованиями в области биохимии растительной клетки показано, что метаболизм представляет собой сложную адаптивную систему с эффективными механизмами обратной связи, позволяющими перестраивать структуру этой системы в зависимости от условий среды. Первичные процессы фотосинтеза, цикл Кальвина, гликолиз, окислительный пентозофосфатный путь, цикл Кребса регулируются в соответствии с физиологическим состоянием растения таким образом, что сохраняется постоянство внутриклеточной среды, позволяющее зеленой клетке осуществлять фиксацию CO₂ на достаточно высоком уровне. Индикаторами метаболических нарушений служат различные ферменты.

Нарушения, выявленные в световой фазе фотосинтеза, повлекли за собой изменения в темновой стадии. Так, активность фермента рибулозобисфосфаткарбоксилазы (РБФК) ока-

Таблица 3

**Активность некоторых фотосинтетических ферментов
в хлоропластах листьев осины, мЕ на 1 мг белка**

Место отбора проб	Рибулезобисфосфат- карбоксилаза	Глицеральдегидфосфат- дегидрогеназа	Фосфоенолпируват- карбоксилаза
Контроль	392 ± 38	609 ± 12	33 ± 0,8
ТНХК	117 ± 7	1254 ± 63	175 ± 3,0
Сосновский КП	247 ± 13	427 ± 13	68 ± 2,1
Т-34	232 ± 10	192 ± 10	14 ± 1,9
Кузовлево	110 ± 3	247 ± 4	34 ± 0,6
Октябрьский	284 ± 6	396 ± 32	187 ± 21

залась ниже контроля во всех вариантах – особенно в точках ТНХК и Кузовлево – там, где выявлены наиболее серьезные нарушения ЭТЦ фотосинтеза (табл. 3). РДФК – это основной фермент цикла Кальвина, посредством которого и происходит включение атмосферного CO₂ в систему целого растения. Падение активности РДФК хорошо согласуется с показанным ранее авторами статьи увеличением объема мезофильных клеток листьев березы в этом же районе, что сопровождается снижением площади поверхности их наружных мембран и уменьшением доступа CO₂ к центрам карбоксилирования. Активность другого ключевого фермента цикла восстановления углерода – глицеральдегидфосфатдегидрогеназы (ГАФД) также снижена (кроме ТНХК), что, вероятно, объясняется недостаточным количеством АТФ и НАДФ · Н₂, образующихся в световой фазе (рис. 4). Это коррелирует с уменьшением содержания конечного продукта фотосинтеза – крахмала – в районе ТНХК, Сосновского КП и пос. Октябрьского (табл. 4).

Двукратное увеличение активности ГАФД в точке ТНХК, скорее всего, можно объяснить включением компенсаторных реакций дыхательного метаболизма, также поставляющих АТФ и НАДФ · Н. Действительно, активность ферментов цикла Кребса – малат- и изоцитратдегидрогеназы (МДГ и ИДГ, табл. 5) здесь выше, чем в контроле.

Активация дыхательного обмена может быть вызвана также попаданием и включением в метаболизм органических молекул с территории ТНХК в клетку растений [3]. Активность другого фотосинтетического фермента – фосфоенолпируваткарбоксилазы (ФЕПК) у С₃ – растений, к которым относится осина, как пра-

вило, связана с превращением органических кислот в цитоплазме.

Увеличение активности этого энзима в районе ТНХК, Сосновского КП, вероятно, свидетельствует о включении альтернативных путей фотосинтеза и преимущественном образовании не крахмала, а аминокислот (см. рис. 2, 3). Несмотря на то что уменьшение содержания растворимых белков под действием стресса – это общий индикаторный признак [1], тем не менее в районе Сосновского КП и Т-34 его содержание возрастает (см. табл. 4). Судя по активности алкогольдегидрогеназы (АДГ) – маркерного фермента на стресс, активное переключение на процесс брожения идет в листьях осины, расту-

Таблица 4

**Содержание водорастворимого белка, крахмала
(мг на 1 г сырой массы) и ассимиляционное число
(РДФК/(мг Хл · мин)) в листьях осины**

Место отбора проб	Ассимиля- ционное число	Белок	Крахмал
Контроль	0,24	45,2 ± 2,1	15,8 ± 0,7
ТНХК	0,13	25,3 ± 0,9	7,1 ± 0,8
Сосновский КП	0,21	57,8 ± 2,3	6,9 ± 0,6
Т-34	0,26	55,9 ± 3,1	10,4 ± 0,6
Кузовлево	0,08	43,4 ± 1,8	12,0 ± 1,0
Октябрьский	0,20	33,4 ± 2,9	7,3 ± 0,3

Таблица 5

**Активность некоторых дыхательных ферментов
в листьях осины, мЕ на 1 мг белка**

Место отбора проб	Малатдегид- рогеназа, НАД	Изоцитратде- гидрогеназа, НАДФ	Алкогольде- гидрогеназа, НАД · Н
Контроль	17,7 ± 0,7	87 ± 0,9	53 ± 0,9
ТНХК	29,5 ± 0,4	125 ± 1,9	98 ± 2,0
Сосновский КП	57,4 ± 0,9	54 ± 7	167 ± 7,3
Т-34	9,0 ± 0,2	158 ± 13	29 ± 2
Кузовлево	3,1 ± 0,1	75 ± 1,6	27 ± 1,3
Октябрьский	96 ± 8,7	53 ± 3,5	65 ± 5,1

щей у Сосновского КП, ТНХК и в пос. Октябрьском. Работа этого фермента позволяет клетке быстро регенерировать НАД для дыхательных реакций – например, активность МДГ в этих точках выше контрольных значений [11].

Зафиксировав таким образом первоначальные изменения в листьях осины с помощью определения вышеуказанных физиолого-биохимических параметров, попытаемся проанализировать ситуацию по зонам северного промузла в зависимости от уровня и характера загрязнения с помощью сводной табл. 6.

На основании данных таблицы полученные материалы можно разделить на 3 зоны:

I зона. Сюда входят Сосновский КП и пос. Октябрьский. Ситуация характеризуется начальными изменениями и частичным разрушением хлоропластных мембран, о чем свидетельствуют не столь резкое снижение содержания хлорофилла, незначительное увеличение доли каротиноидов и отношения $X_{л\ a} / X_{л\ b}$, а также повышение уровня выхода флуоресценции при отсутствии качественных изменений в ее кинетике. О более или менее нормальном

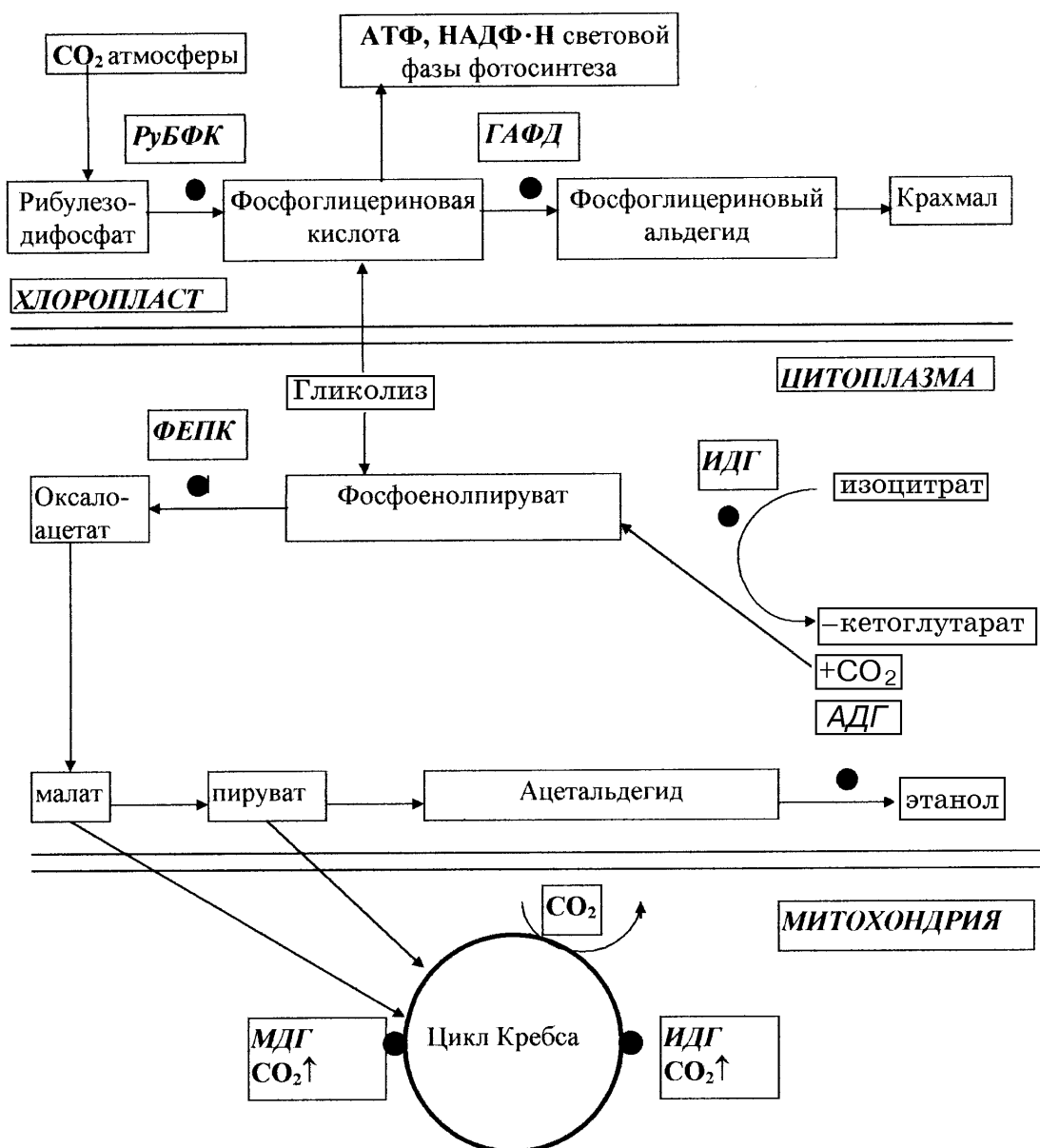


Рис. 4. Схематическое изображение изученных метаболических процессов растительной клетки листьев осины.

**Характеристика изученных точек на территории СПУ
(в процентах от контрольных показателей, по материалам [3])
А – физиолого-биохимическая характеристика, В – загрязняющие факторы**

Место отбора проб	Хл (а + б)	Процент каротиноидов	Фл. уд.	РДФК	ГАФД	ФЕП	МДГ	ИДГ	АДГ	Крах-мал	Белок
Контроль	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
ТНХК	57	156	403	30	206	530	167	144	185	44	56
Сосновский КП	73	167	232	63	70	206	316	63	315	43	129
Т-34	55	209	241	59	38	42	50	182	55	65	124
Кузовлево	90	106	168	28	41	103	18	86	51	75	96
Октябрьский	89	137	102	72	65	57	533	61	123	46	74

В

Место отбора проб	рН снега	Пыль, мг/м ²	Бензапирен, мкг/м ²	Обогащение золы наземной части растений химическими элементами	Содержание в коре осины, мг/кг			
					Со	Fe	Na	La
Контроль	5,4	18	1,0		1,05	0,34	75	0,38
ТНХК	6,8	89	16,3	Mn, Pb, Sb, Cd, Sr, Ca, Sn	0,94	0,39	291	0,58
Сосновский КП	6,8	100		Cu, Zn, Sb, Ta, U, Ca	0,87	0,37	290	0,58
Т-34	6,5	78		Cr, V, Cu, Sr, Ba, Mn, Zn	1,03	0,20	356	0,57
Кузовлево	7,5	100	3,7	Ni, Li, Mo, Fe, Co, Cs, Zn	1,00	0,20	346	0,63
Октябрьский	6,9	80		Sb, Ag, Ti, Li, Rb, Nb	0,88	0,38	245	0,43

протекании фотосинтеза свидетельствует содержание крахмала на уровне контроля и незначительное, по сравнению с Кузовлево, падение активности РДФК (ассимиляционное число, т. е. количество CO₂, фиксируемое в расчете на 1 мг хлорофилла, также остается на уровне нормы).

Несмотря на то, что у Сосновского КП обнаружена максимальная концентрация микроэлементов в наземной части и коре осины [2], а в пос. Октябрьском происходит загрязнение цементной пылью, которое ведет к известкованию почвы, антропогенная нагрузка, вероятно, в этих точках нивелируется синергическим действием факторов. Кроме того, здесь нет накопления самых токсичных для фотосинтеза металлов – таллия, кадмия, никеля, цинка и не обнаружено снижения содержания железа, дефицит которого, как известно, резко уменьшает количество фотосинтетических единиц.

II зона – это район ТНХК и Т-34, где, судя по большим отклонениям от контроля изученных параметров и появлению качественных изменений в кинетике флуоресценции хлорофилла, а также по включению репарационной системы дыхательного обмена, наблюдается адаптация фундаментальных механизмов зелёной клетки в ответ на стрессы. Точка Т-34 имеет ши-

рокий спектр загрязнений, особенно в летнее время, когда растения интенсивно фотосинтезируют, так как именно теплая погода в данном регионе способствует увеличению ветров со стороны СХК и ТНХК, а многочисленные штиты, наоборот, не позволяют рассеять залповый выброс того или иного вещества [3]. Что касается окрестностей ТНХК, то отсутствие необратимых изменений можно также объяснить совместным действием факторов. Например, известно, что O₃ влияет на активность РДФК только при низких значениях рН, однако из-за щелочных дождей над ТНХК [3] это обстоятельство, вероятно, обуславливает не столь резкое снижение активности ключевого фермента. Кроме того, в этой точке накапливаются кадмий и цинк, сильно нарушающие работу фотосистемы II, но накопление здесь же марганца снимает негативный эффект. Авторами, изучавшими содержание химических элементов, показано, что именно для точки ТНХК обнаружен низкий уровень техногенного загрязнения тяжелыми металлами, поэтому ведущим фактором загрязнения здесь следует считать органические соединения [3].

III зона. По нашим данным, район д. Кузовлево оказался самым неблагополучным. Видимо, здесь адаптационные ресурсы фотосинтети-

ческого аппарата оказались исчерпанными, и как результат отсутствия защитных реакций возникли необратимые изменения физиологических процессов: обнаружено трехкратное снижение ассимиляционного числа, минимальное значение отношения $\Phi L_{\text{макс}}/\Phi L_{\text{стац}}$, характер качественных изменений кинетики флуоресценции свидетельствует об ингибировании транспорта электронов между фотосистемами, плохо работают ферменты, выполняющие репарационную функцию в ассимилирующей клетке – АДГ, ФЕП, МДГ и ИДГ. В этом районе, помимо органических загрязнений, выявлен эпицентр основных аномалий, обусловленный действием СХК [3].

Таким образом, одновременное использование таких "разнородных" физиолого-биохимических параметров, как отношение РДФК/Хл, кинетика флуоресценции хлорофилла ($\Phi L_{\text{макс}}/\Phi L_{\text{стац}}$), активности ферментов АДГ, ФЕП, МДГ и ИДГ в фотосинтезирующей клетке, возможно, является весьма перспективным подходом к проблеме биотестирования, позволяющим уловить неблагоприятные изменения в состоянии биоты задолго до появления видимых симптомов поражения растений.

On the Possibility of Utilizing the Physiological-Biochemical Indices of Aspen (*Populus tremula* L.) Leaves for Early Bioindication of the State of Ecosystems

O. B. VAISHLA, G. V. LAPINA, N. S. MOSKVITINA

Changes of structure-functional characteristics of leaves of aspen growing in various locations of the Northern Industrial Unit of Tomsk City were studied. The main contamination sources here are the Siberian Chemical Plant, Tomsk Petrochemical Plant, pig-raising unit, poultry plants, greenhouse complex, industry of the oblast center and transport. The multiplicity of anthropogenic influences has not made it possible to identify the character and level of contamination with respect to the parameters studied. However, the simultaneous application of such biotests as delayed kinetics of chlorophyll fluorescence, proportion of photosynthetic pigments, starch and protein content, ribulose biphosphate carboxylase (RBPC), phosphoenol pyruvate carboxylase (PEPC) glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (GAPD), malate dehydrogenase (MDH), isocitrate dehydrogenase (IDH) and alcohol dehydrogenase (ADH) activities, makes it possible to detect deviations from the normal physiological state of plants that cannot be perceived visually. The most serious changes in the function of the photosynthetic apparatus are the 3-fold decrease of the assimilation number, the minimal value of the ratio of the maximum to the stationary fluorescence level, the absence of activation of anaplerotic respiratory enzymes – have been found in aspen leaves in the vicinities of the village Kuzovlevo.

1. Биоиндикация загрязнений наземных экосистем, М., Мир, 1988.
2. Ю. А. Одум, Основы экологии, М., Мир, 1975.
3. Экология Северного промузла г. Томска. Проблемы и решения, Томск, ТГУ, 1994.
4. П. Д. Крамер, Т. П. Козловский, Физиология древесных растений, М., Лесн. пром-сть, 1983.
5. Н. К. Lichtenthaler, A. R. Wellburn, Biochem. Soc. Trans, 1983, 11, 591–598.
6. Е. И. Левчик и др. Спектры флуоресценции, Киев, Наук. думка, 1989, 102–107.
7. А. К. Юзбеков, Спектрофотометрические способы определения активности ключевых ферментов фотосинтетического метаболизма углерода у C_3 - C_4 -растений, Киев, Наук. думка, 1990, 1–32.
8. G. Hoffman et al., *Photosynthetica*, 1989, 23, 333–342.
9. P. D. Horton et al., Phil. Trans. Roy. Soc. London. B, 1989, 323, 269–278.
10. W. Adams, K. Winter, *Planta*, 1989, 177, 91–98.
11. В. И. Гапоненко, Всесоюз. радиобиол. съезд, М., 1989, 260.
12. Г. А. Корнюшенко, *Ботан. журн.*, 1989, 74, 921–927.
13. А. М. Кузин, *Изв. РАН*, 1993, 6, 824–832.
14. М. Харуэлл и др., Последствия ядерной войны. Воздействие на экологию и сельское хозяйство, М., Мир, 1988.
15. Д. М. Джавршян и др., Деп. в ВИНТИ, №7727-B89.
16. Д. М. Маторин, Факторы среды и организация первичного процесса фотосинтеза, Киев, 1989, 78–81.
17. O. Kooten, L. W. A. Hove, *Air Collect. and Ecosystem*, Grenoble, 1988, 596.
18. А. Х. Азенова и др., I Всесоюз. радиобиол. съезд, М., 1989, 257.