УДК 581.5:[541.144:543.42]

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ФОТОАБСОРБЦИИ В ЗЕЛЕНЫХ ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ

© 2016 В.М. Колдаев

Горнотаежная станция ДВО РАН

Статья поступила в редакцию 20.04.2016

Поглощение света хлорофиллами сравнительно с другими пигментами в спиртовых экстрактах из зеленых листьев оценивали по коэффициенту относительной фотоабсорбции (КОФ) спектрофотометрическим методом. Показано, что в течение суток КОФ изменялся на 7-10%, принимая минимальные значения в 4.00-8.00, а максимальные в 14.00-16.00. В начале летнего сезона КОФ возрастал, достигал максимума в период плодоношения, а затем его величина резко снижалась в конце вегетации. Выявлена наиболее сильная корреляционная связь КОФ с фазами вегетации, менее сильная с температурой и с продолжительностью светового дня. КОФ характеризует высокочувствительные к внешним воздействиям фотосинтетические процессы и может в перспективе использоваться как простой, не требующий дополнительных реактивов, быстрый и достаточно точный показатель для экспресс-анализа, контроля состояния и мониторинга растительных ресурсов.

Ключевые слова: экология, вегетационный период, хлорофилл, пигмент, спектрофотометрия

Климатические изменения и антропогенные воздействия сопровождаются трансформацией растительного покрова, в связи с этим особое значение приобретает прогноз состояния растений в различных экологических условиях. Адаптация растений связана с перестройками высокочувствительного к внешним воздействиям ассимилирующего аппарата. При этом показательными и значимыми оценками состояния растений могут служить изменения фотосинтетических процессов. Исследование их адаптационных изменений представляет особый интерес для выяснения общих закономерностей, связанных с формированием устойчивости биоценозов, а также их возможных вариаций в изменяющихся условиях. Кроме того, эти данные могут послужить дальнейшему развитию представлений о модифицирующей роли возрастной изменчивости растений и новых взглядов на оценку биологического разнообразия [1].

Как известно [2], фоторецепторная система зеленого листа строится на основе двух важнейших типов химических соединений: тетрапирролов, образующих циклические структуры хлорофиллов и открытую структуру пигментов фикобилинов, а также полиизопреноидов, порождающих большой и разнообразный класс каротиноидов. В каждой из этих групп веществ путем видоизменения основной структуры, образуется несколько химически различных соединений с максимумами поглощения в видимой части оптического диапазона от 400 до 800 нм в так называемом диапазоне фотосинтетически активной радиации. Вместе с тем, в утилизации энергии света участвуют также разнообразные пигменты листьев, имеющие в своей структуре хромофорные группы, - антоцианы, флавоноиды, алкалоиды и др., поглощающие световую энергию обычно в ультрафиолетовом (УФ) диапазоне 220-360 нм.

Соотношения поглощения световой энергии хлорофиллами и другими пигментами могут использоваться как показатели напряженности фотосинтетических процессов, что имеет практическое значение, например, для характеристики влияния среды на

Колдаев Владимир Михайлович, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории лекарственных растений. E-mail: kolvm42@rambler.ru

состояние растительных ресурсов. Сравнительно простым и достаточно точным методом оценки указанных соотношений служит спектрофотометрия извлечений из зеленого листа. Ранее нами было показано [3], что растения по спектральным показателям спиртовых экстрактов из листьев подразделяются на несколько групп в зависимости от длины волны наиболее высокого максимума (НВМ) в спектре поглощения. В экстрактах из листьев одной группы НВМ находятся в коротковолновой части УФ диапазона от 250 до 300, другой от 320 до 360 и третьей в видимом диапазоне от 410 до 450 нм. Экстракты из листьев растений, относящихся к той или иной группе, различаются и относительным поглощением хлорофиллов по сравнению с другими пигментами. Приведенные данные, характеризующие соотношения поглощения света, вполне вероятно, можно использовать и для оценки состояния растений в различных экологических условиях.

**Цель работы:** изучение относительное поглощательной способности хлорофиллов растений Приморья, исследование её суточной и сезонной изменчивости в зависимости от фаз вегетации и факторов среды.

Материалом исследований служили листья смородины черной (Ribes nigrum L.) сорта `Чемпион Приморья` и смородины красной (Ribes rubrum L.) сорта `Ранняя сладкая` (семейства Grossulariaceae), боярышника перистонадрезанного (Crataegus pinnatifida Bunge., Rosaceae), сирени обыкновенной (Syringa vulgaris L., Oleaceae), жимолости Маака (Lonicera maackii (Rupr.) Herd., Capriofoliaceae) и калужницы болотной (Caltha palustris L., Ranunculaceae), произрастающих на территории юга Приморского края.

От растений с использованием рандомизации случайными числами отбирали пробы по 3 листа. Из каждого листа тотчас вырезали в средней трети симметрично осевой жилке два фрагмента 1×1 см, которые растирали в ступке с кварцевым песком, небольшим количеством углекислого магния и 10-ю мл 95% этанола, затем фильтровали во флаконы темного стекла. Спектры поглощения (СП) фильтратов регистрировали на цифровом спектрофотометре UV-2501PC (Shimadzu, Япония) в диапазоне 220-710 нм с шагом 1 нм, обрабатывали по описанной ранее авторской методике [4], находили длину волны и оптическую плотность НВМ. Относительную поглощательную способность

хлорофиллов сравнительно с другими пигментами оценивали по коэффициенту относительной фотоабсорбции (КОФ), равному отношению оптической плотности (А664) на аналитической длине волны 664 нм, соответствующей максимуму поглощения хлорофилла, к оптической плотности (Анвм) на длине волны наиболее высокого максимума КОФ = A664/Aнвм. Предварительно было выявлено, что КОФ в течение суток варьирует в пределах 7-10%, достигая максимума в 14.00-16.00 (рис. 1). В эти часы в дальнейшем от растения каждого вида отбирали 15 проб 20-го числа с апреля по сентябрь. Материал обрабатывали статистически методами малой выборки и линейной парной корреляции [5].

Температуру воздуха измеряли ртутным термометром типа ТТ (ГОСТ 2823-73) при заборе проб. Продолжительность светового дня (ПСД) брали на сайте г. Владивостока. Для удобства сопоставлений и анализа фазам вегетации (ФВ) присвоили условные баллы: набухание почек и появление первых листьев, или начало вегетации – 0, бутонизация – 1, полное цветение – 2, плодоношение – 3, созревание – 2, диссеменация – 1 и окончание вегетации – 0.

Зарегистрированные АОС имели от 6 до 8 максимумов разной оптической плотности, или высоты в УФ и видимом диапазонах. Например, СП спиртового извлечения из листьев черной смородины (рис. 2, кривая 2), собранных в июле, включает 7 максимумов.

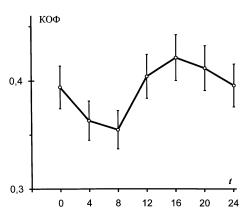
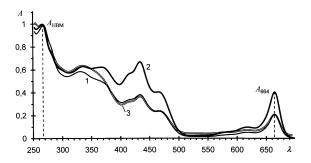


Рис. 1. Суточная вариация относительной фотоабсорбции в листьях черной смородины. По вертикали – значения КОФ, отн. ед.; по горизонтали – время t суток, час.

Первый максимум (267 нм), имеющий наибольшее значение оптической плотности ( $A_{HBM}$ ), второй и третий (336 и 337 нм) с оптическими плотностями на 37% меньше расположены в УФ, а остальные максимумы в видимом диапазонах. Четвертый (434 нм, пурпурно-синий) на 33, пятый (466 нм, синий) на 60, шестой (618 нм, красновато-оранжевый) на 90,3 и седьмой (664 нм, красный) на 59% меньше первого по высоте. Последний максимум выше предыдущего в 4,22 раза. Наименьший минимум приходится на «зеленую» волну 525 нм. (Градации цветов даны по графику цветностей Международной комиссии по освещению [6].) В приведенном примере совокупность максимумов видимой области, соответствующих поглощению хлорофиллами и каротиноидами, составляет типичный для этанольных извлечений из зеленых листьев спектральный комплекс, а максимумы УФ диапазона обусловлены поглощением хромофорами антоцианов,

флавоноидов и др. пигментов листа, что согласуется с данными литературы [7, 8].

Данные на примере черной смородины показывают, что в СП извлечений из листьев в начале и в конце вегетации (рис. 2, кривые 2 и 3) высота «хлорофилловых» максимумов в 1,35-1,95 и «каротиноидных» в 1,71-1,83 раза меньше, чем в фазе плодоношения, а длины волн соответствующих максимумов не изменяются. Аналогичные тенденции наблюдались в СП извлечений из листьев всех исследованных растений. Судя по полученным данным, в спектрах поглощения, зарегистрированных для извлечений из листьев в разных фазах вегетации, положения максимумов практически неизменны, а их оптическая плотность, отображающая концентрацию веществ, значительно изменяется.



**Рис. 2.** Спектры поглощения спиртовых извлечений из листьев черной смородины:

1 — в начале вегетации (май), 2 — в период плодоношения (июль), 3 — в заключительном этапе вегетации (сентябрь). По вертикали — оптическая плотность A, отн. ед.; по горизонтали — длина волны  $\lambda$ , нм

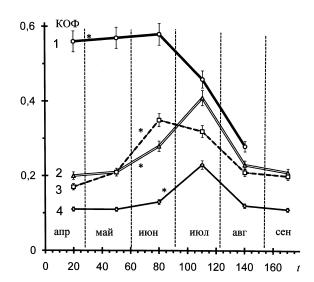


Рис. 3. Изменения относительной фотоабсорбции в течение вегетационного периода в экстрактах из: листьев калужницы болотной (1), черной (2) и красной (3) смородины, боярышника перистонадрезанного (4). Звездочкой отмечено начало цветения. По вертикали – КОФ, отн. ед.; по горизонтали – время t наблюдения, дни

Величина КОФ по мере вегетационного развития растения также претерпевает соответствующие изменения. Так, КОФ возрастает после начала цветения, достигая максимума в фазе плодоношения: у боярышника в 2,09, черной смородины в 2,05, красной смородины 1,84, жимолости Маака в 1,64, сирени в 1,14

и калужницы в 1,03 раза по сравнению с начальной фазой (рис. 3). На заключительных фазах вегетации созревания и диссеменации КОФ уменьшается, приближаясь к значениям, полученным в начале вегетации.

Неизменность положения максимумов в СП экстрактов из зеленых листьев, собранных в разные фазы вегетации, и существенные изменения высоты максимумов, особенно соответствующих поглощению хлорофиллов, свидетельствует о стабильности качественного набора веществ и изменчивости их концентраций, достигающей максимума в фазе плодоношения, что и отображается сезонной динамикой КОФ. Сказанное не противоречит литературным данным [10, 11], полученным при изучении структурно-функциональных сдвигов фотосинтетического аппарата, ультраструктуры клеток мезофилла и пигментного комплекса хлоропластов на примере лиственницы сибирской.

Поскольку важнейшими внешними факторами, влияющими на фотосинтез, служат температура окружающей среды и продолжительность светового дня [9], то, вероятно, их изменения могли сказываться на величине КОФ. Как показали результаты корреляционного анализа (табл. 1), наиболее высокий коэффициент корреляции (R) относительной фотоабсорбции отмечается у черной смородины с ФС, а с температурой среды и ПСД в 1,16-1,41 раза меньше. Аналогичные корреляции получены и для красной смородины. У боярышника наибольшая сила связи КОФ прослеживается также с

ФВ, а с температурой и ПСД в 1,14-1,46 раза меньше. Напротив, у сирени R имеет наибольшие значения для связи КОФ с ПСД, для связи с ФВ в 1,2 раза меньше, а с температурой корреляция недостоверна. Примерно одинаковые взаимосвязи КОФ прослеживаются у жимолости Маака и калужницы — с ФВ наибольшие, а с температурой и ПСД недостоверные. Таким образом, в среднем для всех исследованных растений выявлена наиболее сильная связь КОФ с ФВ и несколько меньшей силы с ПСД и температурой.

КОФ, как относительный показатель фотосинтетических процессов, проявляет связь с факторами среды температурой воздуха и продолжительностью светового дня. Поскольку КОФ является интегрированным показателем состояния важнейших фотосинтетических процессов, безусловно, представляет интерес проведение исследований его изменчивости под влиянием различных антропогенных загрязнений среды, что планируется провести в дальнейшем. Изменения КОФ в процессе вегетации характерны для растений всех выделенных нами трех групп [12, 13] в зависимости от принадлежности НВМ к тому или иному оптическому диапазону. Так, боярышник перистонадрезанный, жимолость Маака и сирень обыкновенная входят в первую группу (длины волн НВМ от 250 до 310 нм), черная и красная смородина во вторую (320-360) и калужница болотная в третью (410-450), соответственно у калужницы КОФ достигает наибольших значений, смородины средних и у боярышника наименьших.

**Таблица 1.** Температура (Т,°С), продолжительность светового дня (ПСД, часы), фазы вегетации (ФВ, условные баллы) при наблюдении разных растений и коэффициент корреляции (R) между относительной фотоабсорбцией и факторами (\* – недостоверно при р > 0,05)

Растение	Фак тор	Дни наблюдений						R		
		20	50	81	111	142	173	K		
		апрель	май	июнь	июль	август	сентябрь	Фактор		
	T	8±1	14±1	20±1	22±1	17±1	15±1			
	ПСД	13,6	14,1	15,4	14,9	13,8	12,3	T	ПСД	ΦВ
черная смородина	ФВ	0	1	2	3	1	0	0,79 ±0,15	0,65 ±0,23	0,92 ±0,06
красная смородина	ФВ	1	2	3	2	1	0	0,81 ±0,14	0,85 ±0,11	0,79 ±0,15
боярыш- ник	ФВ	0	1	2	3	2	1	0,69 ±0,21	0,54 ±0,19	0,79 ±0,14
сирень	ФВ	0	2	2	3	1	0	0,14* ±0,08	0,78 ±0,16	0,65 ±0,23
жимолость	ФВ	0	2	3	2	1	0	0,34* ±0,12	0,38* ±0,09	0,68 ±0,21
калужница	ФВ	2	2	3	1	0	0	0,27* ±0,06	0,31* ±0,11	0,93 ±0,05

Выводы: результаты работы дополняют представления о вариабельности фотосинтетических процессов на различных фазах вегетации и могут служить основой при разработке методов оценки устойчивости растений в условиях изменяющейся среды обитания. Следует заметить, что получение значений КОФ для одной пробы занимает примерно 15 мин., включая подготовку экстракта, регистрацию спектра и другие сопутствующие манипуляции. При этом не требуется дополнительных реактивов, а погрешность современного цифрового спектрофотометра, как известно [14], не превышает ±0,004 А. Описанная методика определения относительной поглощательной способности хлорофиллов зеленого листа довольно проста и мало трудоемка (по сравнению, скажем, с тонкослойной хроматографией), что немаловажно в полевой практике, имеет достаточно высокую точность. КОФ можно

использовать в качестве спектрофотометрического теста фотосинтетических процессов при экспрессанализе, контроле, мониторинге состояния растений и других задачах, связанных с экологией растительных ресурсов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- 1. *Меньшакова, М.Ю.* Изменчивость фотосинтетического аппарата растений: бореальные и субарктические экосистемы. М.: Наука, 2008. 117 с.
- Алехин, Н.Д. Физиология растений / Н.Д. Алехин, Ю.В. Банокин, В.Ф. Гавриленко и др. – М.: Академия, 2007. 640 с.
- 3. *Колдаев, В.М.* Разновидности абсорбционных спектров этанольных извлечений из листьев растений // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16, № 5(3). С. 1793-1795.

- Колдаев, В.М. Фотометрические параметры абсорбционных спектров экстрактов из растений. / В.М. Колдаев, В.В. Ващенко, Г.Н. Бездетко // Тихоокеанский медицинский журнал. 2009. № 3. С. 49-51.
- 5. Зайцев, Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.
- Домасев, М.В. Цвет, управление цветом, цветовые расчеты и измерения / М.В. Домасев, С.П. Гнатюк. СПб.: Питер, 2009. 224 с.
- Титова, М.С. Содержание каротиноидов в хвое представителей семейства Cupressaceae и Тахасеае // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 2. С. 63-65.
- 8. *Шмидт, В.* Оптическая спектроскопия для химиков и биологов. М.: Техносфера, 2007. 368 с.
- Пильщикова, Н.В. Физиология растений с основами микробиологии. – М:, Мир, 2004. 184 с.
- Цельникер, Ю.Л. Анализ влияния факторов среды на фотосинтез хвойных Предбайкалья / Ю.Л. Цельникер, М.Д. Корзухин, Г.Г. Суворова и др. // Проблемы экологиче-

- ского мониторинга и моделирования экосистем. 2007. Т. 21. С. 265-292.
- Загирова, С.В. Структура, содержание пигментов и фотосинтез хвои лиственницы сибирской на северном и приполярном Урале // Лесоведение. 2014. № 3. С. 3-10.
- 12. *Хелдт, Г.-В.* Биохимия растений. М.: БИНОМ, 2011. 471 с.
- Колдаев, В.М. Модификация спектров поглощения экстрактов из зеленых листьев / Бюллетень БСИ ДВО РАН [Электронный ресурс]: научный журнал / Ботанический сад-институт ДВО РАН. Владивосток, 2014. Вып. 11. С. 48-52.
- 14. Колдаев, В.М. Соотношение максимумов в абсорбционных спектрах извлечений из зеленых листьев // Мат-лы IV Междун. науч.-практ. интернет-конф. «Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям». Полтавская государственная аграрная академия, Полтава, 2015. С. 213-215.
- 15 Спектрофотометры исследовательского класса. URL: <a href="http://www.altey.kz>/...Shimadzu/">http://www.altey.kz>/...Shimadzu/</a> (дата обращения: 18.03.2016).

## THE SEASONAL CHANGE OF RELATIVE PHOTOABSORPTION IN GREEN LEAVES OF PLANTS

© 2016 V.M. Koldaev

## Mountain-taiga Station named after V.L. Komarov FEB RAS

The light absorption of chlorophyll comparatively with other pigments was determined with the coefficient of relative photoabsorption (CRPA) using the spectrophotometrical method in the ethanol extracts of green leaves. The research reveals that the CRPA varied from 7 to 10% during twenty-four hours period and reached its minimum and maximum at 4-8 a.m. and 2-4 p.m. respectively. At the beginning of summer season the CRPA grew and reached its maximum during the fruitage period, however its value dropped quickly at the end of vegetation period. The experiments demonstrated a strong correlation between the CRPA and the air temperature and the length of the daytime period. The CRPA could be used for the description of photosynthetic processes which are high-setnsitive to external factors and could be also prospectively used as a rather simple, quick, quite accurate and not reactive demanding indicator for express-analysis, control and monitoring of vegetative resources.

Key words: ecology, vegetation period, chlorophyll, pigment, spectrophotometry

Vladimir Koldaev, Doctor of Biology, Professor, Leading Research Fellow at the Laboratory of Medical Plants. E-mail: kolvm42@rambler.ru