

УДК 57:615.322:53.082.7

## СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЗЕЛЕННЫХ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ РАЗНЫХ ЖИЗНЕННЫХ ФОРМ

Колдаев В.М.

*Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, e-mail: kolvm42@rambler.ru*

Целью работы явились сравнительные исследования и сопоставления величины числовых показателей (ЧП) абсорбционных спектров экстрактов из листьев трав, произрастающих на открытых пространствах и под пологом леса, а также кустарников, лиан и деревьев. В качестве ЧП использовали коэффициент относительной фотоабсорбции как отношение оптической плотности на аналитической длине волны поглощения хлорофилла в красной области к оптической плотности на длине волны наиболее высокого максимума, интегральную интенсивность поглощения и коэффициент относительной интенсивности поглощения. Спектры поглощения экстрактов из листьев деревьев, лиан и трав, произрастающих на открытых пространствах, имеют самые низкие значения ЧП. Для тенелюбивых трав характерны наиболее высокие значения ЧП. Величины ЧП кустарников занимают промежуточные значения между ЧП деревьев и тенелюбивых трав. Полученные результаты согласуются с современными представлениями о поглощении света в листьях растений. Представленный в работе экспериментальный материал демонстрирует новый подход к спектрофотометрической оценке поглощения света компонентами листьев растений. Применение в анализе поглощения света листьями растений ЧП расширяет область приложений молекулярной спектрофотометрии, что имеет значение для увеличения полезной информации, извлекаемой с помощью спектрофотометра. Используемые в работе ЧП целесообразно применять на практике как спектрофотометрические критерии в мониторинге растительных ресурсов и экологических оценках состояния леса при антропогенных, климатических стрессовых воздействиях.

**Ключевые слова:** спектр поглощения, числовой показатель, интегральная интенсивность поглощения, жизненная форма

## THE ABSORPTION SPECTRA OF EXTRACTS FROM GREEN LEAVES OF PLANTS OF DIFFERENT LIFE FORMS

Koldaev V.M.

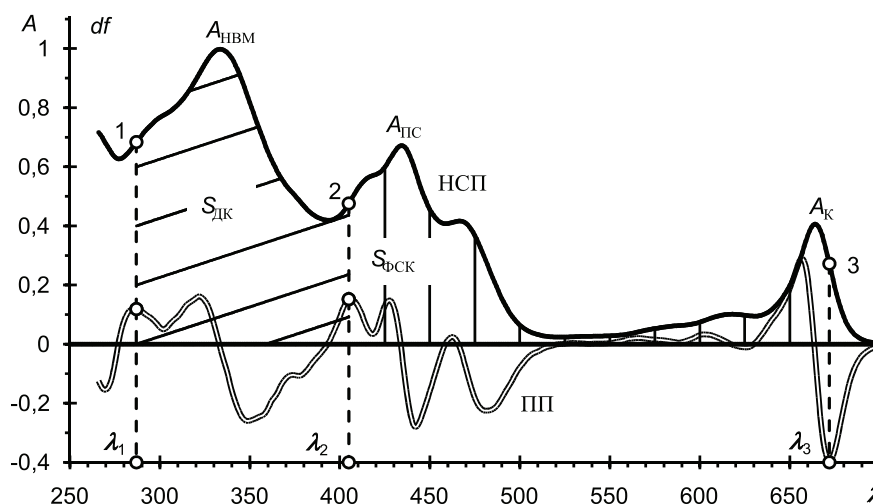
*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, e-mail: kolvm42@rambler.ru*

The purpose of the study was comparative studies and comparisons of the numerical indices (NI) of the absorption spectra of extracts from the leaves of grass growing in open spaces and under the canopy of the forest, as well as shrubs, lianas and trees. The factor of relative photoabsorption as the ratio of the optical density at the analytical absorption wavelength of chlorophyll in the red region to the optical density at the wavelength of the highest maximum, the integral absorption intensity, and the coefficient of relative absorption intensity were used as the NI. Absorption spectra of extracts from leaves of trees, lianas and grasses that grow in open spaces have the lowest NI. The shadow-loving herbs are characterized by the highest values of NI. The values of state of emergency of shrubs occupy intermediate values between the state of emergency of trees and shade-loving grasses. The results obtained are consistent with modern concepts of the absorption of light in plant leaves. The experimental material presented in the work demonstrates a new approach to the spectrophotometry evaluation of light absorption by the components of leaves of plants. Application in the analysis of light absorption by plant leaves extends the range of application of molecular spectrophotometry, which is important for increasing useful information extracted with a spectrophotometer. Used in the work of NI it is expedient to apply in practice as criteria in the monitoring of plant resources and ecological assessments of the state of forests under anthropogenic, climatic stresses.

**Keywords:** absorption spectra, numeric indicator, integral absorption intensity, life-form

Важнейшим показателем функции растений служит преобразование световой энергии. К настоящему времени детально исследованы механизмы фотосинтеза, свойства основных пигментов фотосинтетического комплекса (ФСК) хлорофиллов и каротиноидов, поглощающих фотоны видимой области оптического спектра [1, 2]. Сравнительно меньше уделяется внимания другим компонентам (ДК) листа, не входящих в фотосинтетическую систему, антоцианам [3], кумаринам, сапонинам и т.п., поглощающих обычно в ультрафиолетовом (УФ) диапазоне. Соотношения интенсивно-

стей поглощения веществами ФСК и ДК могут служить характеристиками утилизации света растениями. Указанные соотношения определяются методами абсорбционной спектрофотометрии экстрактов из зеленого листа с применением в качестве критериев числовых показателей спектров поглощения (ЧПС) [4]. Однако ЧПС листьев растений разных жизненных форм, в зависимости от условий обитания, хотя и могут служить их признаками и количественными показателями состояния, остаются малоизученными и недостаточно полно представлены в научной литературе.



Нормированный спектр поглощения (НСП) и его первая производная (ПП) для экстракта из листьев вороньего глаза обыкновенного (*Paris quadrifolia* L.). 1, 2 и 3 – точки перегиба.  $A_{HBM}$ ,  $A_{ПC}$  и  $A_K$  – оптические плотности наиболее высокого, пурпурно-синего и красного максимумов.  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  и  $\lambda_3$  – абсциссы точек перегиба,  $S_{ФСК}$  и  $S_{ДК}$  – площади, соответствующие поглощению веществами ФСК и другими компонентами листа. По горизонтали – длина волны  $\lambda$  в нм, по вертикали – оптическая плотность  $A$  и значения  $df$  производной в отн. ед. Масштаб  $df$  приведен к масштабу  $A$  для наглядности

### Цель исследования

Целью работы явились сравнительные исследования и сопоставления величины ЧПСП экстрактов из листьев трав, произрастающих на открытых пространствах и под пологом леса, а также кустарников, лиан и деревьев.

### Материалы и методы исследования

В работе использованы листья 25 видов деревьев, лиан, кустарников, а также трав, предпочитающих как открытые пространства («светлюбивые»), так и затененные («тенелюбивые») в фазе начала плодоношения. Для исследований брали свежие листья от 6–8 растений каждого вида во второй половине дня, из которых немедленно готовили экстракты по описанной ранее методике [4]. Спектры поглощения (СП) регистрировали на цифровом спектрофотометре UV-2501PC (Shimadzu, Япония) в диапазоне 220–710 нм с шагом 1 нм. Полученные спектры нормировали по наибольшему максимуму. Для нормированных спектров поглощения (НСП) находили первую производную и по абсциссам ее локальных экстремумов определяли длины волн точек перегиба (рисунок, точки 1, 2 и 3) контура полосы поглощения (ПП).

Для количественных оценок использовали такие ЧПСП, как коэффициент относительной фотоабсорбции (КОФ), равный отношению оптической плотности ( $A_K$ ) на аналитической длине волны поглощения хлорофилла в красной области (рисунок), к оптической плотности ( $A_{HBM}$ ) на длине волны наиболее высокого максимума (НВМ):

$$КОФ = A_K / A_{HBM}$$

Интегральные интенсивности поглощения, численно равные площади под контуром НСП в пределах границ ПП, вычисляли по формуле определенного

интегрирования Симпсона [5]. Интегральная интенсивность поглощения ( $S_{ДК}$ ) компонентами листа, не входящих в состав фотосинтетического комплекса, соответствует площади под контуром ПП в УФ диапазоне (рисунок, косая штриховка). Пределами интегрирования брали абсциссу  $\lambda_1$  точки 1 перегиба на левом склоне контура в окрестностях  $A_{HBM}$  и абсциссу  $\lambda_2$  точки 2 перегиба на левом склоне в окрестностях «пурпурно-синего» максимума  $A_{ПC}$ .

Интегральная интенсивность  $S_{ФСК}$  поглощения веществами группы ФСК численно равна площади под контуром полосы поглощения в видимом диапазоне (рисунок, вертикальная штриховка). Для ее вычисления брали пределами интегрирования абсциссу  $\lambda_2$  точки 2 перегиба на левом склоне «пурпурно-синего» максимума  $A_{ПC}$  и абсциссу  $\lambda_3$  точки 3 перегиба на правом склоне «красного» максимума  $A_K$ . Интегральные интенсивности поглощения выражали в условных единицах (у. е.).

Коэффициент относительной интегральной интенсивности поглощения (КОИП) вычисляли как отношение указанных выше интегральных интенсивностей:

$$КОИП = S_{ФСК} / S_{ДК}$$

Нормировку спектров и все вычислительные операции производили с помощью оригинальных авторских компьютерных программ, зарегистрированных в Государственном реестре интеллектуальной собственности № 2009614442 и 2017614738 [6, 7], на обработку одного НСП затрачивали около 1-й секунды. Полученные результаты статистически обрабатывали методами малой выборки и парной линейной корреляции [8].

### Результаты исследования и их обсуждение

Полученные данные (таблица) показывают, что в среднем наименьшие значения

ЧПСП имеют экстракты из листьев исследованных деревьев. Среди них ель гималайская и облепиха крушиновидная, произрастающие на открытых пространствах, отличаются самыми низкими значениями ЧПСП; так, величина КОФ на 38,9–55,5,  $S_{\text{ФСК}}$  на 37,7–56,2 и КОИП на 25,8–38,7%, а  $\lambda_{\text{НВМ}}$  на 2–8 нм меньше средних.

Средние значения ЧПСП экстрактов из листьев исследованных лиан мало отличаются от аналогичных показателей деревьев ( $p > 0,05$ ). Среди лиан актинидия аргута и лимонник китайский, произрастающие на более светлых участках по сравнению с другими лианами, имеют наиболее низкие значения; КОФ на 15,8–26,3,  $S_{\text{ФСК}}$  на 11,8–23,6, КОИП на 25,1%, а  $\lambda_{\text{НВМ}}$  на 1–3 нм меньше средних. ЧПСП остальных лиан близки к средним значениям.

Экстракты из листьев «светлолюбивых» трав имеют значения ЧПСП в среднем выше, чем у деревьев, а именно: КОФ на 21,7,  $S_{\text{ФСК}}$  на 23,2 и КОИП на 11,4%. При этом у амаранта колосистого и вероники длиннолистной, собранных на освещенных участках самые низкие значения ЧПСП на 14,7–52,9% меньше средних, а  $\lambda_{\text{НВМ}}$  на 8–14 нм больше среднего. Превышение средних величин ЧПСП экстрактов из листьев кустарников над соответствующими значениями, характерными для деревьев, еще больше и достигает 37,9–45,6%. В абсорбционных спектрах экстрактов из листьев указанных растений  $\lambda_{\text{НВМ}}$  находится в пределах УФ диапазона.

Наконец, самые высокие значения ЧПСП обнаружены для экстрактов из листьев «тенелюбивых» трав, у которых они превосходят аналогичные показатели деревьев в 3,13–3,48 раза, особенно у гулявника лекарственного и чемерицы даурской, произрастающих под пологом леса, при этом  $\lambda_{\text{НВМ}}$  находится в видимом пурпурно-синем диапазоне.

При определении взаимосвязи между ЧПСП и  $\lambda_{\text{НВМ}}$  получены довольно высокие значения коэффициентов корреляции от 0,95 до 0,97 ( $p < 0,05$ ). Другими словами, низким значениям ЧПСП соответствуют короткие длины волн НВМ, т.е. в листьях растений с такими показателями поглощают в основном ДК в УФ диапазоне. Напротив, высоким значениям ЧПСП соответствуют поглощения в длинноволновом, видимом диапазоне, преимущественно веществами ФСК.

В спектрофотометрическом анализе экстрактов из листьев растений разных жизненных форм примененные ЧПСП ранее не использовались, поэтому возможны параллели только с известными биохими-

ческими и физиологическими данными для фотосинтетической системы. Например, в работах, выполненных на альпийских травах [9] и саженцах тиса [10], показано, что в условиях повышенной освещенности замедляется как накопление биомассы, так и развитие растений за счет, по мнению авторов, снижения фотосинтетической активности. Исследования мезоструктуры листьев, содержания каротиноидов и хлорофиллов [9–12] свидетельствуют о возрастании потребления лучистой энергии и скорости фотосинтеза в листьях при низкой освещенности. Кроме того, в условиях высокой освещенности в листьях увеличивается содержание каротиноидов, как реакция защиты фотосистемы от фотохимического повреждения, а содержание хлорофиллов снижается [12]. Из всего этого, вместе взятого, следует, что в условиях повышенной освещенности активности фотосинтеза уменьшается, а повышение освещенности влечет за собой его возрастание. С этими следствиями вполне согласуются полученные нами низкие в 3–5 раз значения КОФ,  $S_{\text{ФСК}}$  и КОИП для растений, предпочитающих открытые пространства с повышенной освещенностью, по сравнению с растениями, произрастающими в затененных условиях.

Таким образом, можно отметить, что использованные в работе ЧПСП с большой вероятностью отображают свойства фоторецепторной системы растений, а полученные результаты согласуются с известными фактами.

### Заключение

Представленный в работе экспериментальный материал демонстрирует новые подходы спектрофотометрической оценки поглощательных свойств листьев растений. Разработанный метод числовых показателей спектров поглощения можно назвать для краткости «метод ЧПСП».

Растения нижнего яруса наземной биоты закономерно отличаются наибольшими значениями ЧПСП и наиболее высокой интегральной интенсивностью поглощения. Видам растений среднего яруса присущи средние значения ЧПСП и соответственно меньшая интенсивность поглощения компонентами листа. Большинство видов растений верхнего яруса леса имеют наименьшие значениями ЧПСП и наименьшую интенсивность поглощения света.

Полученные результаты не противоречат современным представлениям биохимии и физиологии фоторецепторного аппарата растений.

Числовые показатели длины волны наибольшего максимума ( $\lambda_{\text{НВМ}}$ ), коэффициента относительной фотоабсорбции (КОФ), интегральной интенсивности поглощения фотосинтетического комплекса ( $S_{\text{ФСК}}$ ) и коэффициента относительной интегральной интенсивности поглощения (КОИП) экстрактов из листьев растений разных жизненных форм

Жизненные формы	Наименование растения	Числовые показатели спектров поглощения			
		$\lambda_{\text{НВМ}}$	КОФ	$S_{\text{ФСК}}$	КОИП
Деревья	Бархат амурский <i>Phellodendron amurense</i> Rupr.	292 ± 0,2	0,17 ± 0,02	27,45 ± 1,72	0,32 ± 0,02
	Береза плосколистная <i>Betula platyphylla</i> Sukacz.	266 ± 0,2	0,27 ± 0,02	37,98 ± 2,65	0,39 ± 0,02
	Груша обыкновенная, сорт «Петровская» <i>Pyrus communis</i> L.	284 ± 0,3	0,20 ± 0,02	28,67 ± 1,98	0,26 ± 0,01
	Ель гималайская <i>Piceae morinda</i> Link.	276 ± 0,2	0,08 ± 0,005	11,19 ± 0,97	0,19 ± 0,008
	Облепиха крушиновидная (женская) <i>Hippophae rhamnoides</i> L.	270 ± 0,2	0,11 ± 0,007	15,92 ± 1,24	0,23 ± 0,02
	Черемуха Маака <i>Padus maackii</i> Rupr. Kom.	282 ± 0,3	0,23 ± 0,01	32,12 ± 2,16	0,45 ± 0,03
	М ± m	278,3 ± 3,9	0,18 ± 0,03	25,55 ± 4,12	0,31 ± 0,04
Лианы	Актинидия аргута <i>Actinidia arguta</i> Planch ex Miq.	281 ± 0,3	0,19 ± 0,02	27,13 ± 1,69	0,32 ± 0,02
	Актинидия коломикта <i>Actinidia kolomikta</i> Maxim.	270 ± 0,2	0,14 ± 0,007	21,02 ± 1,65	0,24 ± 0,01
	Краснопузырник округлый <i>Celastrus orbiculata</i> Thunb.	268 ± 0,1	0,27 ± 0,02	37,6 ± 2,14	0,48 ± 0,03
	Лимонник китайский <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Ball.	268 ± 0,1	0,16 ± 0,01	24,25 ± 2,12	0,24 ± 0,01
	М ± m	271,7 ± 3,12	0,19 ± 0,03	27,5 ± 3,59	0,32 ± 0,06
Травы «светлолюбивые»	Аконит Кузнецова <i>Aconitum kusnezoffii</i> Rchb.	268 ± 0,2	0,28 ± 0,02	42,84 ± 3,12	0,46 ± 0,03
	Амарант колосистый <i>Amaranthus viridis</i> L.	258 ± 0,2	0,22 ± 0,02	28,37 ± 2,34	0,26 ± 0,01
	Бархатцы отклоненные обыкновенные <i>Tagetes patula</i> L.	270 ± 0,3	0,24 ± 0,02	37,16 ± 2,86	0,44 ± 0,03
	Вероника длиннолистная <i>Veronica longifolia</i> L.	280 ± 0,4	0,11 ± 0,007	15,67 ± 0,98	0,24 ± 0,01
	Горчица белая <i>Sinapis alba</i> L.	256 ± 0,3	0,28 ± 0,01	42,24 ± 3,16	0,37 ± 0,02
	М ± m	266,4 ± 4,35	0,23 ± 0,03	33,26 ± 5,09	0,35 ± 0,04
Кустарники	Жимолость съедобная <i>Lonicera edulis</i> Turcz.	338 ± 0,3	0,25 ± 0,01	39,37 ± 3,02	0,58 ± 0,04
	Ирга овальнолистная <i>Amelanchier ovalis</i> Medik.	271 ± 0,2	0,24 ± 0,02	36,05 ± 3,03	0,35 ± 0,02
	Сирень обыкновенная <i>Syringa vulgaris</i> L.	336 ± 0,3	0,29 ± 0,02	42,04 ± 3,14	0,65 ± 0,05
	Смородина красная, сорт «Ранняя сладкая» <i>Ribes rubrum</i> L.,	353 ±	0,31 ± 0,02	43,81 ± 3,16	0,69 ± 0,05
	Малина обыкновенная, сорт «Искра» <i>Rubus idaeus</i> L.	257 ± 0,2	0,37 ± 0,03	54,64 ± 4,02	0,58 ± 0,04
	М ± m	311,2 ± 19,5	0,29 ± 0,02	43,18 ± 3,15	0,57 ± 0,06
Травы «тенелюбивые»	Гулявник лекарственный <i>Sisymbrium officinale</i> (L.) Scop.	434 ± 0,5	0,59 ± 0,04	83,78 ± 7,32	0,93 ± 0,07
	Каланхоэ перистое <i>Kalanchoe pinnata</i> (Lam.) Pers.	434 ± 0,3	0,61 ± 0,05	90,97 ± 8,11	1,3 ± 0,09
	Калужница болотная <i>Calitha palustris</i> L.	435 ± 0,4	0,55 ± 0,04	84,71 ± 7,22	0,82 ± 0,06
	Крапива двудомная <i>Urtica dioica</i> L.	435 ± 0,4	0,60 ± 0,05	96,9 ± 8,03	0,80 ± 0,06
	Чемерица даурская <i>Veratrum dahuricum</i> (Turcz.) Loes.	434 ± 0,4	0,61 ± 0,05	88,42 ± 6,78	1,0 ± 0,09
	М ± m	434,4 ± 0,24	0,59 ± 0,01	88,96 ± 2,37	0,97 ± 0,09

Использованные в работе ЧПСП, отображающие фоторецепторные свойства листа, целесообразно применять на практике как спектрофотометрические критерии в мониторинге, экологии природных растительных ресурсов и сельскохозяйственных растений.

#### Список литературы

1. Медведев С.С. Физиология растений. – СПб.: БХВ-Петербург, 2012. – 512 с.
2. Blankenship R.E. Molecular mechanisms of photosynthesis. – Washington: John Wiley & Sons, 2014. – 312 p.
3. Oren-Shamir M. Does anthocyanin degradation play a significant role in determining pigment concentration in plants? // *Plant Science*. – 2009, Vol. 177, Is. 4. – P. 310–316.
4. Колдаев В.М. Интегральные показатели спектров поглощения экстрактов из зеленых листьев // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. – 2017. – Т. 19, № 2(3). – С. 463–467.
5. Composite Simpson's rule. URL: [https://en.wikipedia.org/wiki/Simpson's\\_rule](https://en.wikipedia.org/wiki/Simpson's_rule) (дата обращения: 25.01.2018).
6. Колдаев В.М., Зориков П.С., Бездетко Г.Н. Спектр [Электронный ресурс] Электронный бюллетень компьютерных программ, баз данных, топологии микросхем. – 2009. – № 4. – С. 215–216. URL: [http://www.fips.ru/Electronic\\_bulletin/Programs\\_db\\_topology/01\\_PR/pdf](http://www.fips.ru/Electronic_bulletin/Programs_db_topology/01_PR/pdf) (дата обращения: 25.01.2018).
7. Колдаев В.М., Зориков П.С., Титова М.С. Симпсон-2 [Электронный ресурс] Электронный бюллетень компьютерных программ, баз данных, топологии микросхем. – 2017. – № 5. URL: [http://www1.fips.ru/wps/PA\\_FipsPub/res/BULLETIN/PrEVM/2017/05/20/INDEX.HTM](http://www1.fips.ru/wps/PA_FipsPub/res/BULLETIN/PrEVM/2017/05/20/INDEX.HTM) (дата обращения: 25.01.2018).
8. Мятлев В.Д. Теория вероятностей и математическая статистика. Математические модели / В.Д. Мятлев, Л.А. Панченко, Г.Ю. Ризниченко, А.Т. Терехин. – М.: «Академия», 2009. – 320 с.
9. Pandey S., Kumar N., Kushwaha R. Morpho-anatomical and physiological leaf traits of two alpine herbs, *Podophyllum hexandrum* and *Rheum emodi* in the Western Himalaya under different irradiances // *Photosynthetica*. – 2006. – Vol. 44, No 1. – P. 11–16.
10. Iszkulo G., Boratyński A. Analysis of the relationship between photosynthetic photon flux density and natural *Taxus baccata* seedlings occurrence // *Acta Oecologica*. – 2006. – Vol. 29, No 1. – P. 78–84.
11. Holik L., Niineme U., Kull O. Photosynthetic acclimation to light in woody and herbaceous species: a comparison of leaf structure, pigment content and chlorophyll fluorescence characteristics measured in the field // *Plant biology*. – 2012. Vol. 14, No 1. – P. 88–99.
12. Lu C., Lu Q., Zhang J., Kuang T. Characterization of photosynthetic pigment composition, photosystem II photochemistry and thermal energy dissipation during leaf senescence of wheat plants grown in the field // *Journal of Experimental Botany*. – 2001, Vol. 52, Is. 362. – P. 1805–1810.