

Н.М. ТОПЧІЙ, О.О. СИВАШ, Р.М. ФОМІШИНА

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна

ВПЛИВ СВІТЛА РІЗНОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ ТА СПЕКТРАЛЬНОГО СКЛАДУ НА ПІГМЕНТНИЙ АПАРАТ І ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХЛОРОПЛАСТІВ ГОРОХУ (*PISUM SATIVUM* L.)

Ключові слова: спектральний склад, фотосинтетичний апарат, пігмент-білкові комплекси, фотосистема, хлорофіл, каротиноїди, електронний транспорт.

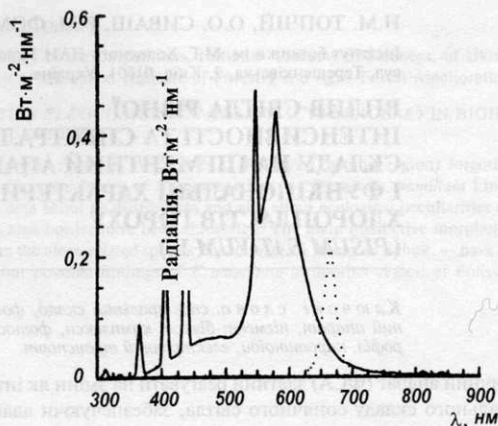
Фотосинтетичний апарат (ФСА) здатний реагувати на зміни як інтенсивності, так і спектрального складу сонячного світла, забезпечуючи адаптацію рослин до умов навколишнього середовища. Це, зокрема, проявляється у змінах абсолютного вмісту фотосинтетичних компонентів, а також їх співвідношення [2, 3, 8, 10]. Показано, що рослини, вирощені на світлі високої інтенсивності, мають вищу фотосинтетичну здатність, адаптуються до швидкого перетворення сонячних квантів, характеризуються вищим співвідношенням хлорофілів a/b та рівнем швидкості електронного транспорту, зменшенням кількості світлозбирального комплексу (СЗКІІ) і хлорофілу у фотосистемі ІІ (ФСІІ), меншим вмістом пігментів. Навпаки, в умовах низької інтенсивності світла рослини компенсують обмежену кількість світлової енергії значним підвищенням вмісту пігментів, розмірів антени ФСА та зниженням співвідношення хлорофілів a/b [15].

Проте аналіз рослин, що знаходяться в умовах різної інтенсивності та спектральних характеристик штучного освітлення, не дає змоги виявити певну закономірність стосовно вмісту, співвідношення пігментів і кількості власне СЗКІІ. Зміни вмісту пігментів і функціональних характеристик в умовах штучного освітлення вивчені недостатньо, хоча це є необхідним для розширення загальних уявлень про вплив спектрального складу світла на ФСА, визначення оптимальних умов вирощування рослин і прояснення питань їх адаптації до умов освітлення. Причиною недостатнього вивчення проблеми є суттєва відмінність спектрів сонячного світла та джерел штучного освітлення. Спектр більшості люмінесцентних ламп, на відміну від сонячного, характеризується невеликою кількістю променів у червоній області (660—680 нм) при значному випромінюванні в зелено-оранжевій [6]. Корекцію спектрального складу світла можна здійснити за допомогою відповідних ламп і світлофільтрів, які є не досить ефективними, тому що охоплюють широкі спектральні діапазони. Останнім часом, однак, ситуація принципово

© Н.М. ТОПЧІЙ, О.О. СИВАШ, Р.М. ФОМІШИНА, 2004

ISSN 0372-4123. Укр. ботан. журн., 2004, т. 61, № 5

91



Спектральний розподіл енергії світла люмінесцентної лампи ЛБ-40 (крива) та «червоного» світлодіоду L-53SRC-F (крапки)

Spectral distribution of light energy of luminescent lamp LB-40 (line) and «red» LED L-53SRC-F (dotted line)

змінюється у зв'язку з появою на ринку світлодіодів з великою випромінювальною здатністю і широкою гамою кольорів, що дає можливість коригувати спектральну інтенсивність випромінювання штучних джерел світла та забезпечити концентрований вплив.

Виходячи з цього, ми поставили завдання здійснити корекцію спектрального складу світла люмінесцентних ламп за допомогою випромінювання вузького спектрального діапазону в червоній області як найефективнішого з погляду фотосинтезу та вивчити вплив червоної підсвітки на пігментний склад та функціональні характеристики хлоропластів гороху.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження був *Pisum sativum* L., який вирощували на середовищі Кнопа протягом 14 діб при температурі 22 °C та фотоперіоді 14 год. Джерелом фонового освітлення обрано люмінесцентні лампи ЛБ-40 інтенсивністю 60 і 310 $\text{мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Щільність потоку фотонів на рівні рослин визначали за допомогою сферичного мікроквантового сенсора US-SQS та вимірювального пристрою LI-COR (LI-250), США. У спектрі цих ламп досить невеликою є частка променів червоного світла при значному випромінюванні в зелено-оранжевій області спектра (рисунок) [6]. У роботі ми використали червоне світло світлодіодів (L-53SRC-F, $\lambda_{\text{max}} = 660 \text{ нм}$, $\Delta\lambda = 20 \text{ нм}$, «viewing angle» — 30, «Kingbright», Німеччина) інтенсивністю 15 $\text{мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, які додавали до фонового освітлення рослин люмінесцентними лампами низь-

кої та високої інтенсивності (рисунок). Світлове поле формували 60 світлодіодів, що утворювали прямокутну решітку ($10 \cdot 12$ см) на відстані 12–15 см від рослин, що забезпечувало їх рівномірне освітлення. Загальна середня площа світлового поля становила близько 175 см^2 .

Концентрацію пігментів у ацетоновому екстракті листків гороху визначали на спектрофотометрі СФ-46 з використанням формул Хольма—Ветштейна [4]. Вміст пігментів розраховували виходячи з об'єму витяжки і маси наважки рослинного матеріалу та відносили до одиниці сухої маси. Розподіл пігментів між СЗКП та пігмент-білковими комплексами (ПБК) фотосистем розраховували за співвідношенням хлорофілів a і b , яке приймали рівним 1,4, припускаючи, що весь хлорофіл b знаходиться у СЗКП [14].

Хлоропласти класу В виділяли за методом Д. Аврона [11] та зберігали при температурі 4°C , концентрація хлорофілів становила 2–4 мг/мл. Швидкість роз'єднаного електронного транспорту визначали амперометричним методом у присутності $10 \text{ мМ NH}_4\text{Cl}$. Хлоропласти суспендували в реакційному середовищі такого складу: 200 мМ сорбітол , 10 мМ NaCl , $2,5 \text{ мМ MgCl}_2$, 1 мМ трис , $0,4 \text{ мМ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (pH 6,5) та опромінювали в термостатованій комірці світлом різної інтенсивності: висока — $6700 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, середня — 1200 , низька — $9 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

Повторність дослідів була п'ятикратною, із отриманих даних виводили середні арифметичні показники. Отримані дані обробляли статистично, стандартні відхилення не перевищували 5 %.

Результати досліджень та їх обговорення

У табл. 1 наведено вміст пігментів у листках гороху, вирощеного при низькій ($60 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) та високій ($310 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) інтенсивності, а також з додаванням червоного освітлення світлодіодів ($15 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$). Вміст хлорофілів a і b є вищим на світлі низької інтенсивності. Така ж закономірність спостерігалась і для каротиноїдів. Ці показники узгоджуються з існуючою тенденцією стосовно підвищення вмісту пігментів у листках, що зростають в умовах низького освітлення [3, 5, 15]. Вміст хлорофілу b при високій інтенсивності світла є нижчим, співвідношення хлорофілів a/b дещо підвищується, проте співвідношення Карот./Хл залишається без змін.

Додавання червоного світла до фонового низько- та високоінтенсивного освітлення рослин люмінесцентними лампами збільшує вміст Хл a , b та каротиноїдів відносно контролю. Подібні результати були отримані на рослинах огірка при підсвітці лампами червоного світла ЛК-40 [1]. Хоча загальний вміст пігментів збільшується у разі додавання червоного світла, співвідношення хлорофілів a/b та Карот./Хл майже не змінюються.

Важливо зазначити, що спектральний склад та інтенсивність світла є сильними морфологічними факторами. Так, рослини, вирощені при низькій інтенсивності, мають витягнуті стебла, малі листкові пластинки. Проте червона підсвітка на фоні низькоінтенсивного білого світла збільшує розміри

Таблиця 1. Вміст і співвідношення пігментів у листках гороху, вирощеного на світлі різної інтенсивності та спектрального складу

Пігмент	Інтенсивність світла, мкмоль · м ⁻² · с ⁻¹			
	60	60 + червоне світло	310	310 + червоне світло
Вміст пігментів, мг/г сухої маси				
Хл <i>a</i>	12,29 ± 0,8	21,57 ± 0,5	10,5 ± 0,5	17,33 ± 0,4
Хл <i>b</i>	6,06 ± 0,04	10,1 ± 0,3	4,69 ± 0,12	7,91 ± 0,03
Хл <i>a/b</i>	2,03 ± 0,08	2,13 ± 0,01	2,24 ± 0,09	2,22 ± 0,05
Карот.	3,95 ± 0,07	6,02 ± 0,45	3,43 ± 0,22	4,82 ± 0,06
Хл (<i>a + b</i>)	18,35 ± 0,8	31,67 ± 0,8	15,4 ± 0,46	24,52 ± 1,3
Карот./Хл	0,22 ± 0,005	0,19 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,21 ± 0,01

листків і зменшує довжину стебла. Листкові пластинки гороху в умовах високої інтенсивності світла досить добре розвинені, червона підсвітка майже не впливала на розміри листків і довжину стебел.

Відомо, що молекули хлорофілів зв'язані з білковими компонентами тилакоїдної мембрани, утворюючи ПБК фотосистем і СЗКП [16]. У табл. 2 наведені результати розрахунків розподілу Хл *a* між СЗКП і ПБК фотосистем, а також частка хлорофілів *a* і *b* у СЗКП. Як засвідчують наведені дані, відносний вміст пігментів під впливом світлових умов (інтенсивність і спектральний склад) змінюється в межах їх перерозподілу у ПБК. Так, при низькій інтенсивності світла спостерігається вищий вміст Хл *a* у СЗКП та ПБК фотосистем хлоропластів. Частка хлорофілу в СЗКП та розміри антени фотосинтетичного апарату також є більшими.

Додавання випромінювання червоних світлодіодів до фонового низькоінтенсивного світла ламп підвищує вміст хлорофілу *a* як у ПБК фотосистем, так і у СЗКП, проте вміст хлорофілів (*a + b*) у СЗКП залишається практично без змін. Аналогічна тенденція спостерігалася щодо хлоропластів гороху, який зростав в умовах високої інтенсивності в присутності червоного світла за винятком вмісту хлорофілу в СЗКП, який є дещо вищим.

Крім того, вивчали залежність швидкості фотохімічних реакцій від інтенсивності збуджуючого світла. Досліджували швидкість роз'єднаного електронного транспорту від H₂O до K₃[(Fe(CN)₆]₃ в присутності 10 мМ NH₄Cl. Цю характеристику було обрано, оскільки вона дає змогу оцінити функціональний стан електронно-транспортного ланцюга. У нероз'єднаних (спряжених) хлоропластах швидкість електронного транспорту переважно контролюється рівнем трансмембранного протонного градієнта, який, у свою чергу, залежить від стану ліпідів і АТФ-синтазного комплексу. В присутності роз'єднувача (10 мМ NH₄Cl), ці фактори втрачають контроль, тому для оцінки функціонального стану хлоропластів ми обрали роз'єднаний електронний транспорт.

З даних, наведених у табл. 3, видно, що швидкість транспорту електронів

залежить від інтенсивності збуджуючого (діючого) світла. Фотохімічна активність хлоропластів, ізольованих з рослин, вирощених при червоній підсвітці, у цілому є вищою. Крім того, усі варіанти при дуже високій інтенсивності збуджуючого світла мали меншу фотохімічну активність, ніж при дії світла середньої інтенсивності. В разі зниження інтенсивності діючого світла до $9 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ швидкість електронного транспорту знижувалась в усіх досліджуваних зразках, однак хлоропласти, ізольовані з рослин, вирощених при червоній підсвітці, виявилися активнішими при низькій інтенсивності діючого світла.

Ступінь адаптації рослин до умов освітлення може бути охарактеризована кількома показниками, зокрема, зміна співвідношення хлорофілів є однією з реакцій на світлові умови росту. Оскільки основним напрямком адаптації ФСА до недостатньої кількості світла прийнято вважати збільшення розмірів периферійної антени, зменшення співвідношення Хл a/b є однією з основних ознак рослин, вирощених при низькій інтенсивності світла [9, 12], у зв'язку з чим Хл b часто називають «тіньовим пігментом» [7]. Результати, отримані у цій роботі, показують досить незначне зростання співвідношення Хл a/b (табл. 1) при високій інтенсивності білого світла, що, можливо, пов'язане з відмінністю спектра люмінесцентних ламп від сонячного. Червона підсвітка практично не змінює співвідношення Хл a/b .

Таблиця 2. Розподіл хлорофілу a між СЗКП і ПБК фотосистем

Пігмент-білкові комплекси	Інтенсивність світла, $\text{мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$			
	60	60 + червоне світло	310	310 + червоне світло
Вміст Хл a , мг/г сухої маси				
СЗК П	$8,48 \pm 0,05$	$14,31 \pm 0,42$	$6,57 \pm 0,16$	$11,05 \pm 0,07$
ФСІ, П	$4,38 \pm 0,06$	$7,44 \pm 0,11$	$4,17 \pm 0,07$	$6,23 \pm 0,22$
Частка хлорофілу $(a+b)$ у СЗКП, %				
Хл. $(a+b)$	$79 \pm 2,8$	77 ± 0	73 ± 0	$75,5 \pm 0,71$

Таблиця 3. Залежність швидкості електронного транспорту від інтенсивності збуджуючого світла

Збуджуюче світло, $\text{мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$	Інтенсивність світла, $\text{мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$			
	60	60 + червоне світло	310	310 + червоне світло
Швидкість електронного транспорту, $\text{мкмоль/мг} \times \text{Хл} \times \text{год}$				
6700	$178 \pm 8,9$	$336 \pm 17,48$	$192 \pm 7,3$	$336 \pm 15,4$
1200	$224 \pm 8,96$	$400 \pm 13,6$	$213 \pm 10,4$	$416 \pm 10,8$
9	$64 \pm 1,6$	$288 \pm 13,2$	$96 \pm 4,96$	$208 \pm 8,95$

Зміна світлових умов впливає і на загальний вміст пігментів у листках. Підвищення вмісту хлорофілу при зниженій інтенсивності освітлення розглядається як адаптивна реакція, оскільки її результатом є поліпшення світлозбиральних властивостей ФСА [7, 13, 15]. Наші дослідження підлягають названій вище тенденції за умов вирощування рослин під люмінесцентними лампами білого світла. Проте в умовах червоної підсвітки на фоні низько-та високоінтенсивного білого світла люмінесцентних ламп спостерігаються дещо інші результати. Внаслідок додавання червоного світла збільшується вміст пігментів (Хл *a* і *b*, каротиноїдів) та підвищується кількість Хл *a* як у СЗКП, так і ПБК фотосистем. Підвищення вмісту Хл *a* у фотосистемах відбувається, очевидно, за рахунок його накопичення в ФСІ. Слід зауважити, що максимальна ефективність фотосинтезу спостерігається у разі добре збалансованого надходження квантів світла до обох фотосистем. Згідно зі спектральним розподілом енергії, що випромінюється люмінесцентними лампами ЛБ-40 (рисунок), інтенсивність світла в області поглинання ФСІ набагато нижча, ніж ФСП. Додавання червоного світла, очевидно, поліпшує збалансованість опромінення фотосистем.

Результати, отримані у цій роботі, показують, що швидкість фотохімічних реакцій залежить від інтенсивності збуджуючого світла. Так, дані, наведені у табл. 3, засвідчують, що швидкість роз'єданого електронного транспорту є вищою при дії збуджуючого світла середньої інтенсивності. Добре відомо, що максимальна інтенсивність фотосинтезу, відмічена для багатьох СЗ фотосинтетиків за відсутності стресових впливів, спостерігається в умовах зниженої інтенсивності світла, коли поглинання 9—10 квантів світла приводить до виділення молекули кисню [12]. При цьому низька інтенсивність світла може бути лімітуючою. Слід зауважити, що зниження швидкості переносу електронів при дії збуджуючого світла високої інтенсивності, можливо, пов'язане з фотоінгібуванням, при якому процеси фотосинтезу не можуть повністю використати енергію світла, що поглинається СЗК. Низька інтенсивність збуджуючого світла ($9 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) знижує швидкість транспорту в усіх досліджуваних варіантах, проте хлоропласти, ізольовані з рослин, які перебували в умовах червоного світла, мали вищу швидкість фотохімічних реакцій. Це можна розглядати як свідчення на користь формування в умовах червоної підсвітки більш розвиненого світлозбирального апарату, здатного ефективно утилізувати розсіяні кванти збуджуючого світла. Про це також свідчить і підвищення вмісту основних фотосинтетичних пігментів у рослин в умовах червоної підсвітки.

Таким чином, використання світлодіодів для «корекції» спектральних характеристик штучних джерел освітлення є перспективним, зокрема, з огляду на можливість «концентрованого» впливу низькоінтенсивним опроміненням у певних ділянках ФАР. Однак дослідження в цьому напрямку лише розгортаються.

1. Астафурова Т.П., Верхотурова Г.С., Зайцева Т.А. и др. Влияние различного соотношения спектральных участков ФАР на фотосинтетический метаболизм растений огурца // Вестн. Башкир. ун-та. — 2001. — № 2.
2. Бухов Н.Г. Интенсивность и спектральный состав света: влияние на начальные стадии фотосинтеза // Физиология растений. — 1987. — 34. — С. 748—757.
3. Воскресенская Н.П. Фотосинтез и продукционный процесс. — М.: Наука, 1965. — 308 с.
4. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. — М.: Высш. шк., 1975. — 391 с.
5. Николаева М.К., Власова М.П. Анатомические особенности, пигментный состав и фотосинтетическая активность листьев бобов, выращенных при различной освещенности // Физиология растений. — 1990. — 37. — С. 928—936.
6. Протасова Н.Н., Уеллс Дж.М., Добровольский М.В., Цоглин Л.Н. Спектральные характеристики источников света и особенности роста растений в условиях искусственного освещения // Физиология растений. — 1990. — 37. — С. 386—396.
7. Рабинович Е. Фотосинтез. — М.: Изд-во иностр. лит., 1951. — 648 с.
8. Тихомиров А.А., Лисовский Г.М., Сидько Ф.Я. Спектральный состав света и продуктивность растений. — Новосибирск: Наука, 1991. — 168 с.
9. Anderson J.M. Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoid membranes // Annu. Rev. Plant Physiol. — 1986. — 37. — P. 93—136.
10. Anderson J.M., Chow W.S., Park Y.I. The grand design of photosynthesis: acclimation of the photosynthetic apparatus to environmental cues // Photosynth. Res. — 1995. — 46. — P. 129—139.
11. Avron D.W. Photophosphorylation by swiss-chard chloroplasts // Biochim. et Biophys. Acta. — 1960. — 40. — P. 257—272.
12. Bjorkman O., Demming B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of divers origins // Planta. — 1987. — 170. — P. 489—504.
13. Boardman N.K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants // Annu. Rev. Plant Physiol. — 1977. — 28. — P. 355—377.
14. Green B.R., Durnford D.G. The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. — 1996. — 47. — P. 685—714.
15. Lichenthaler H.K., Kuhn G., Prenzel U. et al. Adaptation of chloroplast — ultrastructure and of chlorophyll-protein levels to high-light and low-light growth conditions // Z. Naturforsch. — 1982. — 37. — P. 464—475.
16. Markwell J.P., Thornber J.P., Boggs R.T. Higher plant chloroplast: evidence that all the chlorophyll exists as chlorophyll-protein complex // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1979. — 79. — P. 1233—1235.

Рекомендує до друку
Л.І. Мусатенко

Надійшла 04.01.2003

Н.М. Топчий, А.А. Сиваш, Р.М. Фомишина

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, г. Киев

ВЛИЯНИЕ СВЕТА РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ И СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА НА ПИГМЕНТНЫЙ АППАРАТ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХЛОРОПЛАСТОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)

Исследовали влияние интенсивности и спектрального состава света на пигментный аппарат и функциональные характеристики хлоропластов гороха (*Pisum sativum* L.). Его выращивали при освещении люминесцентными лампами (ЛБ-40) разной интенсивности 60 и 310 мкмоль · м⁻² · с⁻¹ и с досветкой красным светом светодиодами (L-53SRC-F, λ_{max} = 660 нм, Δλ = 20 нм, «Kingbright», Германия). Добавка красного излучения светодиодов к

фоновому освещению люминесцентных ламп как при низкой, так и более высокой интенсивности приводит к возрастанию содержания Хл *a*, Хл *b* и каротиноидов, однако соотношения Хл *a/b* и Карот./Хл почти не изменяются. Исследование разобранного электронного транспорта в хлоропластах гороха, выращенного при разной интенсивности света и с подсветкой светодиодами, позволяет заключить, что фотохимическая активность хлоропластов, изолированных из растений, выращенных при подсветке красным излучением светодиодов, в целом выше.

N.M. Topchiy, O.O. Syvash, R.M. Fomishina

M.G. Kholodny Botany Institute of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

THE INFLUENCE OF DIFFERENT LIGHT INTENSITY AND SPECTRAL COMPOSITION ON PIGMENT APPARATUS AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF PEA CHLOROPLASTS (*PISUM SATIVUM* L.) $\Delta\Delta$

The aim of this work was to study the effect of various light intensity and spectral composition of illumination on pigment content and functional characteristics of pea chloroplasts. Pea plants (*Pisum sativum* L.) were grown in Knoppa medium for 14 days under two intensities: high ($310 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) and low ($60 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). The red LEDs ($\lambda_{\text{max}} = 660 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$, $15 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) were added to white light both intensities. The data confirmed that Chl *a*, *b* and carotenoids content in leaves are dependent on the intensity and spectral composition of light. It was shown that plants grown under red-enriched light had higher content of pigments compared to those grown in white light, but Chl *a/b* and Chls /Car ratios were practically invariable. The data shown that the rate of uncoupled electron transport was higher in thylakoids isolated from pea leaves grown at additional red illumination. The amount of chlorophyll *a* in lightharvesting complex (IHC) and pigment-protein complexes of photosystems I and II was also higher in plants grown under red-enriched light. Hence, these data show that addition of red LEDs light resulted in some changes in composition of the photosynthetic apparatus.