

582.998:581.132

Н. В. ГЕТКО, Н. М. ГЛУШАКОВА, В. Л. КАЛЕР

**НАТИВНЫЕ ФОРМЫ ХЛОРОФИЛЛА ЛИСТА ГЕРБЕРЫ  
(*GERBERA JAMESONII BOLUS*) В УСЛОВИЯХ ГОРШЕЧНОЙ КУЛЬТУРЫ**

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск

(Поступила в редакцию 31.01.2003)

Пигментная система растений связывает световые условия внешней среды с обменом веществ. Она представлена разными формами хлорофилла и других пигментов, возбуждаемых светом. Изучение динамики пигментной системы путем измерения количественного содержания извлекаемых различными органическими растворителями хлорофиллов *a* и *b*, величины их соотношения в фотосинтезирующих органах широко применяется в исследованиях адаптивной реакции на свет растений различных систематических и экологических групп, в том числе и растений короткого дня [1—5]. Однако при этом часто не принимается во внимание наличие нативных форм хлорофилла и функциональное распределение их между фотосистемами.

В своих исследованиях мы исходим из того положения, что процесс адаптации к свету пигментной системы затрагивает как светособирающий комплекс листа в целом, так и пигменты акцепторных нативных форм. Совокупность нативных форм — это определенная целостная система, универсальная, как утверждают Ф. Ф. Литвин и сотр. [6], для всех зеленых фотосинтезирующих организмов, играющая важную роль в первичных (фотохимических) реакциях фотосинтеза и имеющая в своей основе свойство пигмента к спонтанному образованию ряда надмолекулярных структур (агрегатов или комплексов).

В данной работе предпринята попытка исследовать содержание нативных форм хлорофилла в ассимилирующих органах герберы (*Gerbera jamesonii Bolus*) в условиях горшечной культуры.

**Объекты и методы исследования.** *Gerbera jamesonii Bolus* — представитель сем. *Asteraceae* подсемейства *Lactocoideae* с гелиантоидным типом экзимы пыльцевых зерен [7]. Это типичное тропическое растение естественно произрастает в Южной Африке, Индии, Китае, Японии, Южной Америке и на о. Мадагаскар. В зоне умеренного климата является оранжерейной культурой. В ЦБС НАН Беларуси представлена сортами голландской, латвийской, украинской и белорусской селекций [8], культивируется с 1972 г. [9].

Исследования проводили в ЦБС НАН Беларуси в период 1999—2000 гг. с сортообразцом герберы Вяселле селекции ЦБС в условиях горшечной культуры в вариантах опыта с различным объемом субстрата (ОС) и включением в него ионитов. Заложены 4 варианта опыта по 15 растений в каждом. В качестве субстрата использовали верховой торф (ВТ) с добавлением 10% по объему ионитов — Биона 312 и Биона 112, любезно предоставленных в Институте физико-органической химии НАН Беларуси В. В. Матусевичем.

Варианты опыта: 1) ВТ (90%) + Биона 312 (10%), ОС — 2 дм<sup>3</sup>; 2) ВТ (90%) + Биона 112 (10%), ОС — 2 дм<sup>3</sup>; 3) ВТ (100%), ОС — 2 дм<sup>3</sup>; 4) ВТ (100%), ОС — 8 дм<sup>3</sup> (традиционная культура). Традиционно в условиях ЦБС НАН Беларуси гербера выращивается в субстрате объемом 8 дм<sup>3</sup> со сменой культуры через 3—4 года. Посадки в емкости 2 дм<sup>3</sup> предусматривают смену культуры через 2 года.

С учетом того что верховой сфагновый торф имеет высокую кислотность (рН 2,8—3,4) проводили его нейтрализацию мелом в количестве 4 кг/м<sup>3</sup>, что позволило обеспечить нужную кислотность (рН 5,0—5,5). Одновременно в торф вносили суперфосфат в количестве 1,5 кг/м<sup>3</sup>. Торф увлажняли, тщательно перемешивали. Спустя 6 дней в виде водных растворов вносили (г/м<sup>3</sup>): калийной селитры — 1000, аммиачной селитры — 500, сернокислого магния — 500,

сернокислого железа — 100, сернокислой меди — 30, сернокислого марганца — 5, сернокислого цинка — 5, молибденовокислого аммония — 2 и азотнокислого кобальта — 2 [10]. В подготовленный субстрат в ноябре 1999 г. были высажены укорененные черенки сортаобразца Вяселле в количестве 60 посадочных единиц.

В анализ отбирали одновозрастные листья. Спектры поглощения измеряли при комнатной температуре на спектрофотометре СФ-14 с интегрирующей сферой и разлагали на спектры поглощения универсальных нативных спектральных форм хлорофилла [6] по точкам, соответствующим положению максимумов поглощения таких форм. При этом соблюдались условия измерения с минимизацией ошибки запаздывания и ошибки «мертвого хода» механизма при установке длины волны.

В расчетах использовали положение максимума полосы поглощения и ее полуширину для температуры 20 °С с учетом параметров коротковолнового сателлита каждой полосы. Расчеты проведены по нашей программе на Turbo Pascal 7.0. По трем—пяти аналитическим повторностям в трех высечках листа вычисляли средние значения доли нативных форм хлорофилла в процентах от общего его содержания в расчете на единицу поверхности листа.

Параллельно вели количественное определение хлорофиллов *a* и *b* в ацетоновых экстрактах листа по общепринятой методике [11] также в расчете на единицу поверхности листа.

**Результаты и их обсуждение.** Известно, что в составе пигментного комплекса листа имеется девять нативных универсальных форм хлорофилла с максимумами поглощения 650, 662, 671, 676, 683, 686, 693, 704 и 715 нм, представляющих целостную систему поглощения и переноса энергии возбуждения и играющих важную роль в первичных актах фотосинтеза [6]. Функциональная роль этой системы заключается в аккумуляции и переносе потоков энергии возбуждения и распределении ее между реакционными центрами фотосистем. При этом коротковолновые формы хлорофилла выполняют роль светосбора и передачи энергии (донорные). Длинноволновые формы принимают энергию возбуждения (акцепторные), а промежуточные — выполняют как донорные, так и акцепторные функции.

По мнению Ф. Ф. Литвина, все коротковолновые нативные формы хлорофилла локализованы в ФС2, и перенос энергии происходит последовательно с хлорофилла *b* (С 650) на коротковолновые формы хлорофилла *a* (С 662, С 671 и др.) и далее непосредственно на реакционные центры. В работе С. М. Кочубей [12] приводятся данные о том, что одни и те же спектральные формы хлорофилла *a* обслуживают реакционные центры как ФС2, так и ФС1, но располагаются они на различных участках тилакоидных мембран.

Сопоставление количественного соотношения нативных агрегированных форм хлорофилла в пигментных комплексах герберы показало, что наибольшая доля в суммарном содержании приходится на 4 формы: С 650 — 18,5—19,5%; С 662 — 14—16%; С 676 — 15—18% и С 693 — 13,5—15,7%.

На рисунке 1 более детально приведены результаты распределения доли каждой из форм по вариантам опыта, т. е. при изменении как объема и состава субстрата, так и при чередовании периодов покоя, активного роста и развития растений. Последнее обстоятельство связано с особенностями годичного цикла развития герберы в условиях Беларуси. При этом выделяются два периода покоя, когда значительно ослабевает либо вовсе прекращается цветение (*первый* — ноябрь—февраль и *второй* — июль), и два периода физиологической активности (*первый* — апрель—июнь и *второй* — август—сентябрь). Причем пики наиболее активного цветения герберы приходятся на май и сентябрь, т. е. в тот период, когда оптимальны для нее световые и температурные факторы, равно как и продолжительность светового дня [13].

Именно эти периоды были выбраны нами для сравнительных исследований нативных форм хлорофилла у герберы. Различия между показаниями, характеризующими распределение долей каждой из форм хлорофилла, оказываются достоверными в большей части в том случае, когда сравниваются результаты, полученные в разные периоды вегетации, соответствующие периодам покоя и активности герберы (табл. 1).

Из данных, представленных в табл. 1, также видно, что для нативных форм хлорофилла С 650, С 671, С 704 и С 715 разница оказалась достоверной и в пределах периода покоя, но лишь при сравнении результатов, полученных в начале его (ноябрь) и в конце (февраль).

Обратимся к рисунку 1, где изображена динамика агрегированных нативных форм хлорофилла листа герберы. Показано, например, что по отношению к условиям эксперимента они могут быть разделены (условно) на консервативные и лабильные. К первой группе следует от-

Т а б л и ц а 1. Оценка достоверности различий по t-критерию Стьюдента относительного содержания нативных форм хлорофилла в листьях герберы в различные периоды вегетации (при P = 0,05)

Сопоставляемые периоды		Форма хлорофилла								
		C650	C662	C671	C676	C683	C686	C693	C704	C715
11.2000	01.2001	2,50*	1,89	1,60	1,85	1,14	1,04	1,18	1,86	1,82
11.2000	02.2001	0,09	1,94	2,42*	1,51	1,95	0,56	0,92	2,35*	2,21*
11.2000	05.2001	3,28*	4,58*	4,83*	3,47*	2,90*	2,30*	3,35*	4,86*	4,91*
11.2000	09.2001	4,75*	4,77*	2,63*	4,54*	0,79	3,30*	4,47*	3,98*	4,43*
01.2001	02.2001	2,05	0,23	1,46	0,36	1,08	0,39	0,08	0,64	0,67
01.2001	05.2001	5,23*	3,37*	4,92*	2,22*	2,63*	2,10	3,14*	4,07*	4,11*
01.2001	09.2001	5,07*	3,94*	2,59*	2,58*	0,75	2,47*	4,05*	4,07*	4,06*
02.2001	05.2001	3,97*	3,58*	4,81*	2,69*	1,45	2,26*	2,66*	4,53*	4,37*
02.2001	09.2001	4,34*	4,48*	1,76	3,72*	0,92	2,85*	3,12*	4,60*	4,05*
05.2001	09.2001	1,16	1,07	2,78*	0,21	1,90	0,36	0,90	2,05	1,86

\* Результаты достоверны.

отности: форму С 650 — хлорофилла *b*, форму С 683 — хлорофилла *a*, ко второй — коротковолновые формы хлорофилла *a* (С 662, С 671, С 676, С686), которые оказались достаточно отзывчивыми на условия внешней среды, и длинноволновые формы хлорофилла *a* (С 693, С 704 и С 715). Наибольший вклад в светособирающий комплекс фотосистем листа герберы среди форм хлорофилла *a*, как уже упоминалось, вносят С 662, С 676 и С 693. Рассмотрим динамику этих форм в различные периоды жизнедеятельности герберы.

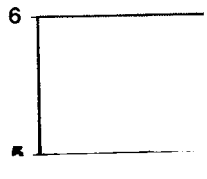
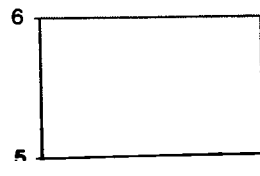
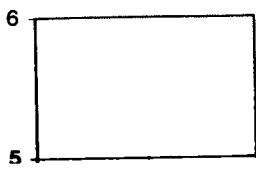
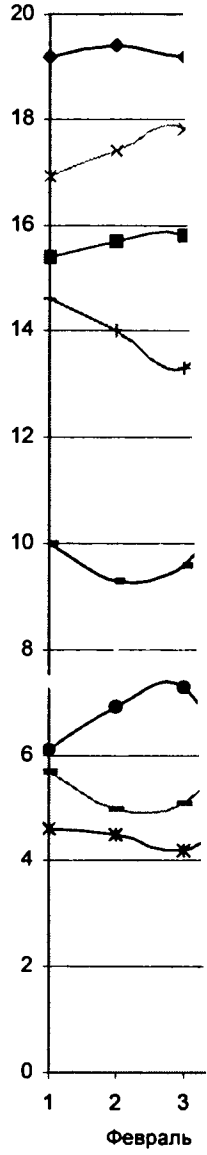
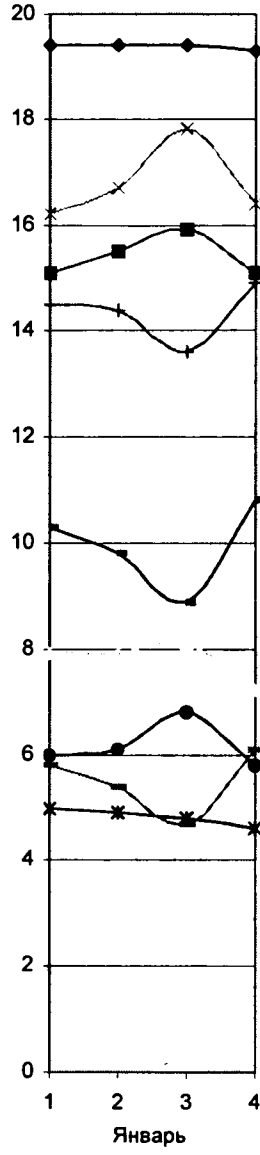
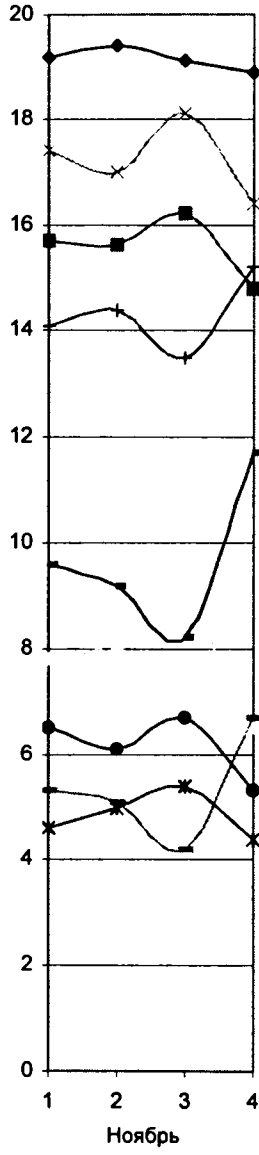
*Период покоя* (ноябрь—февраль). Кривая изменений содержания нативных форм хлорофилла по вариантам опыта характеризуется увеличением долей коротковолновых форм хлорофилла *a* (С 676, С 662) и уменьшением доли длинноволновой формы (С 693) в третьем варианте опыта, в котором предусмотрены наиболее экстремальные условия опыта: сокращенный объем субстрата без внесения оптимизирующих добавок ионитов. В других вариантах опыта кривая изменений носит более сглаженный характер.

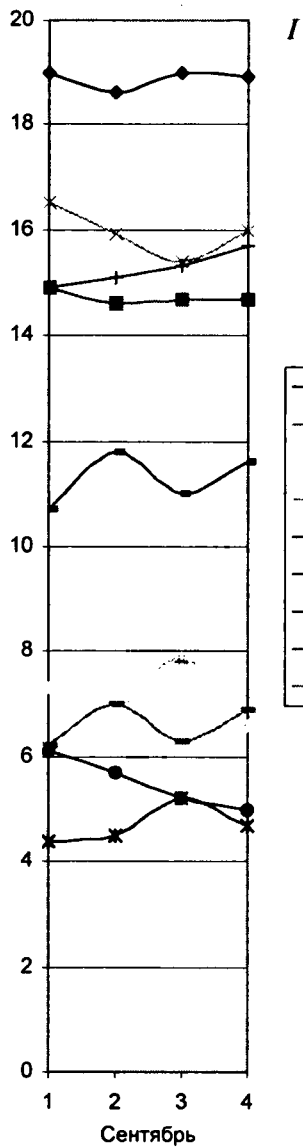
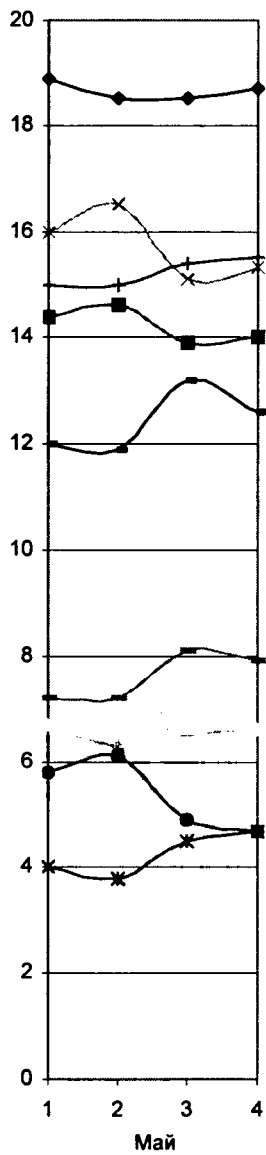
Следует также отметить, что характер кривой по накоплению извлекаемого ацетоном хлорофилла в листьях герберы в этот период (рисунок II) совпадает с динамикой длинноволновых агрегированных форм хлорофилла *a*: С 693, С 704, и С 715. При этом в 3-м варианте опыта у растений обнаруживается самая низкая величина плотности извлекаемого хлорофилла на единицу поверхности листа, как следствие того, что они испытывают большую, по сравнению с другими вариантами, потребность в дополнительном освещении в данный период. И возрастание доли коротковолновых форм в данном случае следует рассматривать как адаптивную реакцию растений герберы на условия выращивания при недостатке света в период с ноября по февраль. Перестройка светособирающего комплекса может происходить при этом как за счет перераспределения хлорофилла (деагрегация пигмента длинноволновой формы), так и дополнительного синтеза преимущественно коротковолновых форм.

*Период активного роста и развития* (апрель, май, сентябрь). Динамика агрегированных форм хлорофилла *a* изменяется в сторону увеличения долей С 693 и С 704 и уменьшения долей С 662, С 676, особенно четко проявившихся в третьем варианте, и хлорофилла *b* во всех вариантах опыта. Эти изменения происходят на фоне высокого содержания в листьях извлекаемых ацетоном хлорофиллов *a* и *b*, совпадающего по динамике с длинноволновой агрегированной формой хлорофилла *a* — С 704. Наиболее заметно данный эффект проявляется в период высокой солнечной инсоляции — в мае.

В сентябре динамика хлорофилла, хотя и имеет несколько более сглаженную картину, но из результатов, представленных на рисунке I, видно, что доли коротковолновой формы хлорофилла *a* (С 662) и хлорофилла *b* (С 650) в этот период возрастают.

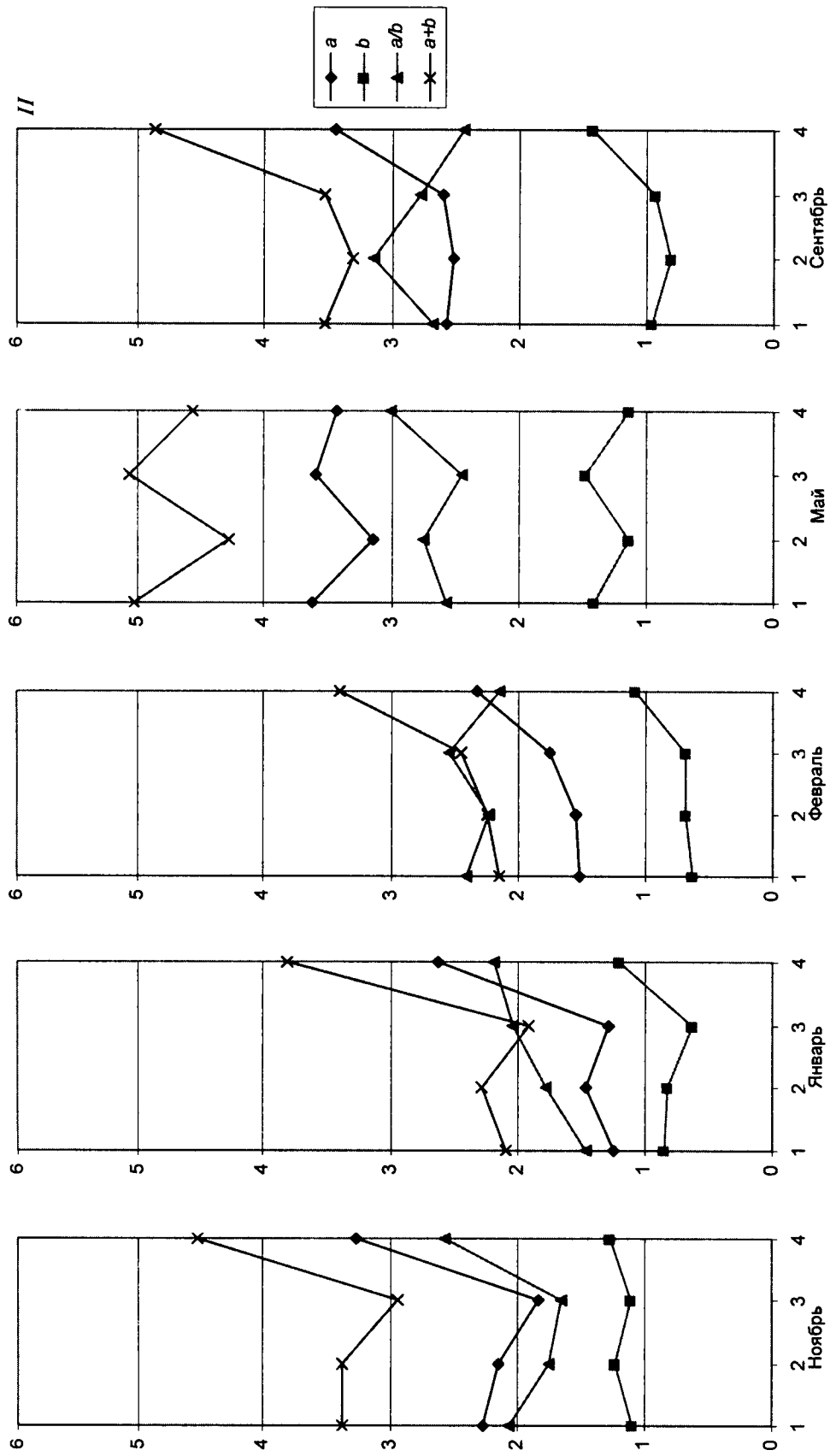
Из сопоставления результатов, изображенных на рисунке, следует, что доля хлорофилла *b* в нативной форме С 650 составляет около 20%, что значительно меньше той, которая рассчитана по соотношению извлеченных ацетоном хлорофиллов *a* и *b* и составляет 30—40%. Эта разница объясняется тем, что, поскольку хлорофилл *a* не может поглощать при 650 нм, то в этой форме поглощает только хлорофилл *b*, доля которого не превышает 20% от общего содержания пигментов. Следовательно, в извлекаемый ацетоном входит и тот хлорофилл *b*, который присутствует в составе других нативных спектральных форм.





I

- ◆ C 650
- C 662
- C 671
- \* C 676
- \* C 683
- C 686
- + C 693
- C 704
- C 715



Доля нативных форм в процентах (I) и содержание экстрагируемых ацетоном хлорофиллов *a* и *b* в мг/дм<sup>2</sup> поверхности листа герберы (II) в связи с периодом вегетации и вариантами опыта (2000, 2001): 1) ВТ (90%) + Биона 312 (10%), ОС — 2 дм<sup>3</sup>; 2) ВТ (90%) + Биона 112 (10%), ОС — 2 дм<sup>3</sup>; 3) ВТ (100%), ОС — 2 дм<sup>3</sup>; 4) ВТ (100%), ОС — 8 дм<sup>3</sup>

Оценка по t-критерию показала достаточно высокий уровень достоверности различий в соотношении агрегированных форм хлорофилла у растений в различные периоды вегетации. Проведенный нами дисперсионный анализ вклада каждого из факторов в изменение этих соотношений показал, что период вегетации оказывает наиболее существенное влияние на изменение долей в содержании крайних в спектре поглощения хлорофилла форм: С 650 и С 715 (табл. 2).

Влияние объема, равно как и состава субстрата, на изменение соотношения нативных форм хлорофилла в пигментном комплексе листа герберы в данном опыте выявить не удалось. Основной вклад в этот процесс, по-видимому, вносят неучтенные факторы. К числу их в данном случае следует отнести нерегулируемые — температуру и свет. Вклад этих факторов предполагается выделить в дальнейшем в условиях соответствующей постановки опыта.

Т а б л и ц а 2. Дисперсия (в процентах от общей) результатов измерения содержания хлорофилла в нативных формах при оценке влияния периодов вегетации и вариантов опыта (объем и состав субстрата)

Форма хлорофилла	С650	С662	С671	С676	С683	С686	С693	С704	С715
Период вегетации	53,48	37,6	22,9	21,16	5,27	5,09	14,33	37,15	44,03
Вариант опыта субстрата	8,06	21,8	30,14	26,31	11,92	35,63	33,21	27,29	23,14
Неучтенные факторы	38,47	40,59	46,96	52,54	82,8	59,29	52,45	35,56	32,84

Дальнейшие исследования в этой области будут направлены на то, чтобы использовать метод анализа нативных форм хлорофилла для изучения адаптационного потенциала тропических и субтропических растений при интродукции и с целью совершенствования технологии их культивирования в условиях Беларуси.

**Выводы:** 1. Впервые исследован характер изменений в содержании нативных агрегированных форм хлорофилла листа тропического растения герберы (*Gerbera jamesonii Bolus*) в условиях горшечной культуры в Беларуси.

2. Сопоставление количественного соотношения этих форм в пигментном комплексе листа герберы показало, что наибольшая доля (%) в суммарном содержании приходится на 4 формы: С 650, С 662, С 676, С 693.

3. В период покоя герберы (ноябрь—февраль) динамика нативных форм хлорофилла характеризуется увеличением доли коротковолновых форм хлорофилла *a* (С 662 и С 676) и уменьшением доли длинноволновой формы (С 693).

4. В период активного роста и цветения (апрель, май, сентябрь) в пигментном комплексе листа герберы наблюдается иная картина: уменьшаются доли С 662 и С 676 и возрастают доли С 704 и С 693.

5. Различия в динамике большинства нативных форм хлорофилла в листьях герберы по срокам вегетации проявились с высокой степенью достоверности (по t-критерию Стьюдента). Вместе с тем дисперсионный анализ показал, что наибольшее влияние период вегетации оказывает на изменения долей крайних в спектре поглощения хлорофилла форм: С 650 и С 715 (хлорофилл *b* и длинноволновая форма хлорофилла *a*).

### Литература

1. Горышина Т. К., Заботина Л. И., Пружина Е. Т. // Экология. 1975. № 15. С. 15—22.
2. Кахнович Л. В. Фотосинтетический аппарат и световой режим. Мн., 1980.
3. Кутас Е. Н. Эколого-биологические особенности жизнедеятельности растений в условиях интерьеров. Мн., 1984.
4. Сидорович Е. А., Кутас Е. Н. Клональное микроразмножение новых плодово-ягодных растений. Мн., 1996.
5. Терек О. І., Маргітай Л. Г. // Укр. ботан. журн. 2000. № 2. С. 166—170.
6. Литвин Ф. Ф., Беяева О. Б., Гуляев Б. А., Карнеева Н. В., Синешков В. А., Стадничук И. Н., Шубин В. В. // Хлорофилл / Под ред. А. А. Шлыка. Мн., 1974. С. 215—231.
7. Тахтаджян А. Л. Система магнолиофитов. Л., 1987.
8. Глушак ова Н. М. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2000. № 3. С. 17—20.
9. Янукова Н. А. Рекомендации по промышленному выращиванию герберы в БССР. Мн., 1983.
10. Ринькис Т. Я., Ноллендорф В. Ф. Сбалансированное питание растений микро- и макроэлементами. Рига, 1982.
11. Гуляев Б. А., Веденеев В. П., Карнеева Н. В., Литвин Ф. Ф. // Научные доклады высшей школы. Биол. науки. 1973. № 10. С. 48—56.

12. Г о д н е в Т. Н. Хлорофилл, его строение и образование в растении. Мн., 1963.
13. К о ч у б е й С. М. Организация пигментов фотосинтетических мембран как основа энергообеспечения фотосинтеза. Киев, 1986.
14. Г л у ш а к о в а Н. М., А л е х н о А. И. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2001. № 2. С. 16—19.

*GETKO N. V., GLUSHAKOVA N. M., KALER V. L.*

**NATIVE AGGREGATED FORMS OF CHLOROPHYLL IN GERBERA  
(GERBERA JAMESONII BOLUS)  
LEAF UNDER CONTAINER-CULTURE CONDITIONS**

**Summary**

For the first time in Belarus we investigated the character of modifications in maintenance of native aggregated forms of chlorophyll in the leaf of tropical plant Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) under container-culture conditions. Adaptation to the lack of light of the Gerbera leaf was possible at the expense of chlorophyll redistribution in favour of shortwave forms. Such adaptation could be realised through both disaggregation of longwave forms and additional synthesis of shortwave forms.