УДК 630*41:581.132

ВЛИЯНИЕ ЛОЖНОГО ОСИНОВОГО ТРУТОВИКА (PHELLINUS TREMULAE BOND ET BORISS) НА СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ ОСИНЫ В ЛЕСАХ УЛЬЯНОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Корнилина В.В.

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, e-mail: kornilina-valentina@mail.ru

Проведено изучение содержание хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зелёных листьев здоровых и заражённых ложным осиновым трутовиком осиновых древостоев. Учитывались следующие части кроны, с которых были собраны образцы листьев: верхняя, средняя, нижняя. В качестве метода исследования использовали спектрофотометрический метод определения содержания пигментов. Используемый метод позволил установить, что у здоровых древостоев максимальное содержание хлорофиллов и каротиноидов отмечено в листьях верхней части кроны, наименьшее содержание обнаружено в нижней части кроны. Выявленное поражение осиновых древостоев ложным осиновым трутовиком повлияло на снижение содержания пигментов в листьях, что в итоге привело к нарушению физиолого-биохимическим функциям растения. Отмечено, листья из нижней части кроны уступают по содержанию хлорофиллов в верхней и средней частях кроны. Содержание каротиноидов в листьях увеличивается от верхней части кроны к нижней. Проведённый однофакторный дисперсионный анализ показал, что существует связь между содержанием пигментов в организме растения и возбудителем болезни.

Ключевые слова: фотосинтез, хлорофилл, каротиноиды, осина, ложный осиновый трутовик, спектрофотометрический метод

INFLUENCE OF THE FALSE ASPEN TINDER FUNGUS (PHELLINUS TREMULAE BOND ET BORISS) ON THE MAINTENANCE OF PIGMENTS IN ASPEN LEAVES IN THE WOODS OF THE ULYANOVSK REGION

Kornilina V.V.

FGBOU VPO «Ulyanovsk state university», Ulyanovsk, e-mail: kornilina-valentina@mail.ru

Studying the maintenance of a chlorophyll and carotinoids in extracts of green leaves of the aspen forest stands healthy and infected with a false aspen tinder fungus is carried out. The following parts of krone from which samples of leaves were collected were considered: top, average, bottom. As a method of research used a spektrofotometrichesky method of definition of the maintenance of pigments. The used method allowed to establish, at healthy forest stands the maximum maintenance of a chlorophyll and carotinoids is noted in leaves of the top part of the krone, the smallest contents is revealed in the lower part of krone. The revealed defeat of aspen forest stands by a false aspen tinder fungus, affected decrease in the maintenance of pigments in leaves that as a result led to violation to fiziologo-biochemical functions of a plant. It is noted, leaves from the lower part of krone concede according to the maintenance of a chlorophyll in top, and average parts of krone. The maintenance of carotinoids in leaves increases from the top part of krone to the bottom. The carried-out one-factorial dispersive analysis showed that there is a communication between the maintenance of pigments in an organism of a plant and an infecting agent.

Keywords: photosynthesis, chlorophyll, carotinoids, aspen, false aspen tinder fungus, spektrofotometrichesky method

Хлорофиллы и каротиноиды являются главными фоторецепторами фотосинтезирующей клетки. Их содержание во многом зависит от интенсивности жизнедеятельности организма. Содержание пигментов в растительном организме отражает реакцию на любые изменения во внешней среде и зависит от степени их адаптации к новым экологическим условиям [1]. По содержанию этих пигментов можно оценить не только возрастные, но и генетические особенности растения. Адаптационные возможности ассимиляционного аппарата растений включают как иммобилизацию уже имеющихся приспособительных процессов, так и новые защитные механизмы. Одни из них активируются как ответная реакция на любой стресс, другие (структурные, физиологические и биохимические перестройки) могут быть следствием специфической реакции на тот или иной стресс, которые проявляются в виде различных болезней, как следствие, появление плодовых тел грибов. Способный поражать растения через небольшие поранения ствола, ложный осиновый трутовик, проникая в растительный организм с помощью базидиоспор, влияет на все физиологические и биохимические процессы, начиная с поражаемого органа, затем поражая всё растение [2, 4].

Изучению болезни осины в условиях Ульяновской области уделяется недостаточное внимание с точки зрения развития и вреда от возбудителя. В официальной отчётности по заражённым насаждениям ложным осиновым трутовиком числятся лишь на сотнях га вместо действительных нескольких десятков тысяч га [7].

Чтобы растительный организм был способен вырабатывать различные защитные приспособления к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды,

необходимо разработать различные пути регуляции данного процесса. Одним из таких путей является *изменение содержания пигментов фотосинтеза* в зависимости от действия различных повреждающих факторов на растительный организм [6, 9]. В современной практике состав и содержание каротиноидов в растительных тканях определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Однако использование этого метода не всегда оправдано из-за его трудоемкости и высокой стоимости. В ряде случаев, когда нет необходимости определения состава каротиноидов, применяют более простой и дешевый спектрофотометрический метод оценки содержания пигментов в экстрактах тканей без предварительного хроматографического разделения [5, 8]. Спектрометрический метод основан на изменении спектральных особенностей отражения листьев в результате воздействия на растительный организм (дерево) ложным осиновым трутовиком, который хорошо контактирует с физиологическим состоянием растений и позволяет оценить степень их заражённости на ранних стадиях её проявления, при отсутствии видимых признаков угнетения [9]. Приведенные выше сведения позволяют считать актуальным изучение содержания пигментов фотосинтеза под воздействием *Phellinus tremulae Bond et Boriss.*

Материалы и методы исследований

Объектом исследования явились свежие листья осины (*Populus tremula* L.). Материал был собран в июле 2011 г., в дневное время, в период наибольшей фотосинтетической активности, с осиновых древостоев на территории Новочеремшанского участкового лесничества в наиболее распространённом типе леса – осиннике снытьево-ясменниковом.

Для определения содержания пигментов хлорофилла *a, b* и каротиноидов в составе зелёной биомассы древесной породы осины собирали образцы листьев с трёх частей кроны: с верхней, средней и нижней. Образцы листьев были собраны со здоровых и заражённых осиновых древостоев *Phellinus tremulae Bond et Boriss* в 6 кратной повторности (для каждой части кроны). Осиновый древостой на момент сбора образцов листьев имел возраст 55 лет.

При исследовании использовали спектрофотометрический метод определения содержания пигментов. Прежде чем определять содержание фотосинтетических пигментов в листьях, необходимо их извлечь, для чего используют метод экстрагирования.

Из растительного материала получали спиртовые вытяжки. Для этого использовали навеску свежего растительного материала (30 мг) в 6-кратной повторности, которую взвешивали на аналитических весах с точностью до 0,0001 г. Затем растирали в фарфоровой ступке с добавлением диоксида кальция и кварцевого песка и небольшого количества 96%-го этилового спирта (2–3 мл). По завершении растирания для фильтрации при помощи каучуковой пробки и насоса Камского переливали для фильтрации в колбу Бунзена в течение 15 мин. Затем фильтрат из колбы Бунзена переливали в мерную колбу на 25 мл. Оставшуюся навеску вновь заливали 96%-й этанолом и растирали. Эту процедуру повторяли 2–4 раза пока пигменты не были извлечены полностью. После фильтрования доводили объём вытяжки чистым растворителем до 25 мл. Полученная спиртовая вытяжка содержит сумму зелёных и жёлтых пигментов. Оптическую плотность вытяжек определяли на однолучевом автоматизированном спектрофотометре СФ-102. Для количественного определения часть полученного экстракта наливали в кювету спектрофотометра. Вторая кювета заполняется чистым растворителем (96%-м этанолом). Кюветы помещали в кюветные камеры спектрофотометра.

Содержание отдельных пигментов (*C*) устанавливали с помощью волнового метода, определяя оптическую плотность (*D*) вытяжек при 665, 649 и 440,5 нм (максимумы поглощения пигментов хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов). Основной расчёт концентрации пигментов хлорофилла *a*, и *b* и каротиноидов (*C*) проводился по формулам Смита и Бенитеза [10] для 96%-го этилового спирта [9].

$$C_{a\,(\text{мг/л})} = 13{,}70 \cdot D_{665} - 5{,}76 \cdot D_{649}; \quad (1)$$

$$C_{b(\text{мг/л})} = 25{,}80 \cdot \mathrm{D}_{649} - 7{,}60 \cdot D_{665}; \quad (2)$$

$$C_{a+\,b(\text{мг/л})} = 6{,}10 \cdot D_{665} + 20{,}04 \cdot D_{649}; \quad (3)$$

$$C_{\text{кар}(\text{мг/л})} = 4{,}69 \cdot D_{440{,}5} - 0{,}268\ C_{a+\,b}. \quad (4)$$

Содержание пигментов в растительном материале в мг/г сырого веса рассчитывали по формуле

$$A = \frac{C \cdot V}{P \cdot 100}, \quad (5)$$

где *C* – концентрация пигмента в мг/л (после расчёта по формулам (1), (2), (3), (4)); *V* – объем вытяжки пигмента в мл; *P* – навеска растительного материала в г; *A* – содержание пигмента в растительном материале в мг на 1 г сырого веса.

Результаты исследований и их обсуждение

Представлен анализ содержания хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в листьях осины здоровых древостоев и заражённых *Phellinus tremulae Bond et Boriss* (табл. 1, 2.; рис. 1, 2).

Как видно из табл. 1, максимальное содержание хлорофиллов *a b* и каротиноидов отмечается в листьях верхней части кроны (в среднем 0,77; 0,32; 0,17 мг/г), что объясняется более лучшей освещённостью кроны. Значительно меньшее содержание хлорофиллов и каротиноидов обнаружено в нижней части кроны, (соответственно 0,64; 0,28; 0,21 мг/г), что объясняется достаточно низким расположением листьев по отношению к солнцу. Содержание хлорофиллов *a b* и каротиноидов в среднем составило 0,71; 0,29; 0,19 мг/г, что обусловлено равномерным распределением солнечного излучения по кронам.

Таблица 1

Содержание пигментов хлорофиллов и каротиноидов в листьях осины здоровых древостоев

Части кроны	Номер опыта	Хлорофилл, мг/г ($\bar{x} + \sigma_{\bar{x}}$)				Каротиноиды, мг/г ($\bar{x} + \sigma_{\bar{x}}$)
		a	*b*	*a* + *b*	*a*/*b*	
Верхняя	1	0,77	0,32	1,09	2,40	0,17
	2	0,78	0,33	1,11	2,37	0,17
	3	0,78	0,33	1,11	2,37	0,18
	4	0,77	0,32	1,09	2,40	0,18
	5	0,78	0,33	1,11	2,37	0,17
	6	0,78	0,33	1,11	2,37	0,17
Среднее		**0,77 ± 0,005**	**0,32 ± 0,004**	**1,10**	**2,38**	**0,17 ± 0,003**
Средняя	1	0,73	0,30	1,03	2,43	0,21
	2	0,73	0,30	1,03	2,43	0,19
	3	0,70	0,29	0,99	2,41	0,19
	4	0,72	0,30	1,02	2,40	0,19
	5	0,73	0,30	1,03	2,43	0,20
	6	0,73	0,30	1,03	2,43	0,20
Среднее		**0,72 ± 0,011**	**0,29 ± 0,003**	**1,02**	**2,42**	**0,19 ± 0,007**
Нижняя	1	0,64	0,27	0,91	2,37	0,22
	2	0,65	0,29	0,94	2,24	0,20
	3	0,65	0,29	0,94	2,24	0,20
	4	0,64	0,27	0,91	2,37	0,22
	5	0,64	0,27	0,91	2,37	0,22
	6	0,65	0,29	0,94	2,24	0,20
Среднее		**0,64 ± 0,005**	**0,28 ± 0,01**	**0,92**	**2,30**	**0,21 ± 0,01**
Среднее по трём частям кроны		**0,71**	**0,29**	**1,01**	**2,36**	**0,19**

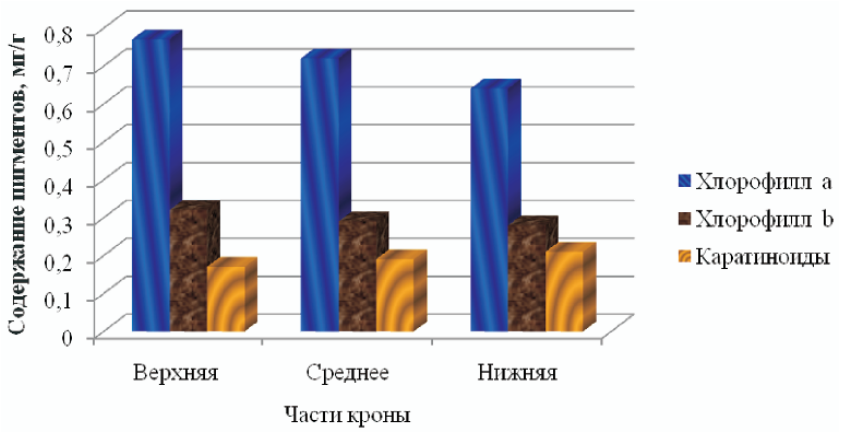

Рис. 1. Содержание пигментов в листьях здоровых осиновых древостоев в зависимости от части кроны

Результаты исследований содержания пигментов хлорофиллов и каротиноидов в листьях осины заражённых древостоев ложным осиновым трутовиком представлены в табл. 2 и на рис. 2.

Анализ экспериментальных данных по содержанию пигментов в листьях осиновых древостоев, заражённых ложным осиновым трутовиком (см. табл. 2), показывает, что происходит снижение содержания хлорофиллов и увеличение содержания каротиноидов. Листья из нижней части кроны уступают по содержанию хлорофиллов в средней части кроны (в среднем на 0,03; 0,03 мг/г) и в верхней части кроны (на 0,05; 0,06 мг/г, соответственно). Содержание каротиноидов в листьях увеличивается от верхней части кроны к нижней (0,19; 0,21; 0,28 мг/г). Пониженное содержание хлорофиллов в листьях объясняется, вероятно, общим снижением жизнеспособности древесного растения при поражении

возбудителем болезни, в результате чего происходит структурно-функциональная, физиолого-биохимическая перестройка организма, что в итоге приводит к снижению фотосинтетической активности растения.

Таблица 2

Содержание пигментов хлоропластов и каротиноидов в листьях осины заражённых древостоев *Phellinus tremulae Bond et Boriss*

Части кроны	Номер опыта	Хлорофилл, мг/г ($\bar{x} + \sigma_{\bar{x}}$)				Каротиноиды, мг/г ($\bar{x} + \sigma_{\bar{x}}$)
		a	*b*	*a+b*	*a/b*	
Верхняя	1	0,47	0,29	0,86	1,96	0,19
	2	0,47	0,27	0,79	1,92	0,20
	3	0,49	0,29	0,88	2,0	0,21
	4	0,50	0,30	0,90	2,0	0,21
	5	0,49	0,30	0,89	1,96	0,18
	6	0,50	0,27	0,85	2,0	0,18
Среднее		**0,48 ± 0,02**	**0,28 ± 0,01**	**0,86**	**1,97**	**0,19 ± 0,01**
Средняя	1	0,47	0,26	0,74	1,84	0,22
	2	0,46	0,26	0,74	1,84	0,22
	3	0,46	0,25	0,73	1,92	0,20
	4	0,46	0,25	0,72	1,88	0,21
	5	0,47	0,25	0,73	1,92	0,22
	6	0,46	0,24	0,71	1,95	0,22
Среднее		**0,46 ± 0,004**	**0,25 ± 0,006**	**0,72**	**1,89**	**0,21 ± 0,007**
Нижняя	1	0,43	0,22	0,65	1,95	0,27
	2	0,43	0,23	0,66	1,86	0,28
	3	0,42	0,22	0,64	1,90	0,30
	4	0,43	0,22	0,65	2,0	0,29
	5	0,44	0,22	0,65	2,0	0,29
	6	0,44	0,22	0,65	2,0	0,27
Среднее		**0,43 ± 0,006**	**0,22 ± 0,003**	**0,65**	**1,39**	**0,28 ± 0,011**
Среднее по трём частям кроны		**0,45**	**0,25**	**0,74**	**1,94**	**0,23**

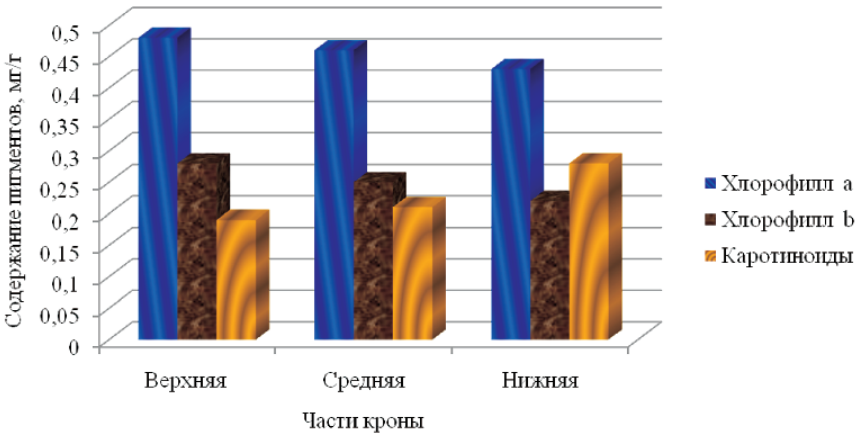

Рис. 2. Содержание пигментов в листьях заражённых осиновых древостоев ложным осиновым трутовиком в зависимости от части кроны

Вследствие заражения осинников грибом происходит уменьшение содержания хлорофилла *a* (0,48–0,43), хлорофилла *b* (0,28–0,22) и увеличение каротиноидов (0,19–0,28). Это объясняется тем, что каротиноиды являются наиболее распространённым метаболитом живых организмов, участвующих в системе защиты клеток от воздействия факторов внешней среды [6].

Что касается влияния ложного осинового трутовика на содержание пигментов в листьях осиновых древостоев, то для установления этого влияния провели однофакторный дисперсионный анализ. В процессе

анализа установили, что существует связь между содержанием пигментов в организме растения и ложным осиновым трутовиком: по хлорофиллу *a* это связь выражается $F_{расч}$ 26,0 > $F_{теор}$ 4,96 при α = 0,05, n_1 = 3, n_2 = 6; по хлорофиллу *b* $F_{расч}$ 19,8 > $F_{теор}$ 4,96 при α = 0,05, n_1 = 3, n_2 = 6; по каротиноидам $F_{расч}$ 10,4 > $F_{теор}$ 4,96 при α = 0,05, n_1 = 3, n_2 = 6). Таким образом, действие патогенна на растительный организм проявляется по разному, с одной стороны – содержание зелёных пигментов уменьшается, а с другой содержание каротиноидов увеличивается.

Выводы

1. Содержание зелёных пигментов как в здоровых осиновых древостоях, так и в заражённых трутовиком уменьшается от верхней части кроны к нижней.

2. Поражение древостоев осиновым трутовиком приводит к уменьшению содержания хлорофиллов и увеличению каротиноидов в листьях осины во всех частях кроны.

Список литературы

1. Батраева А.А. Физиология растений / А.А. Батраева, Н.С. Павловская, Л.И. Донская, И.В. Любушкина. – Иркутск: ИГУ, 2009. – 60 с.

2. Борисов П.Н. Гниль осины и её предупреждение // Лесное хозяйство и эксплуатация. – 1936. – № 3. – С. 44–47.

3. Годнев Т.Н. Строение хлорофилла и методы его количественного определения. – Минск: Изд-во АН БССР, 1952. – 215 с.

4. Кузьмичёв Е.П. Инфекционые болезни городских насаждений и меры борьбы сними / Е.П. Кузьмичёв, Э.С. Соколова, Е.Г. Куликова. – М.: МГУЛ, 2002. – 87 с.

5. Любименко В.Н. Новый прибор для спектроскопии и спектроколорриметрии / В.Н. Любименко, А.Н. Даниловым // Сб. памяти И.П. Бородина. – 1927. – С. 61–70.

6. Маслова Т.Г. Критическая оценка спектрофотометрического метода определения каротиноидов / Т.Г. Маслова, И.А., Попова, О.Ф Попова // Физиология растений. – 1986. – Т.33, Вып. 3. – С. 615–619.

7. Обзор санитарного и лесопатологического состояния лесов Ульяновской области. – Ульяновск, 2010. – 150 с.

8. Метод фиксации и хранения листьев для количественного определения пигментов пластид / Д.И. Сапожников, Т.Г. Маслова, И.А. Попова, О.Ф. Попова, О.Я. Королева // Ботанический журнал. – 1978. – Т. 63, № 11. – С. 1589–1562.

9. Шлык А.А. О спектрофотометрическом определение хлорофиллов *a*, и *b* // Биохимия. – 1968. – Т.33, Вып. 2. – С. 275–285.

10. Wintermans J.F. G.M., De Mots // J.F. Wintermans, G.M., De Mots Biochim. et biophys. acta, – 1965. – С. 109, 448.

References

1. Batrayeva A.A., Pavlovskaya N.S., Don L.I., Lyubushkina I.V. Physiology of plants Irkutsk: ISU, 2009. 60 p.

2. Borisov P.N. Gnil aspens and its prevention.//Forestry and operation, 1936, no. 3, pp. 44–47.

3. Godnev T.N. Structure of a chlorophyll and methods its quantitative opredeleniya. /T.N. Godnev. Minsk: Prod. BSSR AN, 1952. 215 p.

4. Kuzmichyov E.P., Sokolova E.S., Kulikova E.G. Infektsionye diseases of city plantings and a measure of fight remove Moscow: MGUL, 2002. 87 p.

5. Lyubimenko V.N., Danilov A.N. The new device for spectroscopy and a spektrokolorrimetriya. Sb. memories of Nominative of Borodino, 1927. pp. 61–70.

6. Maslova T.G., Popova I.A., Popova O.F. Physiology of plants (Critical evaluation of a spektrofotometrichesky method of definition carotinoids). 1986, T.33, release. 3. pp. 615–619.

7. Review of a sanitary and lesopatologichesky condition of the woods of the Ulyanovsk region – Ulyanovsk, 2010. 150 p.

8. Shoemakers D.I., Maslov, Popova I.A., Popov O.F., Queen O.I. Metod of fixing and storage of leaves for quantitative definition of pigments of plastid – Botanical magazine, 1978. T. 63, no. 11. pp. 1589–1562.

9. Shlyk A.A. About spektrofotometrichesky definition of a chlorophyll of a, and b. – Biochemistry, 1968. T.33, release 2. pp. 275–285.

10. Wintermans J. F., De Mots G.M., J. F. Wintermans, G.M., De Mots Biochim. et biophys. acta, 1965. pp. 109, 448.

Рецензенты:

Благовещенская Н.В., д.б.н., доцент, директор Ульяновского областного экологического центра, г. Ульяновск;

Костин В.И., д.с.-х.н., профессор, заведующий кафедрой биологии, химии, ТХППР ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина», г. Ульяновск.

Работа поступила в редакцию 03.08.2012.