

PIGMENTS, LEAF OPTICS  
AND PLANT STATE

M. N. MERZLYAK

*The general aspects of photosynthetic active reflectance and absorption of light by higher plants' leaves are discussed. The information on general leaf pigments and their changes during ontogenesis and under effects of unfavourable environmental conditions are briefly considered. The possibilities to use non-destructive reflectance spectroscopy in remote sensing of plant's physiological state are discussed.*

**Кратко рассмотрены общие представления об отражении и поглощении фотосинтетически активной радиации листьями высших растений, об основных пигментах листа и характере их изменений в онтогенезе и при действии неблагоприятных факторов внешней среды. Обсуждаются возможности использования спектроскопии отражения для оценки физиологического состояния растений.**

© Мерзляк М.Н., 1998

ПИГМЕНТЫ, ОПТИКА ЛИСТА  
И СОСТОЯНИЕ РАСТЕНИЙ

М. Н. МЕРЗЛЯК

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

## ВВЕДЕНИЕ

Выход растительных организмов на сушу состоялся, по-видимому, более 400 млн лет назад и привел к значительному усложнению их строения в новой среде обитания — к возникновению листа (специализированного органа, обеспечивающего поглощение солнечной энергии), в котором осуществляются основные фотосинтетические процессы. В ходе эволюции и освоения сосудистыми растениями обширных территорий земли с различными климатическими условиями (от тундр до пустынь и тропических лесов) возникли листья, обладающие различными размерами, морфологией, анатомическим строением (хвоя голосеменных, суккуленты, листья одно- и двудольных) и имеющие свои биохимические и физиологические особенности [1–4]. Вместе с тем в принципах и механизмах осуществления первичных фотосинтетических процессов, которые протекают в специализированных органоидах (хлоропластах), прослеживаются поразительная общность и единообразие.

Лист высшего растения представляет собой сложную оптическую систему, обладающую способностью эффективно и, по-видимому, оптимально использовать солнечную энергию [1–3]. Не имея возможностей к передвижению, высшие растения вынуждены приспосабливаться к различным и быстро меняющимся условиям среды, и в том числе к солнечной радиации. Так, некоторые виды способны выживать и успешно осуществлять фотосинтез при очень высокой инсоляции в пустынях, тогда как другие виды — при очень низкой освещенности (тропические дождевые леса). Это достигается различными способами. При высокой освещенности некоторые растения способны изменять угол наклона листьев, снижать количество света, достигающего хлоропластов, накапливать определенные фотозащитные вещества. В зависимости от окружающих условий изменяются геометрические размеры клеток, морфология ассимиляционных тканей, содержание и соотношение основных пигментов фотосинтеза (хлорофиллов и каротиноидов), различным образом организуются фотосинтетические мембраны (хлоропласты теневого и светового типа).

Изучение оптических свойств листьев и поглощения ими света имеет большое значение для понимания общих принципов усвоения солнечной энергии, механизмов фотосинтеза и адаптацион-

ных процессов в растениях. Необходимо также отметить, что изучение этих механизмов очень важно при интерпретации данных, полученных с помощью дистанционного оптического зондирования. Современная техника позволяет регистрировать спектры отражения растений на значительном расстоянии, включая наблюдения из космоса. Это предоставляет огромные возможности для глобальной оценки фотосинтетической продуктивности на планете, для слежения за состоянием растительности в процессе развития под влиянием различных (в том числе и неблагоприятных) внешних факторов, установления ее экологического благополучия.

### ОСНОВНЫЕ ПИГМЕНТЫ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Поглощением квантов света в видимой части спектра (400–700 нм), которые имеют достаточную энергию для осуществления фотосинтеза, обладают органические соединения (пигменты), содержащие системы сопряженных связей. В клетках эволюционно более древних фотосинтезирующих организмов (бактерии, водоросли) присутствуют разнообразные соединения (хлорофиллы, бактериохлорофиллы, бактериородопсин, каротиноиды, фикобилины), способные при определенном их сочетании обеспечить акцептирование солнечного излучения во всей видимой (и даже в ближней инфракрасной) части спектра. Их набор и соотношение специфичны для различных групп и во многом зависят от условий обитания организмов. Пигменты фотосинтеза у высших растений значительно менее разнообразны [1].

В листьях (хлоропластах) высших растений присутствуют два хлорофилла (*a* и *b*), представляющие собой Mg-содержащие порфирины. Основная их часть включена в состав светособирающих комплексов, обеспечивает поглощение и передачу световой энергии на так называемые реакционные центры. В этих центрах, которые содержат лишь небольшую часть общего хлорофилла *a*, и осуществляются первичные фотосинтетические реакции. Кроме хлорофиллов в фотосинтетических мембранах всегда присутствуют желтые пигменты – каротиноиды (как правило, пять типов). Каротиноиды выступают также в роли светособорщиков и наряду с этим играют важную роль в защите фотосинтетического аппарата от фотоповреждений.

### СТРУКТУРА ЛИСТА И ПОГЛОЩЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИ АКТИВНОЙ РАДИАЦИИ

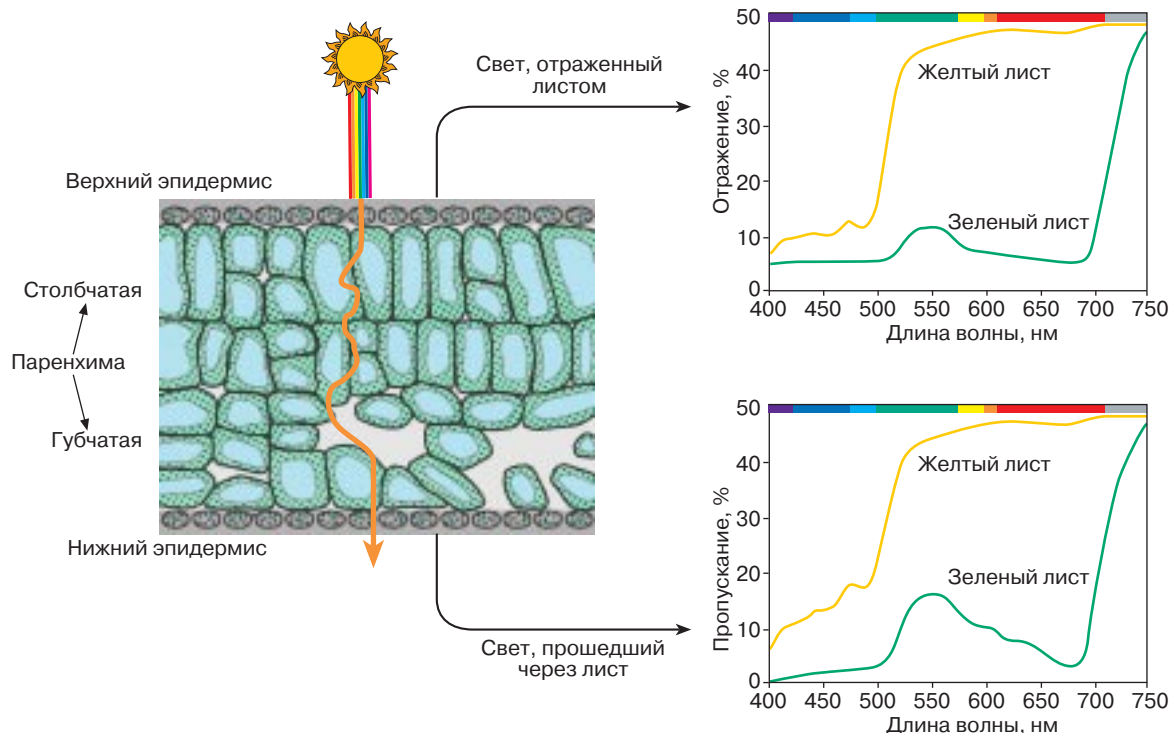
В растворах как хлорофиллы, так и каротиноиды обладают интенсивными, узкими и достаточно далеко отстоящими друг от друга полосами поглощения света. Хлорофиллы эффективно поглощают синий, красный и очень слабо – зеленый свет. Спектры пигментов существенно уширяются и в значительно большей степени перекрываются в хлоропластах, которые можно легко выделить из ткани листа. Это связано с тем, что в отличие от

растворов в хлоропластных мембранах пигменты ассоциированы с белками, липидами и взаимодействуют друг с другом. В результате этого достигается передача (миграция) энергии от светособорщиков на реакционные центры [1]. Еще более сглажены и сложны спектры поглощения листьев (рис. 1 и 2).

Часть света, падающего на лист, отражается от него (рис. 1). Различают зеркальное (на гладких, блестящих поверхностях) и диффузное отражения. Отражение листьев определяется главным образом диффузным отражением. Свет, проникая в толщу листа, сильно рассеивается и многократно изменяет свое направление. Это связано с тем, что как на поверхности, так и в толще листа существует множество поверхностей раздела, обладающих различными коэффициентами преломления (кутикула, эпидермис, клетки паренхимы, заполненные воздухом межклетники). Сходные эффекты происходят при прохождении света через клетки (различия в коэффициентах преломления между воздухом, жидкой фазой, клеточными стенками, рассеивание на субклеточных структурах). В результате при отсутствии сильного поглощения оптические пути света значительно увеличены по сравнению с геометрической толщиной листа. Благодаря этому листья поглощают значительно больше света, чем экстрагированные из них пигменты или изолированные хлоропласты [1].

Лучи разного цвета (длины волны) поглощаются неодинаково (рис. 1 и 2). Зеленые листья обладают очень высоким поглощением (низким отражением и пропусканием) в фиолетовой, синей, голубой и красной частях спектра. В этих областях поглощение мало зависит от концентрации хлорофиллов (рис. 2), что объясняется тем, что в сильно рассеивающей среде и при высокой концентрации пигментов свет практически полностью поглощается уже у поверхности листа. Значительно большая часть излучения отражается и проходит через лист в области 520–580 нм, именно поэтому лист выглядит зеленым. Таким образом, зеленый свет, несмотря на низкие коэффициенты удельного поглощения хлорофилла в этой спектральной области, эффективно поглощается и достаточно равномерно заполняет ткань листа. Это имеет большое значение для фотосинтеза теневых, расположенных внутри кроны листьев, поскольку свет, отраженный или прошедший через расположенные выше листья, обогащен зелеными лучами [1, 2]. Интересно, что максимум спектральной чувствительности зрения у человека и многих наземных позвоночных расположен именно в зеленой области. Это, вероятно, является следствием того, что эволюция животных протекала в окружении растений, и можно понять, почему животные в своей жизнедеятельности используют эту часть солнечного излучения.

Значительные успехи в понимании оптики листа достигнуты в последние годы благодаря приме-



**Рис. 1.** Схема взаимодействия света с листом. Падая на лист, свет отражается (диффузное отражение), а часть проходит через него. Внутри листа вследствие сильного рассеивания кутикулой, эпидермисом, клетками паренхимы, заполненными воздухом межклетниками, а также внутриклеточными структурами, лучи света отклоняются от прямолинейного направления. В результате лист поглощает значительную часть солнечного излучения. Зависимость интенсивности света, отраженного листом и прошедшего через него от длин волн (спектры отражения и пропускания соответственно), показана для зеленого и желтого листьев. Лучи различных спектральных диапазонов неодинаково отражаются и поглощаются листом. Листья с высоким содержанием пигментов отражают и пропускают преимущественно излучение в зеленой части спектра. При разрушении хлорофилла в ходе осеннего старения листья становятся более прозрачными: пропускают не только зеленые, но и оранжевые и красные лучи. Излучение короче 390–400 нм и длиннее 700 нм не воспринимается человеческим глазом

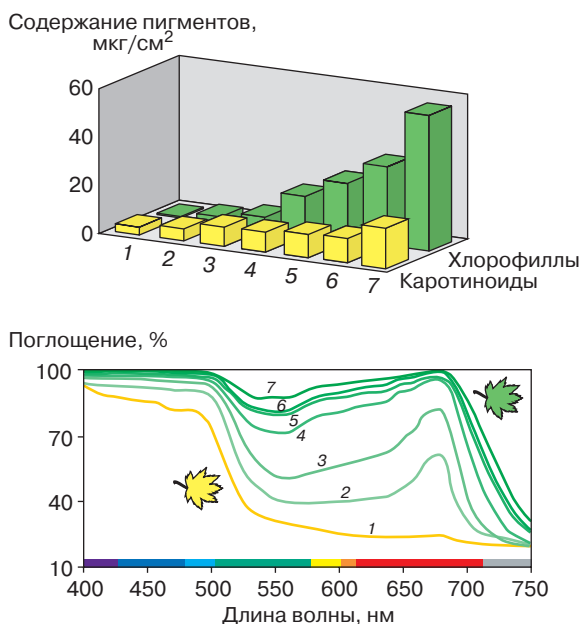
нению оптоволоконной техники и созданию микросветоводов (с диаметром менее 5 мкм), которые можно внедрять в ткань и изучать световые режимы непосредственно в толще листьев [3]. С помощью этих методов изучено проникновение в глубину листа света различного спектрального состава и количественно описаны световые градиенты внутри листьев различного типа. Измерения с помощью этой техники выявили много других важных обстоятельств. Так, было показано, что у многих видов растений клетки верхнего эпидермиса благодаря своей форме способны фокусировать свет, увеличивая его интенсивность в 15–20 раз по сравнению со светом, упавшим на поверхность листа. Физиологическая роль этого явления окончательно еще не выяснена, тем не менее весьма вероятно, что оно в значительной степени определяет распределение и поглощение фотосинтетической радиации внутри листа. Интересно также, что, согласно экспериментам, выполненным с микросветоводами, непигментированные (этиолированные) ткани растений служат своеобразными оптическими световодами,

обеспечивая проникновение света к развивающимся подземным частям проростка и включение (при участии фитохромной системы) фотоморфогенетических процессов [3].

Следует отметить, что, несмотря на большую сложность, к настоящему времени уже имеются достаточно успешные попытки физического описания основных процессов, происходящих при взаимодействии света с листом и направленных на создание обобщенной оптической модели листа.

## ИЗМЕНЕНИЯ В ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИСПОСОБЛЕНИЕ К УСЛОВИЯМ СРЕДЫ

По той простой причине, что растения неподвижны, их фотосинтетический аппарат должен обладать высокой пластичностью и способностью приспособления к различным и часто меняющимся условиям. В этой связи важное значение имеют два обстоятельства: обеспечение оптимального для данных условий светосбора фотосинтетической радиации и препятствие фотодеструктивным процессам, которые могут вызвать как видимый свет, так и



**Рис. 2.** Спектры поглощения (зависимости интенсивности поглощенного света от длины волны) для листьев клена (*Acer platanoides* L.) при различном содержании хлорофиллов и каротиноидов (нижний рисунок). Спектры рассчитаны из измерений интенсивностей света, отраженного листом, и света, прошедшего через лист. Содержание пигментов в тех же листьях показано на верхнем рисунке. Спектры зеленых летних листьев (5–7) характеризуются высоким поглощением во всей видимой части спектра даже в областях, в которых хлорофиллы имеют низкие удельные коэффициенты поглощения (550–600 и 700–710 нм). Интегральная интенсивность поглощения ими фотосинтетически активной радиации сравнительно мало зависит от содержания пигментов. Такие листья практически полностью поглощают излучение в фиолетово-голубой (400–500 нм) и красной (660–680 нм) областях, а также значительную часть зеленого света. В осенних листьях (1–4) интенсивность поглощения света резко снижается и в спектрах проявляются максимумы хлорофилла *a* (680 нм), хлорофилла *b* (плечо около 650 нм) и более слабые полосы при 560 и 630 нм, принадлежащие хлорофиллу *a*. В листьях с очень низким содержанием хлорофиллов (1) видны полосы поглощения каротиноидов при 460 нм и около 470 нм. В желтых листьях каротиноиды, несмотря на их низкое содержание, сильно поглощают излучение и синей и голубой частей видимого спектра. Сохранение каротиноидов обеспечивает защиту от фотодинамического действия света в стареющих листьях

излучение в ультрафиолетовой области. Обращенные к свету (в сравнении с темновыми) листья характеризуются меньшей площадью, большей толщиной, длинными палисадными клетками и имеют более высокое число устьиц. Хлоропласты таких листьев содержат меньшие количества хлорофилла, но более эффективно осуществляют фотосинтез. Для поверхностей листьев некоторых растений,

произрастающих в условиях сильной солнечной радиации, характерно высокое зеркальное отражение. Листья других растений имеют обильную опушенность, что также снижает интенсивность света, достигающего мезофилла. Защита от действия оптического излучения возможна в результате индукции синтеза дополнительных пигментов, обладающих фотозащитным действием. Примером этому являются антоцианы, содержание которых велико в молодых (ювенильных) и стареющих листьях и которые часто образуются в растениях в ответ на действие высокой интенсивности видимого света, ультрафиолетовой радиации, высоких и низких температур и других стрессорных воздействий. Интересно, что эти красные пигменты обычно локализованы в клетках верхнего эпидермиса и обеспечивают эффективное экранирование в зеленой области, в которой листья в значительной степени прозрачны для света. Действие ультрафиолетовой радиации индуцирует синтез некоторых фенольных соединений, которые накапливаются в кутикуле и эпидермальных клетках, обеспечивая поглощение вредного для растений ультрафиолетового света. В частности, обнаружено, что растения, культивировавшиеся в полевых условиях, содержат значительно больше таких соединений, чем растения, выращенные в тепличных условиях.

Старение листьев, которое происходит у однолетних растений (монокарпиков) в период созревания семян, у листопадных деревьев осенью, а у тропических видов перед наступлением засушливого периода, сопровождается переносом ценных биологических веществ (сахаров, аминокислот) из ассимиляционных тканей в генеративные или запасные органы. В эти периоды, когда происходит “демонтаж” фотосинтетического аппарата, растения особенно подвержены действию света. Одним из механизмов, направленных на защиту веществ и структур в ткани листа, являются сохранение или активация синтеза каротиноидов. Как видно из рис. 2, в желтых осенних листьях клена, в которых почти полностью разрушается хлорофилл, сохраняются каротиноиды. Даже в низких концентрациях они обеспечивают сильное поглощение в синей и голубой областях и, являясь фотохимически малоактивными соединениями, препятствуют фотодеструктивным процессам [5]. Кроме того, в ходе осеннего старения в листьях часто накапливаются антоцианы, которые, по-видимому, осуществляют защиту от излучения в зеленой, оранжевой и ультрафиолетовой областях спектра.

#### ОПТИЧЕСКОЕ ЗОНДИРОВАНИЕ И ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ

Изменения растений в ходе онтогенеза, старения, а также при действии на них неблагоприятных и повреждающих факторов среды (токсические вещества, загрязнители атмосферы, заболевания) со-

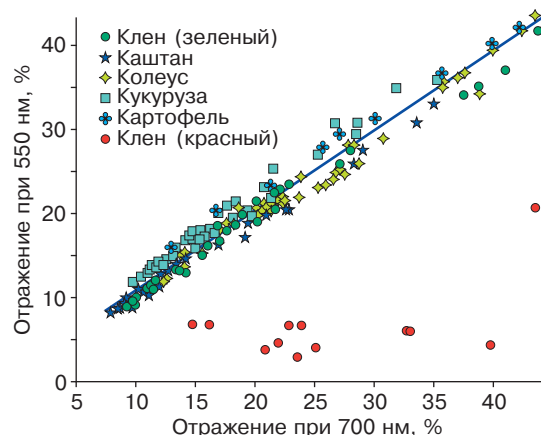


проводятся изменениями содержания и соотношения пигментов, определяющих цвет листьев. Имея сведения о содержании хлорофилла можно оценить эффективность использования растениями фотосинтетически активной радиации, прогнозировать продуктивность посевов, сроки сбора урожая, установить необходимость дополнительного применения удобрений и т.д. Характерные изменения окраски листьев, такие, как хлороз, пожелтение, некроз, побурение, являются симптомами неблагополучия растений. В этой связи значительный интерес представляют возможности объективной оценки состояния растительности, в том числе и в глобальных масштабах, с помощью неструктивных дистанционных оптических методов, и, в первую очередь, используя спектроскопию отражения. Кроме того, оптические методы применяют для оценки качества сельскохозяйственной продукции. Так, в Японии созданы автоматические системы для сортировки и отбраковки плодов мандаринов, бананов, яблок и других растений по их оптическим свойствам.

Вплоть до настоящего времени считалось, что оптические спектры листьев, содержащих высокие количества пигментов, очень сложны, несут слишком мало информации и пригодны для регистрации лишь глубоких драматических изменений. Тем не менее в последние годы появились новые результаты, базирующиеся на более полном понимании спектроскопии пигментов в растениях, которые расширяют возможности применения этих методов.

Так, доказано, что содержание хлорофиллов в целых листьях может быть с достаточно высокой точностью установлено из измерений интенсивности отраженного света при определенных длинах волн. Показана возможность применения этого метода при наблюдении за растительностью из космоса [6]. Оказалось, что чувствительная к изменениям концентрации хлорофилла область находится около 550 нм, а не в красной части спектра (как предполагалось ранее), где расположены максимумы поглощения этих пигментов (рис. 1 и 2).

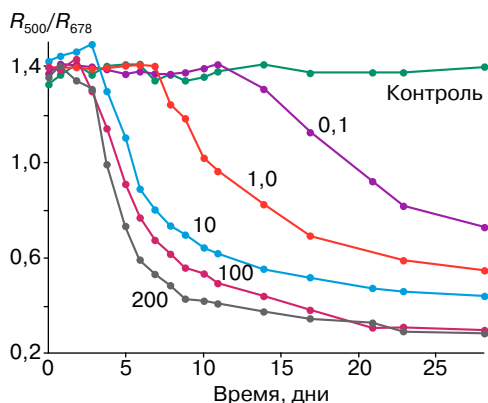
Несмотря на существенные морфологические и анатомические отличия, листья растений разных видов, содержащие только хлорофиллы и каротиноиды, обладают общими и, по-видимому, универсальными свойствами: коэффициенты их отражения в некоторых спектральных областях достаточно хорошо коррелируют между собой (рис. 3 [6, 7]). Эти корреляции нарушаются в тех случаях, когда в листьях присутствуют или появляются дополнительные пигменты (рис. 3). Благодаря этому по спектрам отражения удается обнаружить признаки и оценить степень побурения и некротизации ткани. Побурение связано с окислением некоторых полифенолов ферментом полифенолоксидазой и происходит в результате повреждения внутриклеточных структур клетки, наблюдается при поранении, ста-



**Рис. 3.** Зависимости коэффициентов отражения ( $R$ ) при 550 и 700 нм для листьев указанных растений высоко коррелируют между собой несмотря на различную таксономическую принадлежность, отличия в морфологии, анатомии, внутренних оптических свойствах и содержании пигментов. Эта корреляция является универсальной, по крайней мере, для многих видов растений и объясняется тем, что при этих длинах волн отраженный свет полностью определяется поглощением хлорофилла и оба коэффициента отражения обладают близкой чувствительностью к его содержанию. Как  $R_{550}$ , так и  $R_{700}$  могут быть использованы для количественного определения хлорофилла [6]. Отклонение от этой зависимости является критерием появления дополнительных пигментов [7] (например, для красных листьев клена, содержащих антоцианы)

рени и заболеваниях растений. По оптическим спектрам листьев можно выявить и количественно определить красные пигменты – антоцианы, синтез которых, как уже отмечалось, часто активируется в неблагоприятных условиях. Повреждение растений низкими и высокими температурами приводит к разрушению хлорофиллов и образованию феофитинов (продуктов деградации, в которых отсутствует хелатированный ион магния), что сопровождается характерными изменениями оптических спектров. Кроме того, обнаружено, что действие высоких интенсивностей света (фотоокислительный стресс) вызывает определенные изменения в характере поглощения пигментов, что может быть использовано для выявления этого типа повреждений [7].

Как уже отмечалось, часто старение листьев и созревание плодов сопровождаются сохранением значительной части каротиноидов или активацией их синтеза, что происходит на фоне монотонного разрушения хлорофилла (рис. 1 и 2). Эти изменения отчетливо проявляются в спектрах отражения и могут быть использованы для характеристики временных изменений. В качестве иллюстрации на рис. 4 представлены данные об изменениях отражения плодов лимонов, обработанных этиленом – фито-



**Рис. 4.** Изменение отражения при созревании плодов лимона под действием различных концентраций этилена (его концентрации в мкл/л указаны цифрами). Использованы длины волн в спектрах отражения, которые чувствительны к изменениям содержания хлорофилла и каротиноидов. Необработанные (контроль) плоды мало изменяют свой цвет и интенсивность отражения в течение всего периода инкубации. В присутствии газообразного этилена плоды созревают (желтеют) значительно быстрее. Применение этого фитогормона проявляется в разные сроки, и его действие усиливается с увеличением концентрации. Анализ спектров отражения дает возможность наблюдать за ходом процесса созревания и выявить отдельные фазы трансформации пигментов. Данные получены совместно с к.б.н. О.Б. Чивкуновой и к.б.н. В.Ю. Ракинским

гормоном, широко используемым для ускорения созревания плодов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Даже краткое рассмотрение свидетельствует об очень сложной организации листа высших растений как оптической системы. Благодаря специфической, тонко организованной и динамичной структуре, направленным изменениям в содержании пигментов листья высших растений обладают способностями как к эффективной утилизации энергии солнечного

излучения для фотосинтеза, так и приспособлению к действию этого излучения в самых разнообразных экологических ситуациях. Ответы на многие вопросы, касающиеся более полного понимания оптических свойств листьев, предстоит еще получить. Тем не менее уже накопленные данные и быстрое развитие исследований в этой области создают предпосылки того, что новая важная и интересная информация об особенностях фотосинтетических процессов в листе, целом растении, а также по другим затронутым проблемам будет получена в ближайшее время.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Хум О. Фотосинтез: (Физиол. аспекты). М.: Мир, 1972. 315 с.
2. Лархер В. Экология растений. М.: Мир, 1978. 186 с.
3. Vogelmann T.C., Bjorn L.O. Plants as Light Traps // *Physiol. plant.* 1986. Vol. 68. P. 704–708.
4. Рейвн П., Эверт П., Айхорн С. Современная ботаника. М.: Мир, 1990. Т. 1. 347 с.
5. Merzlyak M.N., Gitelson A.A. Why and What for the Leaves are Yellow in Autumn? On the Interpretation of Optical Spectra of Senescing Leaves (*Acer platanoides* L.) // *J. Plant Physiol.* 1995. Vol. 145. P. 315–320.
6. Gitelson A.A., Kaufman Y.J., Merzlyak M.N. Use of a Green Channel in Remote Sensing of Global Vegetation from EOS-MODIS // *Remote Sens. Environ.* 1996. Vol. 58. P. 289–298.
7. Мерзляк М.Н., Гительсон А.А., Погосян С.И. и др. Спектры отражения листьев и плодов при нормальном развитии, старении и стрессе // *Физиология растений.* 1997. Т. 44, № 5. С. 707–716.

\* \* \*

Марк Нисонович Мерзляк, доктор биологических наук, профессор кафедры клеточной физиологии и иммунологии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: мембранология, свободнорадикальная биология, биофизика, биохимия и физиология растений. Автор 150 научных работ.