

Р.А. Загуменный, А.В. Николаева, И.И. Стрельников

## ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ПАРАМЕТРЫ ЖИЛКОВАНИЯ ЛИСТЬЕВ *LACTUCA SATIVA* L.

Государственное учреждение «Донецкий ботанический сад»

Проведено исследование параметров архитектоники жилкования (длина проводящих элементов, количество ветвлений на единицу длины жилок, количество свободных окончаний жилок в ареолах) различных по порядковому номеру листьев *Lactuca sativa* L., сформированных при различных уровнях интенсивности дополнительного освещения натриевыми лампами. Установлено, что затенение 50 % от полного уровня освещенности вызывает снижение показателей «удельная длина жилок» и «удельная плотность ветвлений», но не оказывает существенного влияния на показатель «удельная плотность свободных окончаний». Дальнейшее увеличение степени затенения не вызывает существенных различий параметров архитектоники жилкования. Выявлено, что порядковый номер листа существенно влияет только на показатель «удельная плотность свободных окончаний», различий остальных показателей жилкования при изменении данного фактора не установлено.

**Ключевые слова:** *Lactuca sativa* L., параметры жилкования листьев, длина проводящих элементов, количество ветвлений на единицу длины жилок, количество свободных окончаний жилок в ареолах, интенсивность освещения

### Введение

Экологическая пластичность, свойственная листовому аппарату, проявляется в изменении его компонентного состава и функциональной активности в зависимости от комплекса биотопических условий (особенности светового, гидротермического, эдафического и прочих режимов). Поэтому в зависимости от экзогенных условий возникают адаптивные изменения на уровне метаболических процессов либо тканевого строения. Так, по мнению некоторых авторов [4, 7, 9], пластичность морфологических показателей листьев в большей степени, чем биохимические показатели, определяет адаптацию листьев к интенсивности светового потока. Помимо этого, другие авторы [11] указывают, что сравнение одного признака при разных уровнях освещенности в пределах вида позволяет описать его норму реакции или особенности развития пластичности.

Уровень освещенности влияет на экспортную функцию листа, в частности, на характер распределения ассимилятов по растению [2]. Следовательно, знание оптимальных параметров освеще-

ния для конкретного вида может быть полезно при разработке агротехники, обеспечивающей растениям достижение максимальных показателей их продуктивности. Так, при изучении жилкования установлено, что высокие показатели величин длины жилок на единицу площади (удельная длина жилок) уравнивают водный потенциал по всему листу путем сокращения площади пластинки между крупными жилками, а также обеспечивают биомеханическую поддержку и устойчивость к мелкомасштабным повреждениям листа. В то же время, низкие показатели удельной длины жилок могут снизить расход веществ на рост и потенциально оптимизировать поглощение света мезофиллом в тени [10]. Таким образом, количество и характер распределения проводящих тканей отражают степень пластичности вида. Через пластичность признаков жилкования реализуется специализация на суборганизменном уровне. Этим достигается оптимальное соответствие функций условиям среды. Исследование изменчивости жилкования лис-

тьев, сформированных при различных уровнях интенсивности освещения, позволит лучше понять возможные стратегии приспособляемости растений, формирующиеся посредством возникающих адаптаций к условиям обитания. Работы в этом направлении имеют ключевое значение для создания эффективных технологий культивирования растений в условиях закрытого грунта.

### **Цель и задачи исследований**

Целью исследования является установление влияния интенсивности освещения на параметры архитектоники жилкования листьев *Lactuca sativa* L. (длина проводящих элементов, количество ветвлений на единицу длины жилок, количество свободных окончаний жилок в ареолах), сформированных при различных уровнях дополнительного освещения натриевыми лампами в условиях закрытого грунта. В связи с этим поставлены следующие задачи:

- 1) определить степень влияния уровня освещенности на показатели архитектоники жилкования листьев;
- 2) выявить связь между особенностями архитектуры жилкования и порядковым номером листа.

### **Объекты и методики исследований**

Объектом изучения являлся салат листовой *L. sativa*, сорт «Гранд Рапидс». Данный вид является однолетней, быстрорастущей культурой, очень чувствительной к недостаточному освещению [1], что обеспечивает получение биоматериала со значительной степенью варьирования в различных световых режимах. Выращивание растений салата проводилось в фондовых оранжереях Донецкого ботанического сада в период с октября по декабрь 2018 года. При проведении исследования дневная температура воздуха изменялась в пределах от +13 °С до +23 °С, в среднем составив 17 °С, относительная влажность воздуха в этот период составляла 88–96 %.

Для обеспечения необходимого фотопериода и уровня интенсивности освещения в дополнение к естественному свету использовалась досветка натриевыми лампами PHILIPS MASTER Green Power 600W/400V. Использование в исследовательских целях и овощеводческих хозяйствах ламп данного типа вызвано тем, что они обладают улучшенными характеристиками ассимиляционного освещения, обеспечивающимися высо-

кой интенсивностью излучаемого ими света в области фотосинтетически активной радиации, стимулирующей процесс усвоения CO<sub>2</sub>, ускоряющей фотосинтез и рост растений [6, 8]. Регулирование светового режима, получаемого исследуемыми растениями, производилось с применением экранирующей сетки, снижающей интенсивность освещения, но не удаляющего избирательно какие-либо части спектра. Необходимый уровень интенсивности освещения для каждой исследуемой ее градации был достигнут путем использования различного числа экранирующих слоев, а также различной степени их перекрытия [5]. Досвечивание натриевыми лампами осуществлялось с момента появления первых всходов и до конца эксперимента. Обеспечиваемый фотопериод составлял 10 ч.

Исследуемый фактор – интенсивность освещения в трех градациях: без притенения (полный уровень нормальной освещенности, 7778,76 ± 345,95 лк); среднее притенение (приблизительно 50 % от полного уровня нормальной освещенности, 4134,90 ± 98,16 лк); сильное притенение (приблизительно 25 % от полного уровня нормальной освещенности, 2273,05 ± 83,62 лк).

Для изучения особенностей жилкования было взято по 4 образца с каждого из исследуемых листьев (с 3-го, 4-го и 5-го листа – этот параметр в дальнейшем используется как «порядковый номер листа») растений *L. sativa*, сформированных в трех исследуемых вариантах затенения. Подготовка препаратов для анатомических исследований проводилась по методике Р.П. Барыкиной [6].

Исследование архитектуры жилкования листовых пластинок проводилось путем программной обработки микрофотографий просветленных препаратов. Для получения цифровых изображений использовался микроскоп «Primo Star (Zeiss)» с подключенной к нему откалиброванной фотокамерой при использовании программного обеспечения AxioVision. Разрешение изображений составляло 3648 на 2736 пикселей. С учетом коэффициента масштабирования, площадь исследуемого участка листа составляла 11,45 мм<sup>2</sup>.

Изучение параметров жилкования проводилось на полученных цифровых изображениях с разграниченными участками ареол и жилок. Осуществление разграничения цифровых изображений на указанные участки было достигнуто благодаря использованию метода бинаризации изо-

бражений с программным обеспечением FIJI. Суть данного метода заключается в создании однобитного формата изображения, что достигается приобретением всеми пикселями изображения значений 0 – ареолы, или 1 – жилки.

Далее, к бинаризованным изображениям применяли процедуру скелетизации (выделение срединных осей объектов, соответствующих жилкам). Определение параметров жилкования проводили на основе скелетизированных изображений с применением функции программного комплекса FIJI – AnalyzeSkeleton.

Дальнейшая обработка данных, полученных посредством измерения длин линий, количества их ветвлений и свободных окончаний на скелетизированных изображениях, проводилась в среде редактора электронных таблиц Excel.

Для расчета показателя «удельная длина жилок» (УДЖ) использовалась формула:

$$\text{УДЖ} = L/A, \quad (1)$$

где  $L$  – суммарная длина жилок на изображении;  $A$  – площадь анализируемого участка листа.

Для расчета показателя «удельное количество ветвлений» (УКВ) использовалась формула:

$$\text{УКВ} = N_j / A, \quad (2)$$

где  $N_j$  – суммарное количество ветвлений жилок на изображении;  $A$  – площадь анализируемого участка листа.

Для расчета показателя «удельное количество свободных окончаний» (УСО) использовалась формула:

$$\text{УСО} = N_e / A, \quad (3)$$

где  $N_e$  – суммарное количество свободных окончаний жилок на изображении;  $A$  – площадь анализируемого участка листа.

Для установления различий средних значений параметров жилкования между группами с различной степенью затенения, а также определения степени влияния фактора, был использован двухфакторный дисперсионный анализ.

### Результаты исследований и их обсуждение

Результат анализа показал значимые отличия между группами с разным уровнем затенения для

трех исследуемых показателей: УДЖ, УКВ и УСО листьев растений *L. sativa*. Аналогично было подтверждено, что указанные параметры различаются у разных по порядку листьев (табл. 1). Плотность свободных окончаний жилок достоверно отличается при сравнении листьев, различных по порядковому номеру. Обычно особенности этого параметра связывают с формированием оптимальной площади контакта между сосудами и мезофиллом.

По мере формирования новых листьев, вероятно, может происходить сдвиг в сторону оптимизации процессов захвата и консервации энергии и вещества. Следовательно, высокие показатели УСО у более старых листьев могут свидетельствовать о существовании онтогенетических изменений в направлении приспособительных реакций. Так, можно предположить, что на ранних этапах развития, когда листьев еще мало, растение стремится реализовать экстенсивную стратегию накопления пластических веществ. В результате более молодые листья имеют меньшее количество свободных окончаний, что практически всегда тождественно увеличению площади паренхимных тканей.

Взаимодействие этих исследуемых факторов достоверно влияет на удельную плотность ветвления и плотность свободных окончаний. Зависимость удельной плотности свободных окончаний от фактора «порядковый номер листа» у листьев салата листового возможно связана с тем, что при формировании растения каждый последующий лист имеет меньшую длину, чем предыдущий.

Для детализации результатов дисперсионного анализа и оценки различий между средними значениями в группах использован постериорный анализ, в частности тест Тьюки. Результаты теста – различия, доверительный интервал этого различия и критерий значимости  $p$ -значения приведены в таблицах 2 и 3 для каждого из факторов и для их взаимодействия.

Согласно результатам анализа, различия средних значений удельной длины жилок и плотности их ветвлений достоверно отличаются при попарном сравнении 0 % – 50 % и 0 % – 75 % затенения, однако сравнение 50 % – 75 % затенения достоверных отличий не показало (табл. 2).

Таким образом, уже при 50 % затенении существенно уменьшается удельная длина жилок и

**Таблица 1.** Результат дисперсионного анализа для показателей архитектуры жилкования (УДЖ, УКВ, УСО) различных по порядковому номеру листьев растений *Lactuca sativa* L. при разных уровнях освещения

Параметр	Степень свободы df	Сумма квадратов SS	Средний квадрат, MS	Значение F-статистики	p-значение теста Pr(>F)
Удельная длина жилок					
Затенение	2	6,322016	3,161008	27,64219	2,9E-11**
Порядковый номер листа	2	0,199748	0,099874	0,87337	0,419211
Взаимодействие затенения и градации листа	4	0,778187	0,194547	1,701261	0,151387
Остатки модели	190	21,72735	0,114354		
Удельная плотность ветвлений					
Затенение	2	11,62012	5,810058	9,139737	0,000162**
Порядковый номер листа	2	3,76765	1,883825	2,963424	0,054034
Взаимодействие затенения и градации листа	4	16,93864	4,234661	6,661497	4,88E-05**
Остатки модели	190	120,7815	0,635692		
Удельная плотность свободных окончаний					
Затенение	2	3,935121	1,967561	6,128466	0,002635*
Порядковый номер листа	2	7,235316	3,617658	11,26811	2,37E-05**
Взаимодействие затенения и градации листа	4	11,29245	2,823112	8,793296	1,56E-06**
Остатки модели	190	61,00001	0,321053		

Примечание – \* достоверно значимые отличия, p-значение < 0,05, \*\* – p-значение < 0,001

**Таблица 2.** Результаты теста Тьюки для группирующей переменной «затенение» для показателей архитектуры жилкования (УДЖ, УКВ, УСО) листьев растений *Lactuca sativa* L. при разных уровнях освещения

Группы затенения, %	Разность между средними в группах	Нижняя	Верхняя	p-значение теста
		граница 95% доверительного интервала		
Удельная длина жилок				
50–0	-0,39573	-0,52981	-0,26165	1,51E-10**
75–0	-0,33211	-0,47374	-0,19049	3E-07**
75–50	0,063619	-0,0789	0,206135	0,543535
Удельная плотность ветвлений				
50–0	-0,408	-0,72414	-0,09187	0,007374**
75–0	-0,57587	-0,90978	-0,24195	0,0002**
75–50	-0,16786	-0,50388	0,168152	0,466493
Удельная плотность свободных окончаний				
50–0	-0,01669	-0,24136	0,207976	0,983166
75–0	-0,31888	-0,55618	-0,08158	0,004964*
75–50	-0,30219	-0,54099	-0,0634	0,008846*

Примечание – \* достоверно значимые отличия, p-значение < 0,05, \*\* – p-значение < 0,001

**Таблица 3.** Результаты теста Тьюки для группирующей переменной «порядковый номер листа» для показателей архитектуры жилкования (УДЖ, УКВ, УСО) листьев растений *Lactuca sativa* L.

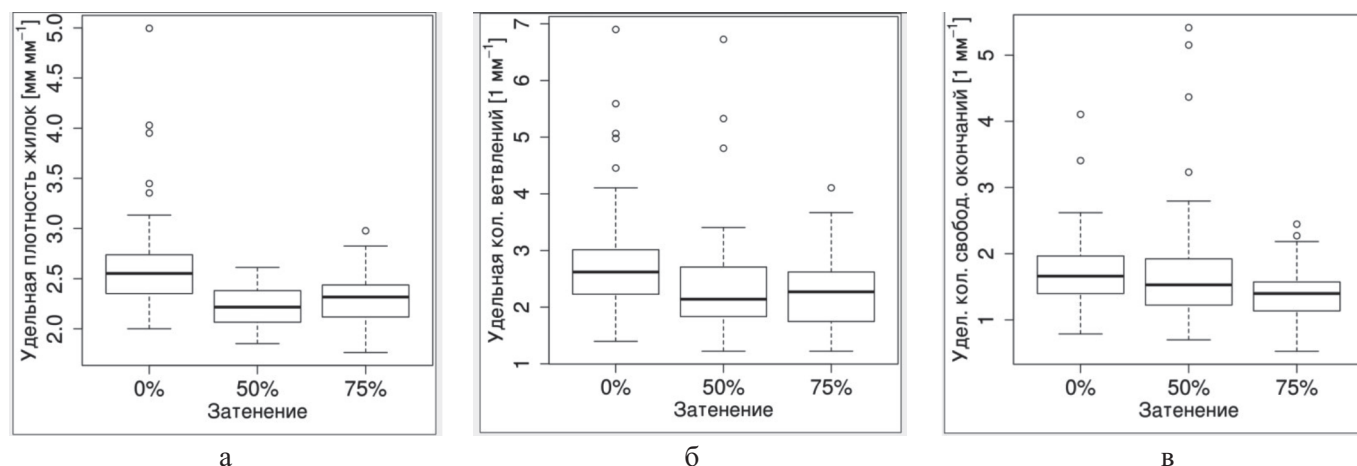
Порядковый номер листа	Разность между средними в группах	Нижняя	Верхняя	p-значение теста
		граница 95% доверительного интервала		
Удельная длина жилок				
4-3	-0,01232	-0,14687	0,122228	0,974538
5-3	0,061718	-0,07967	0,203102	0,558144
5-4	0,074039	-0,0678	0,215876	0,435185
Удельная плотность ветвлений				
4-3	-0,3268	-0,64403	-0,00956	0,041826
5-3	-0,1575	-0,49085	0,175843	0,50531
5-4	0,169292	-0,16512	0,503708	0,457111
Удельная плотность свободных окончаний				
4-3	-0,43434	-0,65978	-0,20889	2,82E-05**
5-3	-0,3343	-0,57119	-0,0974	0,00295*
5-4	0,10004	-0,13762	0,337698	0,581324

Примечание – \* достоверно значимые отличия, p-значение < 0,05, \*\* – p-значение < 0,001

плотность их ветвления (рис. 1 а, б). При этом в оранжерейном комплексе Донецкого ботанического сада в осенне-зимний период максимальный уровень средневзвешенной освещенности не превышает 3000 лк, что подтверждает необходимость применения дополнительного освещения для выращивания светолюбивых растений в осенне-зимнее время. Уровень затенения существенно не влияет на удельную плотность свободных окончаний при 50%, а при дальнейшем увеличении затенения отмечены достоверно более низкие значения (рис. 1 в).

Так, при изучении жилкования [10] установлено, что высокие показатели величин длины жилок на единицу площади уравнивают водный по-

тенциал по всему листу путем сокращения площади пластинки между крупными жилками, а также обеспечивают биомеханическую поддержку и устойчивость к мелкомасштабным повреждениям листа. В то же время было установлено, что низкие значения показателя длины жилок на единицу площади могут снизить расход веществ на рост и потенциально усилить поглощение света мезофиллом в тени. Основываясь на этом, можно сделать предварительный вывод о том, что в случае с салатом листовым, адаптивные преимущества УСО проявляются только на низких уровнях освещения. Возможно, после преодоления некоторого порога доступной световой энергии, дальнейшее приращение УСО уже не произ-



**Рис. 1.** Зависимость распределения удельной длины жилок (а), удельной плотности ветвлений жилкок (б) и удельной плотности свободных окончаний жилкок (в) в листьях *Lactuca sativa* L. от % затенения

**Fig.1.** The dependence of the distribution of the specific length of the veins (a), the specific density of the vein branching (b) and the specific density of the free endings of the veins (c) in the leaves of *Lactuca sativa* L. on % of shading



водит положительный эффект на продуктивность листового аппарата. Однако для подтверждения данного вывода требуется проведение дополнительных исследований.

При попарном сравнении средних значений исследуемых параметров у листьев разной градации обнаружена достоверная разница только в удельной плотности свободных окончаний 3 от 4 и 5 листа (табл. 3).

Выявленные различия в рассматриваемых параметрах жилкования, возможно связаны с их функциональной значимостью, которая может иметь адаптивное значение.

Так, увеличение длины жилок и частоты их ветвлений может быть адаптивным признаком, который важен в условиях достаточного освещения, когда растение может инвестировать больше веществ в структуры, обеспечивающие интенсификацию фотосинтеза. Оптимизация частоты свободных окончаний жилок, напротив, может быть механизмом адаптации к недостатку освещения, как, в прочем, и результатом пассивной изменчивости.

#### **Выводы**

Установлена статистически значимая связь между количеством световой энергии, параметрами жилкования (удельная длина проводящих элементов, количество ветвлений на единицу площади, количество свободных окончаний жилок в ареолах) и порядковым номером листа *L. sativa*. Удельная длина жилок и плотность ветвлений уменьшаются при снижении освещения до 50 % от полного (7779 лк), дальнейшее снижение освещенности не вызывает значительных изменений. Удельная плотность свободных окончаний, наоборот, не изменяется при затенении в 50 % и снижается при дальнейшем уменьшении освещения. Также установлено, что удельная плотность свободных окончаний жилок изменяется в зависимости от порядкового номера листа, в отличие от других рассмотренных параметров жилкования.

Определены пороговые показатели освещенности, при которых происходят выраженные изменения архитектоники жилкования. Характер пластичности параметров жилкования значительно отличается в интервалах освещенности от 2000 до 4000 лк и от 4000 до 7000 лк. Данные сведения необходимо учитывать при разработке агротехники выращивания *Lactuca sativa*.

1. Абиян М.В., Гиш Р.А., Подушин Ю.В. Влияние периода искусственного освещения на формирование рассады салата // Научный журнал КубГАУ. 2014. N 101(07).
2. Ахтямова Г.А. Регуляция фотосинтеза, транспорта ассимилятов и продуктивности растений в условиях разной освещенности. Участие апопластной инвертазы: автореф. дис. на соискание уч. степ. канд. биол. наук. Казань, 2013. 24 с.
3. Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г., Джалилова Х.Х. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М. Изд-во Московского университета, 2004. 321 с.
4. Кавеленова Л.М., Малыхина Е.В., Розно С.А., Смирнов Ю.В. К методологии экофизиологических исследований листьев древесных растений. Поволжский экологический журнал. 2008. N 3. С. 200–210.
5. Клейн Р.М., Клейн Д.Т. Методы исследования растений / пер. с англ. М.: Колос, 1974. 528 с.
6. Маркова А.Е., Мишанов А.П., Ракутько С.А., Ракутько Е.Н. Энергоэффективность светокультуры салата при различной фотонной облученности // Сборник научных трудов ИАЭП. 2016. Вып. 90. С. 33–39.
7. Синнот Э. Морфогенез растений. Пер. с англ. М.: Изд-во иностр. лит., 1963. 604 с.
8. Удалова О.Ф. Технологические основы культивирования растений томата в условиях регулируемой агроэкосистемы: дис. на соискание ученой степени канд. сельскохозяйств. наук. Санкт Петербург, 2014. 128 с.
9. Ninemets U., Kull O., Tenhunen J.D. An analysis of light effects on foliar morphology, physiology and light interception in temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance // Tree Physiology. 1998. Vol. 18. P. 681–696.
10. Sack L. Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future // New Phytol. 2013. Vol. 198, N 4. P. 983–1000.
11. Thomas J., Givnish and Rebecca A. Montgomery Common-garden studies on adaptive radiation of photosynthetic physiology among Hawaiian lobeliads, 2014. Proc. R. Soc. B281:20132944. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.2944>

Поступила в редакцию: 16.05.2019

UDC 58.035.3:581.454:635.52

**INFLUENCE OF INTENSITY OF ADDITIONAL LIGHTING ON LEAF VENATION  
PARAMETERS IN *LACTUCA SATIVA* L.**

**R.A. Zagumenny, A.V. Nikolaeva, I.I. Strelnikov**

*Public Institution «Donetsk Botanical Garden»*

A study was conducted to investigate the leaves venation architectonics parameters (the length of the conductive elements, the number of branches per veins length unit, the number of free vein endings in areoles) in *Lactuca sativa* L. formed at different levels of intensity of additional illumination with sodium lamps in leaves with different sequence number. The study revealed that shading 50 % of the total level of illumination causes a significant decrease in the values of the indicators «specific length of veins» and «specific branching density», but does affect significantly the indicator «specific density of free endings». At the same time, a further increase in the degree of shading does not cause significant differences in the parameters of the venation architecture. It was also found that the sequence number of leaves significantly influences only the indicator «specific density of free endings» of the veins, whereas other indicators of venation differ insignificantly in leaves with different sequence numbers.

**Key words:** *Lactuca sativa* L., parameters of leaf venation, the length of the conductive elements, the number of branches per vein length unit, the number of free vein endings in areoles, lighting intensity