# ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ РОСТА РАСТЕНИЙ НА ПАРАМЕТРЫ ФОТОСИНТЕЗА

**Е.Р. Буханов**, ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия *e-mail: k26tony@ya.ru* 

А.Г. Липшин, к с.-х. н., Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное подразделение ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

В.Н. Шихов, к. б. н., Институт биофизики СО РАН – обособленное подразделение ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия
В.В. Вагнер, к. с-х. н., ОПХ Курагинское, ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

В.В. Величко, к. б. н., Институт биофизики СО РАН – обособленное подразделение ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия
А.Д. Шефер, Институт физики имени Л.В. Киренского СО РАН – обособленное подразделение ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия
А.П. Рябичев, ОПХ Михайловское, ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН,

Красноярск, Россия

**Н.А. Сурин**, д. с-х. н., Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное подразделение ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

*Аннотация.* В работе проведено численное моделирование структуры хлоропластов пшеницы на основе полученных изображений с электронной микроскопии. Было установлено, структура растений с учетом линий поглощения молекул хлорофилла способна образовывать зоны селективного отражения и локальные пики плотности фотонных состояний. Проведено сравнение ярового ячменя при разных условиях роста и разной подкормки. Полученные результаты свидетельствуют об ухудшении упорядочения тилакоидов внутри хлоропластов. В результате, разупорядоченность структуры приводила к снижению спектральных характеристик. Таким образом, данные исследования приводят к тому, чтобы считать хлоропласты растений полноправными биологическими фотонными кристаллами.

Ключевые слова: фотосинтез, хлоропласт, структура, спектроскопия,

условия роста, численное моделирование

# INFLUENCE OF PLANT GROWTH CONDITIONS ON PHOTOSYNTHESIS PARAMETERS

E.R. Bukhanov, FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia e-mail: k26tony@ya.ru
A.G. Lipshin, candidate of Agricultural Sciences, Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
V.N. Shihov, candidate of Biological Sciences, Institute of Biophysics FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
V.V. Vagner, candidate of Agricultural Sciences, OPH Kuraginskoe FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
V.V. Velichko, candidate of Biological Sciences, Institute of Biophysics FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
A.D. Shefer, Kirensky Institute of Physics FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
A.P. Ryabichev, OPH Mihaylovskoe FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
N.A. Surin, doctor of Agricultural Sciences, Krasnoyarsk, Russia

*Abstract.* Numerical modeling of the structure of wheat chloroplasts was carried out on the base of the images obtained by an electron microscopy. It was found that the plant structure, taking into account the absorption lines of chlorophyll molecules, can form zones of selective reflection and local peaks in the density of photon states. A comparison was made of spring barley under different growth conditions and different additional nutrition. The results obtained indicate a decrease in the order strength of thylakoids within chloroplasts. As a result, the disorder of the structure led to a decrease in the spectral characteristics. Thus, these studies lead to the consideration of plant chloroplasts as full-fledged biological photonic crystals.

*Keywords:* photosynthesis, chloroplast, structure, spectroscopy, growth conditions, numerical simulation

#### Введение

С каждым годом с момента открытия фотонных кристаллов (ФК) ученые все чаще находят их аналоги повсюду вокруг нас [1]. Развитие технологий электронной микроскопии позволило изучать биологический мир, а вследствие и обнаружить биологические ФК в строении животных и насекомых [2]. Практически во всех найденных случаях объект изучения обладал так называемой «структурной окраской». Под структурной окраской понимается случай, когда видимый цвет объекта обуславливается его структурными особенностями, а не пигментной составляющей.

В растения, ФК были впервые описаны в листьях бегонии. Несмотря на то, что листья бегонии обладая своей яркой иридесценцией всегда привлекали большое внимание биологов и их структура была уже известна [3], лишь в 2016 в работе Якобса [4] впервые описали это явления за счет свойств сравнения поверхностной структуры листьев с ФК. Работа Якобса положила начало к исследованию живых растений как к периодическим структурам. Благодаря развитию методов крио-микроскопии им удалось получить снимки иридопластов (частного случая хлоропластов), лежащих в слоях эпидермиса.

В 2017 году была опубликована теоретическая работа [5], где была построена математическая модель одномерного фотонного кристалла, спектральные характеристики которого показали зону селективного отражения в области видимого спектра, который мы можем наблюдать глазом на поверхности живого листа. Также были подробно рассмотрены возможные влияния подобных структур в растениях на процесс фотосинтеза. В дальнейшем, данное теоретическое исследование было дополнено рядом других работ учитывающих взаимодействием нескольких структур или оптически активными молекулами [6, 7].

Вслед за работой Якобса были найдены отличные формы периодических структур в других подобных темновых растениях [8-11].

В данной работе были рассмотрены результаты исследований по изучению особенностей организации структуры растений, их реакции на воздействия окружающей среды и совокупному влиянию на параметры фотосинтеза.

### Методы исследований

#### Электронная микроскопия

В данной работе были изучены флаговые листья здоровой полевой среднестатистической пшеницы Красноярская 12, яровой ячмень Такмак и Емеля, собранные на этапе колошения. Для электронно-микроскопических исследований были средней части взяты высечки ИЗ полностью сформированного листа. Полученные частицы листьев фиксировали 2.5 %-м глутаральдегидом в фосфатном буфере с последующей дофиксацией 1 %-м OsO4 (Sigma, CША) на дистиллированной воде при комнатной температуре. После фиксации образцы обезвоживали этанолом и ацетоном и пропитывали смесью эпоновых смол и аралдита в соотношении 4:1. Пропитку и полимеризацию проводили в порядке, описанном в работе [12]. Для получения ультратонких срезов использовали ультрамикротом Leica EM UC7. Изображения получали в цифровом виде на просвечивающем электронном микроскопе Hitachi HT 7700.

#### Численное моделирование

Моделью, используемой наиболее широко для описания оптических свойств биологических объектов, является биофотоннокристаллическая [13]. Она состоит из чередующихся слоёв стромы и тилакоидов, соизмеримых с длиной волны видимого диапазона.

За счёт разницы в показателях преломления слоёв при прохождении света происходит его многократное переотражение на границах разделов. Это явление вызывает распространение встречных волн с соответствующими амплитудами A<sub>i</sub> и B<sub>i</sub> в каждом слое. Таким образом, наиболее удобным методом для проведения численного моделирования является метод

трансфер-матриц. Зная амплитуды A<sub>i</sub> и B<sub>i</sub>, можно рассчитать значения A<sub>i-1</sub> и B<sub>i-1</sub>. Для этого необходимо знать показатели преломления n<sub>i</sub> и n<sub>i-1</sub>, толщину слоя Z<sub>i</sub> и частоту волны.

Можно записать:  $(A_{i-1}, B_{i-1}) = Fn(A_i, B_i, Z_i, n_{i-1}, n_i, \omega).$ 

Функция *Fn* одинакова для каждой пары слоёв. Используя данную функцию, можно при заданных начальных условиях ( $A_{out} = 1$ ,  $B_{out} = 0$ ) найти ( $A_0$ ,  $B_0$ ) за N+1 циклов, т.е. амплитуды падающей и отражённой волн.

Зная, что на выходе из структуры существует только исходящая волна  $(A_{out} = 1; B_{out} = 0)$ , можно получить массив относительных значений амплитуд в каждом из слоев фотонного кристалла путём численного расчёта. Это позволяет установить распределение электромагнитного поля в слоистой структуре и спектр её пропускания.

Коэффициент пропускания *T* [14] при обязательном условии идентичности показателей преломления сред до и после образца выражается как

$$T = 1 - \left|\frac{B_0}{A_0}\right|^2.$$
 (1)

Для определения плотности фотонных состояний использовалась формула, полученная в работе [15].

Дисперсия учитывалась изменением действительной части показателя преломления в области линий поглощения хлорофиллов а и б с помощью метода, представленного в работе [16].

## Результаты исследований

## Пшеница «Красноярская 12»

Из отобранных флаговых листьев пшеницы Красноярская 12 были получены снимки структуры хлоропластов. Результаты электронной микроскопии представлены на рисунке 16.



Рисунок 1. Моделирование фотонно-кристаллической слоистой структуры с плоскими электромагнитными волнами, распространяющимися вдоль оси z. Черный прямоугольник слева соответствует правой части изображения. Средняя толщина гранул  $Z_1 = 120$  нм. Среднее стромальное расстояние между гранами  $Z_2 = 70$  нм. Показатели преломления:  $n_1 = 1,48$  для гран;  $n_0 = n_2 = 1,33$  для стромы. (а) Визуальная модель, представляющая фотонный кристалл, используемый в наших расчетах. (б) Часть изображения, взятого с рисунка 1b. (в) Распределение амплитуд электромагнитных волн вдоль фотонного кристалла.

На основе полученных снимков электронной микроскопии была построена математическая модель одномерного фотонного кристалла, соответствующая структуре хлоропласта. В модели также были учтены линии поглощения молекул хлорофилла *а* и *б* за счет дисперсии. Для данного одномерного фотонного кристалла были проведены численные расчеты спектра пропускания и графика плотности фотонных состояний. Результаты расчетов представлены на рисунке 2а.



Рисунок 2. Расчётные графики для гранальной структуры. (А) Спектр пропускания с учётом дисперсии (Б). Спектр пропускания для увеличенной на 10% структуры с учётом дисперсии (В). График плотности фотонных состояний с учётом дисперсии (Г). График плотности фотонных состояний для увеличенной на 10% структуры с учётом дисперсии (е)

Размеры граны за счет движения и деформации тилакойдов могут изменяться на величину до 30% в зависимости от внешних условий [17]. Увеличив период тилакоидов в том же соотношении на 10% мы получили случай, представленный на рисунке 26.

Из сравнения результатов рисунков 2а и 26 видно, что в случае с увеличенным периодом структуры практически исчезает зона селективного отражения в зеленой области, в то время как в красной – остается. Данное исследование позволило выдвинуть гипотезу о том, что в зависимости от воздействия внешней среды растение способно концентрировать энергию в зона эффективного фотосинтеза или же распределять её вдоль всего видимого спектра.

### Ячмень «Емеля»

В работе были использованы растения ячменя сорта «Емеля» селекции КрасНИИСХ, выращенные в полевых условиях и в контролируемых условиях интенсивной светокультуры. Для обоих случаев отбирались и измерялись флаговые листья на этапе колошения. Результаты электронной микроскопии для обоих образцов представлены на рисунке 3.



Рисунок 3. Электронные микрофотографии срезов хлоропластов а) ячменя, выращенного в контролируемых условиях светокультуры, б) ячменя, выращенного в полевых условиях.

Из сравнения рисунков За и Зб отчетливо видна разница между структурным упорядочением тилакоидов хлоропластов. В случае с вегетационной камерой, где растения получали достаточно питания и света и в процессе роста которых не присутствовали никакие стрессовые факторы – тилакоиды упакованы плотно и параллельно, в то время как структура полевых растений сильно разупорядочена.

В таблице представлены результаты спектрометрии листьев.

Таблица – Сравнение максимального квантового выхода фотосистемы 2 (параметр F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) и скорости транспорта электронов (параметр ETR) флаглистьев растений ячменя сорта «Емеля», выращенных в контролируемых условиях интенсивной светокультуры в вегетационной камере и в естественных условиях на опытном полевом участке

	Вегетационная камера	Полевой участок
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub> , отн. ед.	0,79±0,004	$0,76\pm0,002$
ETR, $\mu$ mol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	124,3±4,7	71,8±9.1

Результаты сравнения максимального квантового выхода фотосистемы 2 флаг-листьев показали минимальное различие, что соответствует тому, что все исследуемые растения здоровые. Результаты скорости переноса электроном отличаются практически в два раза, что говорит о том, что структурное упорядочение напрямую влияет на данную характеристику.

В работе [5] были рассмотрены случаи искажения структуры ФК от 0 до 100 процентов и влияние этого искажения на оптические характеристики. Результаты данного исследования полностью согласуются с данными, приведенными в работе [5].

## Ячмень «Такмак»

В работе были использованы растения ячменя сорта «Такмак» селекции КрасНИИСХ, выращенные контролируемых условиях интенсивной светокультуры с различной концентрацией макроэлементов в питательных растворах для выращивания. В одном случае использовался полный кноп, в другом смесь с дефицитом азота. Для обоих случаев отбирались и измерялись флаговые листья на этапе колошения. Результаты электронной микроскопии для обоих образцов представлены на рисунке 3.



Рисунок 4. Электронные микрофотографии срезов хлоропластов ячменя а) дефицит азота б) полный кноп.

Как и в случае с различными внешними условиями на рисунке 4 наблюдается различие между структурами и плотностью упакованности гран. Оба образца были измерены на флуориметре с красной и синей засветкой (рисунок 5).



Рисунок 5. (А) Спектр флуоресценции с синей засветкой. (Б) Спектр флуоресценции с красной засветкой. Линия 1 – полный кноп. Линия 2 – дефицит азота

Результаты спектроскопии показали более высокое значение интенсивности пика флуоресценции для фотосистемы II в случае с использованием полного кнопа как для красной засветки, так и для синей.

## Выводы и предложения

1. Структура хлоропластов обладает длиннопериодической структурой. Ее период сравним с длиной волны света, поэтому ее можно считать Фотонным Кристаллом.

2. Внешние условия роста растения влияют на упорядочение внутренней структуры

3. Расчеты показали непосредственную влияние упорядочения длиннопериодической структуры на электромагнитные поля

4. Спектральные данные подтверждают влияние упорядочения структуры на квантовый выход и скорость переноса электронов при фотосинтезе.

#### Библиографический список

1. Vaz, R. Photonics in nature and bioinspired designs: sustainable approaches for a colourful world / R. Vaz, M. F. Frasco, M. G. F. Sales // Nanoscale Advances. – 2020. – V 2, № 11. – P. 5106–5129.

2. Vigneron, J. P. Natural photonic crystals / J. P. Vigneron, P. Simonis // Physica B: Condensed Matter. – 2012. – V 407, № 20. – P. 4032–4036.

3. Graham, R. M. Physical and Ultrastructural Basis of Blue Leaf Iridescence in Two Neotropical Ferns / R. M. Graham, D. W. Lee, K. Norstog // American Journal of Botany. – 1993. – V 80, № 2. – P. 198.

4. Jacobs, M. Photonic multilayer structure of Begonia chloroplasts enhances photosynthetic efficiency / M. Jacobs, M. Lopez-Garcia, O.-P. Phrathep et. al. // Nature Plants. – 2016. – V 2, № 11. – P. 1–6.

5. Шабанов, А. В. Исследование электромагнитного поля в одномерных фотонных кристаллах с дефектами / А. В. Шабанов, М. А. Коршунов, Е. Р. Буханов // Компьютерная оптика. – 2017. – Т. 41, № 5. – С. 680-686.

6. Коршунов, М. А. Влияние длиннопериодической упорядоченности в структуре растений на первичные стадии фотосинтеза / М. А. Коршунов, А. В. Шабанов, Е. Р. Буханов, В. Ф. Шабанов // ДАН. – 2018. – Т. 478, № 3. – С. 280.

7. Шабанов, А. В. Особенности усиления электромагнитного поля и увеличение плотности фотонных состояний в растительных фотонно-кристаллических структурах / А. В. Шабанов, М. А. Коршунов, Е. Р. Буханов // Компьютерная оптика. – 2019. – Т. 43, № 2. – С. 231-237.

8. Bukhanov, E. Modeling optical properties of plant epicuticular wax / E. Bukhanov, Y. Gurevich, M. Krakhalev, D. Shabanov // In Proceedings of the 2020 International Conference on Information Technology and Nanotechnology (ITNT). -2020. - V 1.

9. Lopez-Garcia, M. Light-induced dynamic structural color by intracellular 3D photonic crystals in brown algae / M. Lopez-Garcia, N. Masters, H. E. O'Brien et. al. // Sci. Adv. – 2018. – № 4. – eaan8917.

10. Liu, J. W. Gigantic chloroplasts, including bizonoplasts, are common in shade-adapted species of the ancient vascular plant family Selaginellaceae / J. W. Liu, S. F. Li, C. T. Wu // Am. J. Bot.  $-2020. - N_{0} 107. - P. 562-576.$ 

11. Ghaffar, R. Adaptive responses of mature giant chloroplasts in the deep-shade lycopod Selaginella erythropus to prolonged light and dark periods / R. Ghaffar, M. Weidinger, B. Mähnert // Plant Cell Environ.  $-2018. - N \ge 41. - P. 1791-1805.$ 

12. Гайер, Г. Электронная гистохимия / Г. Гайер. – М.: Мир, 1974. – 488 с.

13. Bukhanov, E. The Role of Periodic Structures in Light Harvesting / E. Bukhanov, A. V. Shabanov, M. N. Volochaev, S. A. Pyatina // Plants. -2021.  $-N_{\odot}$ . 10. -P. 1967.

14. Шабанов, В. Ф. Оптика реальных фотонных кристаллов / В. Ф. Шабанов, С. Я. Ветров, А. В. Шабанов. – Новосибирск.: Изд. СО РАН, 2005. – 239 с.

15. D'Aguanno, G. Density of modes and tunneling times in finite one-dimensional photonic crystals: A comprehensive analysis / G. D'Aguanno, N. Mattiucci, M. Scalora et. al. // Phys. Rev. E.  $-2004. - N_{2} 70. - P. 16612.$ 

16. Lin, M.-Y. Chiral-Selective Tamm Plasmon Polaritons / M.-Y. Lin, W.-H. Xu, R. G. Bikbaev et. al. // Materials. – 2021. – № 14. – P. 2788.

17. Chow, W. S. Granal stacking of thylakoid membranes in higher plant chloroplasts: The physicochemical forces at work and the functional consequences that ensue / W. S. Chow, E. Kim, P. Horton, J. M. Anderson // Photochem. Photobiol. Sci.  $-2005. - N_{\odot} 4. - P. 1081-1090.$