



Реакция пигментного комплекса листьев клевера лугового на погодные условия и элементы минерального питания

© 2020. И. В. Лыскова, Е. М. Лисицын✉, Т. В. Лыскова

ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», г. Киров, Российская Федерация

В полевых исследованиях 2018...2019 гг. оценивали влияние макроэлементов минерального питания и условий года на пигментный комплекс листьев клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) сорта Дымковский. Опыт проводили в зернопаротравяном севообороте в условиях Кировской области. Пробы листьев (полностью развитые второй-третий лист сверху) отбирали в фазу цветения, в лабораторных условиях спектрофотометрически определяли содержание хлорофиллов и каротиноидов. Выявлено, что содержание пигментов в листьях клевера лугового в наибольшей степени зависело от погодных условий года выращивания. Концентрация зеленых пигментов (Chl a+b) в листьях клевера находилась в диапазоне 15,34...19,05 в условиях более теплого и сухого 2018 года и 11,47...14,10 мг/г сухой массы листа в более прохладном и влажном 2019 году. На Chl a приходилось 9,64...11,36 и 6,67...7,98 мг/г (2018 и 2019 гг. соответственно). Более холодные условия способствовали повышению доли Chl a, ассоциированного со светособирающими комплексами (с 69...78 до 89...96 %). Массовое содержание каротиноидов составило 2,69...3,12 и 1,52...1,88 мг/г в 2018 и 2019 гг. соответственно и коррелировало с содержанием суммарного хлорофилла ($r = 0,53...0,82$). Величины массового соотношения хлорофиллов a/b (1,54...1,75 в 2018 г. и 1,18...1,47 в 2019 г.) указывают на недостаток солнечной инсоляции в условиях взаимозатенения листьев сформировавшегося фитоценоза. Однако массовое соотношение суммы хлорофиллов и каротиноидов (5,7...6,7 в 2018 г. и 6,86...9,65 в 2019 г.) дает основание считать, что данный абиотический фактор не привел к нарушениям структуры фотосинтетического аппарата листьев. Погодные условия значительно модифицировали влияние удобрений на синтез пигментов: в 2018 году азотные удобрения снижали содержание хлорофиллов на 11...22 %, полное минеральное удобрение на кислом почвенном фоне приводило к снижению содержания пигментов на 6,7...11,7 %. В более прохладных условиях 2019 года азотные удобрения не влияли на содержание пигментов, полное минеральное удобрение повысило содержание Chl a на 14,1...17,8 %, каротиноидов – на 18,2...25,4 %. В условиях 2019 г. содержание Chl a значимо зависело от содержания азота в листьях ($r = 0,52...0,92$) и коррелировало с уровнем фосфора в почве: для Chl a – $r = 0,74$ и $0,54$, для Chl b – $r = 0,73$ и $0,75$ (кислый почвенный фон и фона с внесением извести соответственно).

Ключевые слова: хлорофилл, каротиноиды, фосфор, азот, известкование, дерново-подзолистая почва, последствие

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого» (темы №0528-2019-0100 и № 0528-2019-0093).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Лыскова И. В., Лисицын Е. М., Лыскова Т. В. Реакция пигментного комплекса листьев клевера лугового на погодные условия и элементы минерального питания. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2020;21(4):387-396. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.4.387-396>

Поступила: 10.03.2020 Принята к публикации: 23.06.2020 Опубликована онлайн: 24.08.2020

Reaction of pigment complex in meadow clover leaves to weather conditions and macronutrients

© 2020. Irina V. Lyskova, Evgeniy M. Lisitsyn✉, Tatiana V. Lyskova

Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky, Kirov, Russian Federation

In the field studies of 2018...2019, the influence of macronutrients and weather conditions on pigment complex of leaves of meadow clover (*Trifolium pratense* L.) Dymkovsky variety was assessed. The study was carried out in grain-fallow-grass crop rotation in the conditions of Kirov region. Leaf samples (fully developed second or third leaf from above) were taken in the flowering phase, and the chlorophyll and carotenoids content were measured spectrophotometrically under laboratory conditions. It has been found that the content of pigments in the leaves of meadow clover depended mostly on weather conditions of the year of cultivation. The concentration of green pigments (Chl a+b) in clover leaves was in the range of 15.34...19.05 in the conditions of warmer and dry 2018 and 11.47...14.10 mg/g dry matter in colder and humid year of 2019. Chl a accounted for 9.64...11.36 and 6.67...7.98 mg/g (2018 and 2019, respectively). Colder conditions promoted an increase in the ratio of Chl a associated with light-harvesting complexes (from 69...78 up to 89...96 %). Weight content of carotenoids was 2.69...3.12 and 1.52...1.88 mg/g in 2018 and 2019, respectively, and correlated with the content of a total chlorophyll ($r = 0.53...0.82$). The weight ratio of chlorophylls a/b (1.54... 1.75 in 2018 and 1.18... 1.47 in 2019) indicates a lack of insolation in the conditions of mutually shading of leaves of the created phytocenosis. However, the weight ratio of the sum of chlorophylls to carotenoids (5.7... 6.7 in 2018 and 6.86... 9.65 in 2019) suggests that this abiotic factor has not led to disorders

in the structure of the photosynthetic leaf apparatus. Weather conditions considerably modified influence of fertilizers on pigment synthesis: in 2018, nitrogen fertilizers reduced the content of chlorophylls by 11...22 %, full mineral fertilizer on acid soil background led to decrease in the content of pigments by 6.7...11.7 %. In colder conditions of 2019 nitrogen fertilizers did not influence the content of pigments, full mineral fertilizer increased the content of Chl a by 14.1...17.8 %, carotenoids – by 18.2...25.4 %. In the conditions of 2019 the content of Chl a significantly depended on nitrogen content in leaves ($r = 0.52...0.92$) and correlated with phosphorus level in the soil: for Chl a – $r = 0.74$ and 0.54 , for Chl b $r = 0.73$ and 0.75 (acid soil background and soil background with lime application, respectively).

Keywords: chlorophyll, carotenoids, fertilizers, phosphorus, nitrogen, lime application, sod-podzolic soil, aftereffect

Acknowledgment: the research was carried out under the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the state assignment of Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky (theme No. 0528-2019-0100 and No. 0528-2019-0093).

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Conflict of interest: the authors stated no conflict of interest.

For citations: Lyskova I. V., Lisitsyn E. M., Lyskova T. V. Reaction of pigment complex in meadow clover leaves to weather conditions and macronutrients. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2020;21(4): 387-396. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.4.387-396>

Received: 10.03.2020

Accepted for publication: 23.06.2020

Published online: 24.08.2020

Растущая обеспокоенность негативными побочными эффектами современного сельского хозяйства стимулировала необходимость поиска новых агрономических решений для улучшения экологического профиля агросистем [1, 2]. В этой связи повышается роль покровных культур, которые могут повысить урожайность, а также снизить воздействие на окружающую среду в сельскохозяйственных системах [1, 3]. Кроме того, они способны значительно модифицировать почвенные условия: уменьшить степень уплотнения и эрозии [1]; повысить пористость [4]; улучшить способность к удержанию и ремобилизации питательных веществ [5]; обогатить почву органическим веществом, особенно в случае видов бобовых [6]; повысить доступность фосфора растениям [7]. Однако эти полезные функции требуют знания о пригодности данного вида к различным агроэкологическим условиям с уделением особого внимания изменениям, происходящим в свойствах почвы [8]. Поэтому понимание факторов, которые регулируют продуктивность покровных культур в условиях действия различных стрессоров среды выращивания, является необходимой задачей современного сельского хозяйства.

Основой продуктивности растений является работа фотосинтетического аппарата листьев. Хлорофиллы и каротиноиды – его важнейшие компоненты. Из кормовых культур наиболее богаты хлорофиллом и каротиноидами бобовые. Среди них выделяется клевер красный, листья которого значительно превосходят по содержанию хлорофилла такие бобовые культуры, как люпин, соя, фасоль [9].

Количество пигментов изменяется при адаптации к условиям среды и под влиянием различных стрессоров, т. е. отражает реакцию растения на условия произрастания [10, 11, 12]. Ранние структурные изменения происходят в хлоропластах листьев, испытывающих различные абиотические стрессы [13, 14]. В условиях дерново-подзолистых почв главным стрессовым эдафическим фактором является высокое содержание подвижных ионов алюминия. Например, в условиях Фалёнской селекционной станции содержание алюминия в верхних горизонтах естественных почв достигает величин 250-300 мг/кг почвы [15]. В подобных условиях особое значение приобретает доступность растениям такого элемента питания, как фосфор. Фосфатный фонд в пахотном слое представлен, в основном, фосфатами железа – 72 %, высокоосновными фосфатами кальция – 11 % и алюминия – 10 %, которые занимают в сумме минеральных фосфатов 93 % [15]. Ранее нами было установлено, что ежегодное внесение суперфосфата в дозе 50 кг/га обеспечивало содержание подвижного фосфора по нижней оптимальной границе (не менее 100 мг/кг почвы). Внесение суперфосфата в дозах 100, 150, 200 кг/га (ежегодно) обеспечило содержание подвижного фосфора на почвенном фоне с внесением извести от 222 до 376 мг/кг, на естественном кислом почвенном фоне – от 191 до 285 мг/кг [15].

Цель исследований – оценить относительную степень влияния макроэлементов минерального питания и погодных условий года на качественный и количественный состав пигментного комплекса листьев клевера лугового (*Trifolium pratense* L.).

Материал и методы. Исследования проведены на растениях клевера лугового сорта Дымковский в условиях длительного стационарного опыта, заложенного в 1971 г. на Фалёнской селекционной станции (восточный агроклиматический район центральной зоны Кировской области). Почва дерново-подзолистая среднесуглинистая, сформированная на покровных суглинках. Опыт проводили в зернопаротравяном севообороте: чистый пар, озимая рожь, яровая пшеница с подсевом клевера, клевер 1 года пользования (г. п.), клевер 2 г. п., яровая пшеница, овёс. Общая площадь делянки 40,25 м², повторность четырехкратная. Для изучения реакции растений на условия почвенного питания опыт был заложен на двух почвенных фонах – естественный кислый фон, рН 3,68, и фон с внесением извести по 1 гидролитической кислотности, рН 5,60. На обоих почвенных фонах в 2008...2014 гг. удобрения вносили по следующей схеме: 1. Контроль (без удобрений). 2. N90. 3. N90P50K90. 4. N90P100K90. 5. N90P150K90. 6. N90P200K90. В 2015...2019 гг. использовали следующую схему внесения удобрений: 1. Контроль (без удобрений). 2. N90. 3-6. N90P50K90. Варианты 3-6 отличались между собой содержанием подвижного фосфора в почве. В 2009 г. проведено повторное известкование фона по 1 г. к.

Для оценки состояния пигментного комплекса в фазу цветения отбирали пробы листьев (30 полностью сформированных листьев, 2-3-й лист сверху) с двадцати индивидуальных

растений на обоих вариантах почвенных фонов в 6-кратной повторности. В лабораторных условиях на спектрофотометре "UVmini-1240" производства SHIMADZU Corporation (Japan) в трехкратной аналитической повторности при длинах волн 470, 644,8 и 661,6 нм определяли содержание зеленых и желтых пигментов, извлекаемых 100 %-ным ацетоном согласно методике [16], после чего по той же методике рассчитывали содержание хлорофиллов *a* и *b* (*Chl a*, *Chl b*) и каротиноидов (*Car*) на единицу сухой массы листа. Содержание пигментов, приходящихся на светособирающие комплексы, рассчитывали по формуле [17]:

$$[(1,2 \text{ Chl } b + \text{ Chl } b) / (\text{ Chl } a + \text{ Chl } b)].$$

Известно, что складывающиеся погодные условия периода вегетации оказывают прямое влияние на физиологические процессы роста и развития растений. Поскольку образцы отбирали во второй половине июня, на накопление пигментов к этому сроку могли повлиять метеоусловия мая и, в основном, июня. По данным метеопоста Фаленской селекционной станции, в июне 2018 г. отмечали неустойчивую погоду – от холодной с частыми осадками до сухой и жаркой (табл. 1). Первая половина месяца была холодней: сумма эффективных температур составила 457,2 °С, что на 54 °С ниже средней многолетней. Количество осадков было близко к среднему многолетнему показателю. Однако из-за частых дождей во второй декаде отмечали переувлажнение почвы.

Таблица 1 – Метеорологические условия периода вегетации, п. Фалёнки / Table 1 – Meteorological conditions of growing period, s. Falenki

Месяц / Month	Температура воздуха, °С / Air temperature, °C					Осадки, мм / Precipitations, mm				
	по декадам / by ten-day periods			за месяц / per month	± к норме / ± to norm	по декадам / by ten-day periods			за месяц / per month	% к норме / % to norm
	I	II	III			I	II	III		
2018 г.										
Май / May	7,4	13,7	10,8	10,6	+0,3	14	10	34	58	125
Июнь / June	8,5	13,4	20,5	14,1	-1,9	45	28	5	78	118
2019 г.										
Май / May	14,1	13,5	12,1	13,2	+2,9	6	10	17	33	71
Июнь / June	15,3	13,9	16,0	15,1	-0,9	66,4	10,1	32	108,5	164

Летний период 2019 г. характеризовался влажной погодой при недостатке тепла: в июне выпало 164 % от нормы осадков (в 4 раза больше в первую декаду) при температуре воздуха на 1 °С ниже климатической нормы.

В июне наблюдали неустойчивую, преимущественно сухую погоду, а небольшой дефицит тепла и избыток осадков благоприятно сказались на формировании листового аппарата растений.

Гидротермический коэффициент в 2018 г. составил для мая 1,90, для июня – 1,45. Для вегетации 2019 г. аналогичные показатели равнялись 0,73 и 2,51 соответственно.

Статистическая обработка данных проведена методами описательной статистики, корреляционного и дисперсионного анализов с использованием пакета селекционно-ориентированных статистических программ AGROS 2.07 и табличного редактора Microsoft Office Excel 2016. В таблицах представлены средние арифметические значения величин с указанием ошибки среднего. Статистическая значимость различий между вариантами опыта и долей влияния факторов на изучаемые показатели рассчитывалась при уровне $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Согласно полученным данным концентрация зеленых пигментов (*Chl a+b*) в листьях клевера в 2018 г. находилась в диапазоне 15,34...19,05 мг/г сухой массы листа (табл. 2), из них 9,64...11,36 мг/г приходилось на *Chl a*. Массовое соотношение *Chl a/b* находилось в пределах 1,54...1,75, указывая на недостаток освещенности листьев при их взаимозатенении в условиях сформировавшегося ценоза (анализировали 2-3-й листья сверху) и, как результат, усиление роли фотосистемы II в работе фотосинтетического аппарата листьев. При этом содержание *Chl a* в ССК (светособирающий комплекс) составляло 69...78 % от его общего содержания в хлоропластах.

Таблица 2 – Параметры развития пигментного комплекса листьев клевера лугового (мг/г сухой массы листа), 2018 г. /

Table 2 – Parameters of development of pigment complex in red clover leaves (mg/g of dry matter), 2018

Доза, кг/га / Dose, kg/ha		Содержание азота в листьях, % / Content of N in leaves, %	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Car</i>
фосфор / phosphorus	минеральные удобрения / mineral fertilizers				
Без извести / No lime application					
P0	-	2,85±0,28	11,90±0,53	7,15±0,35	3,12±0,09
P0	N90	2,64±0,04	10,60±0,40	6,36±0,23	2,78±0,12
P50	N90P50K90	2,83±0,28	11,07±0,16	6,38±0,09	2,98±0,09
P100	N90P50K90	2,95±0,07	10,44±0,29	5,98±0,16	2,86±0,07
P150	N90P50K90	2,69±0,11	10,97±0,87	7,14±0,67	2,74±0,22
P200	N90P50K90	2,80±0,24	10,80±0,25	6,31±0,20	2,91±0,10
Известь по 1 Нг / Lime application according to 1 unit of hydrolytic acidity					
P0	-	3,08±0,01	11,36±0,79	7,31±0,52	2,80±0,16
P0	N90	3,12±0,16	9,64±0,36	5,70±0,35	2,69±0,05
P50	N90P50K90	3,25±0,34	11,34±0,47	6,97±0,35	2,93±0,13
P100	N90P50K90	3,39±0,13	10,57±0,38	6,58±0,38	2,82±0,05
P150	N90P50K90	3,30±0,24	10,21±0,27	6,39±0,18	2,62±0,12
P200	N90P50K90	2,97±0,10	10,22±0,45	6,43±0,31	2,67±0,14

Содержание каротиноидов статистически значимо ($p \leq 0,05$) коррелировало с содержанием суммарного хлорофилла ($r = 0,82$), массовое содержание каротиноидов составило 2,69...3,12 мг/г. Величина массового соотношения *Chl/Car* составила 5,7...6,7.

В условиях естественной кислой почвы (неизвесткованный почвенный фон, pH 3,68) одностороннее внесение азота (вариант P0 +

N90) привело к снижению содержания пигментов на 11 % по сравнению с контролем (P0). Внесение полного минерального удобрения (остальные варианты опыта) привело к снижению содержания *Chl a* на 8,9 %, *Chl b* – на 11,7 %, каротиноидов – на 6,7 %. Известкование привело к повышению pH почвенного раствора до 5,60. В этих условиях значительно усилилось негативное влияние внесения толь-

ко азотных удобрений: содержание *Chl a* снизилось относительно варианта P0 на 15,2 %, *Chl b* – на 22,1 %. Внесение полного минерального удобрения сделало отличия в содержании пигментов от варианта P0 статистически незначимыми при $p \leq 0,05$. Следует отметить, что на обоих почвенных фонах (рН 3,68 и 5,60) не отмечено статистически значимой взаимосвязи содержания в листьях азота и всех изученных пигментов, а также связи содержания азота в листьях от содержания фосфора в почве.

В условиях 2018 года не отмечено статистически значимых корреляций между содержанием фосфора в почве и пигментов в листьях клевера: соответствующие величины составили для *Chl a* -0,146 и -0,286; для *Chl b* -0,257 и -0,275; для каротиноидов -0,298 и -0,305 при критическом значении 0,497 (при $p \leq 0,05$).

Данные двухфакторного дисперсионного анализа, включающего факторы "известкование" и "доза фосфора", показали отсутствие статистически значимого эффекта последствия известкования (внесения кальция) и повышения дозы внесенного фосфора (варианты 3-6) на изучаемые параметры. С другой

стороны, двухфакторный дисперсионный анализ, учитывающий факторы "известкование" и "внесение в почву различных макроэлементов" (вариант 1 – без внесения удобрений; вариант 2 – внесение азота; усредненные варианты 3-6 – внесение фосфора), показал, что внесение макроэлементов статистически значимо при $p \leq 0,05$ объясняет до 23,3 % изменчивости содержания *Chl a* и 26,9 % вариабельности содержания *Chl b*. В отличие от зеленых пигментов, содержание каротиноидов в 2018 г. значимо зависело от внесения кальция (известкования), его действие объясняет 12,5 % вариабельности этого показателя. Остальные факторы минерального питания – внесение азота или полного удобрения – не оказывали влияния на накопление каротиноидов.

Анализ пигментного комплекса листьев клевера лугового в 2019 году (табл. 3) показал, что содержание всех пигментов было меньше, чем в 2018 г., что может быть объяснено снижением скорости биосинтеза хлорофиллов в условиях продолжительного действия пониженных температур воздуха (ниже 15 °С) в июне 2019 года.

Таблица 3 – Параметры развития пигментного комплекса листьев клевера лугового (мг/г сухой массы листа), 2019 г. /

Table 3 – Parameters of development of pigment complex in red clover leaves (mg/g of dry matter), 2019

Доза, кг/га / Dose, kg/ha		Содержание азота в листьях, % / Content of N in leaves, %	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Car</i>
фосфор / phosphorus	минеральные удобрения / mineral fertilizers				
Без известки / No lime application					
P0	-	1,88±0,07	6,67±0,35	4,98±0,21	1,59±0,13
P0	N90	2,00±0,13	6,98±0,37	5,15±0,39	1,62±0,08
P50	N90P50K90	2,46±0,14	7,86±0,22	5,53±0,35	1,88±0,12
P100	N90P50K90	2,37±0,16	7,92±0,28	6,12±0,38	1,77±0,10
P150	N90P50K90	2,34±0,26	7,98±0,32	5,94±0,18	1,82±0,12
P200	N90P50K90	2,28±0,25	7,75±0,22	6,35±0,18	1,64±0,09
Известь по 1 Нг / Lime application according to 1 unit of hydrolytic acidity					
P0	-	1,98±0,09	6,70±0,26	4,77±0,07	1,67±0,12
P0	N90	2,08±0,21	7,15±0,18	4,90±0,21	1,76±0,03
P50	N90P50K90	2,44±0,07	7,76±0,17	5,71±0,11	1,80±0,08
P100	N90P50K90	2,10±0,18	7,47±0,36	6,31±0,31	1,52±0,11
P150	N90P50K90	2,31±0,23	7,65±0,23	5,98±0,37	1,68±0,06
P200	N90P50K90	2,53±0,04	7,77±0,16	5,70±0,14	1,83±0,03

Суммарное содержание хлорофиллов находилось в диапазоне 11,47...14,10 мг/г сухой массы листа. Содержание *Chl a* также было ниже (6,67...7,98 мг/г), но его доля, содержащаяся в ССК, повысилась до 89...96 %. Соотношение *Chl a/b* находилось в пределах 1,18...1,47, что характерно для высокой степени взаимозатенения листьев в условиях сформировавшегося к фазе цветения фитоценоза. Пропорционально снижению содержания хлорофиллов снизилось и содержание каротиноидов, варьируя от 1,52 до 1,88 мг/г. Связь содержания каротиноидов с содержанием хлорофилла статистически значима ($r = 0,538...0,721$). Массовое соотношение *Chl/Car* составило 6,86...9,65. В 2019 г. проявилась статистически значимая корреляционная связь содержания суммарного хлорофилла и азота в листьях ($r = 0,53$). Среднее количество зеленых пигментов на кислом фоне немного выше, чем на известкованном (13,21 и 12,98 мг/г соответственно).

Действие азотных удобрений (без известкования и внесения фосфора) не повлияло на содержание пигментов, а действие полного минерального удобрения в условиях кислого почвенного фона повысило содержание *Chl a* на 17,8 %, каротиноидов – на 18,2 %. Проведение известкования несколько снизило эффект полного минерального удобрения на содержание *Chl a* (повышение составило 14,1 %), усилив эффект на содержание каротиноидов (повышение на 25,4 %). Во всех случаях значимых изменений содержания *Chl b* не отмечено.

В условиях 2019 г. проявилась статистически значимая связь содержания *Chl a* и азота в листьях ($r = 0,92$ и $0,52$ для естественной кислой почвы и почвенного фона с внесением извести соответственно). В условиях естественной кислой почвы проявилась связь содержания азота и *Chl b* ($r = 0,78$ при $p \leq 0,05$). Связь содержания пигментов в листьях и фосфора в почве также была статистически значимой на обоих почвенных фонах как для *Chl a* ($r = 0,74$ и $0,54$ для естественной кислой почвы и почвенного фона с внесением извести соответственно), так и для *Chl b* ($r = 0,73$ и $0,75$ при $p \leq 0,05$).

Данные проведенного двухфакторного дисперсионного анализа (факторы "известкование" и "внесение в почву различных макроэлементов") показали статистически значимые влияния обоих факторов на содержание *Chl a*:

первый фактор объясняет 21,0 % изменчивости содержания пигмента, второй – 33,3 %. Взаимодействия факторов не наблюдалось. На вариабельность содержания *Chl b* повлияло только действие минеральных удобрений (доля влияния этого фактора составила 24,9 %). Содержание каротиноидов не отличалось статистически для образцов, взятых во всех изучаемых вариантах опыта.

В целом для двух лет исследования, расчет степени влияния изучаемых факторов был проведен в два этапа. На первом этапе оценивали только варианты 3-6, т.е. были взяты в расчет факторы – год, известкование, дозы фосфора. Такое формирование матрицы анализа показало статистически значимое влияние только фактора "год" (суммирующего влияние температуры воздуха, количества осадков и других метеорологических явлений). Доля влияния этого фактора на изменчивость содержания *Chl a* составила 74,2 %, *Chl b* – 12,3 % и *Car* – 79,6 %.

Поскольку влияние дозы фосфора было статистически незначимо, для второго этапа расчетов данные по вариантам 3-6 были усреднены в один вариант "фосфор". В расчет взяли три фактора: год, известкование и элементы минерального питания (вариант 1 – без удобрений, вариант 2 – внесение азота, усредненные варианты 3-6 – внесение полного минерального удобрения). При таком подходе выяснилось, что вариабельность содержания каротиноидов на 84,3 % объясняется влиянием условий года; вариабельность содержания *Chl a* на 71,8% объясняется влиянием условий года и на 2,1 % – действием макроэлементов минерального питания. На содержание *Chl b* практически в равной доле влияли условия года (8,6 %) и внесение макроэлементов (6,5 %). Для всех трех пигментов отсутствовало статистически значимое влияние известкования.

Хорошо известно, что растения адаптируются к условиям выращивания корректируя свой метаболизм, в частности, изменяя качественный и количественный состав пигментного комплекса листьев. Значимые отличия в содержании пигментов в листьях клевера в 2018 и 2019 годах в нашем исследовании скорее всего определялись погодными условиями. Известно, что оптимальной температурой для синтеза хлорофилла считается 30 °С [18]. Пониженные температуры (ниже 15 °С) явля-

ются причиной нарушения световых реакций фотосинтеза [19], особенно в условиях длительного воздействия таких условий на растения [20]. Если же температуры падают ниже 10 °С, растения проявляют типичные симптомы окислительного стресса [21, 22]. По данным метеопоста Фаленской селекционной станции, количество дней в июне со среднесуточной температурой воздуха ниже 15 °С составило в 2018 году 8 дней, в 2019 – 18 дней, причем во второй половине месяца таких дней было соответственно 0 и 10. Однако даже в условиях июня 2019 года температура воздуха не опускалась ниже 10 °С, что, вероятно, с одной стороны, привело к снижению скорости синтеза хлорофиллов и каротиноидов (табл. 2, 3), но при этом структурных нарушений фотосинтетического аппарата не наблюдалось. Это также доказывает и практическое совпадение массовых соотношений зеленых и желтых пигментов в листьях клевера, полученных в нашем исследовании: в условиях 2018 года величина массового соотношения *Chl/Car* составила 5,7...6,7, в 2019 году немного выше – 6,8...9,6. По мнению [16, 23] и многих других исследователей, соотношение *Chl/Car* является хорошим индикатором нарушений пигментного аппарата растений под действием стрессовых факторов различной природы. Вывод о преимущественном влиянии погодных условий на состояние пигментного комплекса листьев клевера также подтверждается нашими данными трехфакторного дисперсионного анализа, показавшего, что условия года (температура и количество осадков) могут объяснить до 72...74 % вариативности содержания хлорофилла *a* и до 80...84 % вариативность содержания каротиноидов.

Известно, что синтез хлорофилла требует наличия многих макроэлементов, особенно фосфора и азота [24]. Отсутствие статистически значимых различий соотношений *Chl/Car* и *Chl a/b* в вариантах с различными уровнями содержания фосфора в почве в оба года изучения может указывать на то, что дефицит фосфора в почве (вариант P50), как и его избыток (вариант P200), не приводит к структурным нарушениям фотосинтетического аппарата. Эти выводы согласуются с результатами работ зарубежных авторов [25], в которых показана стабильность соотношений *Chl a/b* и *Chl/Car* при различных уровнях содержания фосфора

в листьях. В то же время температурные условия выращивания значимо влияли на степень зависимости содержания листовых пигментов от концентрации фосфора в почве: в более теплых и сухих условиях 2018 года эти зависимости не были статистически значимыми, в более холодных условиях 2019 года синтез хлорофиллов значимо зависел от дозы фосфора в почве ($r = 0,536...0,748$).

Считается, что значительная часть азота в листьях заключена в молекулах хлорофилла, поскольку в ряде работ показана прямая связь между этими двумя параметрами [26, 27]. В наших исследованиях статистически значимые связи содержания хлорофилла и азота в листьях клевера обнаружены только в условиях более прохладного 2019 года, причем с содержанием *Chl a* в листьях эта связь была высокой и проявлялась на обоих почвенных фонах (рН 3,68 и 5,60), тогда как с *Chl b* связь была существенно ниже и проявилась только в условиях низкого рН почвы. Необходимо отметить, что именно в условиях кислой почвы в 2019 году было отмечено статистически значимая связь содержания азота в листьях клевера с содержанием фосфора в почве ($r = 0,49$).

Хотя большинство исследователей обычно устанавливают положительное влияние азотных удобрений на синтез хлорофилла в листьях [28, 29], существуют работы, в которых указывается на то, что они могут приводить к снижению концентрации пигментов [30], либо не оказывать статистически значимого влияния на изучаемые показатели [31] в зависимости от года исследований, дозы и формы применяемого азотного удобрения. Наши данные показали, что содержание азота в листьях статистически значимо влияло на синтез фотосинтетических пигментов только в условиях прохладного лета 2019 года ($r = 0,92$ и $0,52$ для естественной кислой почвы и почвенного фона с внесением известки соответственно).

В целом, анализ взаимосвязи содержания пигментов в листьях с содержанием минеральных элементов в почве (азота и фосфора) позволяет предположить, что в более благоприятных погодных условиях пигментный комплекс не является основным потребителем этих макроэлементов в листьях. Однако в условиях продолжительного воздействия субоптимальных температур (ниже 15 °С) между различными физиологическими про-

цессами, протекающими в растении, возникает конкуренция за доступные элементы питания, в которой пигментный аппарат получает значительное преимущество.

Заключение. Таким образом, анализ полученных данных показал, что содержание пигментов в листьях клевера лугового в наибольшей степени зависело от погодных условий года выращивания (доля влияния этого фактора составила 74...84 %).

В более сухих и теплых условиях 2018 года содержание зеленых пигментов (*Chl a+b*) в листьях клевера составило 15,34...19,05 мг/г сухой массы, из них 9,64...11,36 мг/г приходилось на *Chl a*, 69...78 % которого содержалось в ССК. Внесение азотных удобрений приводило к снижению уровня синтеза пигментов: *Chl a* – на 11...15 %, *Chl b* – на 11...22 % в зависимости от рН почвы. При этом не выявлено связи содержания фотосинтетических пигментов как с содержанием азота в листьях клевера, так и с содержанием фосфора в почве. Полное минеральное удобрение не повлияло на содержание пигментов при рН 5,60, но на кислом почвенном фоне (рН 3,68) содержание пигментов снижалось на 6,7...11,7 % относительно контроля без внесения удобрений.

В более прохладных и влажных условиях 2019 года общее содержание хлорофиллов снизилось до 11,47...14,10 мг/г сухой массы листа. Содержание *Chl a* также было ниже (6,67...7,98 мг/г), но его доля, содержащаяся в ССК, повысилась до 89...96 %. Пропорцио-

нально снижению содержания хлорофиллов снизилось и содержание каротиноидов, варьируя от 1,52 до 1,88 мг/г. Азотные удобрения (без известкования и внесения фосфора) не повлияли на содержание пигментов, полное минеральное удобрение повысило содержание *Chl a* на 14,1...17,8 %, каротиноидов – на 18,2...25,4 %, значимых изменений содержания *Chl b* не отмечено. В условиях 2019 г. содержание *Chl a* значимо зависело от содержания азота в листьях ($r = 0,52...0,92$). В условиях естественной кислой почвы проявилась связь содержания азота и *Chl b* ($r = 0,78$). Содержание пигментов в листьях значимо коррелировало с уровнем фосфора в почве: для *Chl a* – $r = 0,74$ и $0,54$, для *Chl b* – $r = 0,73$ и $0,75$ (кислый почвенный фон и фона с внесением известки соответственно). Корреляция между содержанием фосфора в почве и содержанием каротиноидов в листьях была незначимой во всех случаях.

Основываясь на показателях массового соотношения хлорофиллов *a/b* (1,54...1,75 в 2018 г. и 1,18...1,47 в 2019 г.) можно предположить, что растения развивались в условиях недостатка солнечной инсоляции в загущенном сомкнутом посеве; однако массовое соотношение суммы хлорофиллов и каротиноидов (5,7...6,7 в 2018 г. и 6,86...9,65 в 2019 г.) показывает, что данный абиотический фактор не привел к нарушениям структуры фотосинтетического аппарата листьев клевера лугового.

References

1. Scopel E., Triomphe B., Affholder F., Macena Da Silva F. A., Corbeels M., Valadares Xavier J. H., Lahmar R., Recous S., Bernoux M., Blanchart E., De Carvalho Mendes I., De Tourdonnet S. Conservation agriculture cropping systems in temperate and tropical conditions, performances and impacts. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 2013;33:113-130. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13593-012-0106-9>
2. Mauro R. P., Sortino O., Dipasquale M., Mauromicale G. Phenological and growth response of legume cover crops to shading. *J. Agric. Sci.* 2014;152(6):917-931. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859613000592>
3. Djigal D., Saj S., Rabary B., Blanchart E., Villenave C. Mulch type affects soil biological functioning and crop yield of conservation agriculture systems in a long-term experiment in Madagascar. *Soil Till. Res.* 2012;118:11-21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.still.2011.10.008>
4. Carof M., De Tourdonnet S., Coquet Y., Hallaire V., Roger-Estrade J. Hydraulic conductivity and porosity under conventional and no-tillage and the effect of three species of cover crop in Northern France. *Soil Use Manage.* 2007;23(3):230-237. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2007.00085.x>
5. Doltra J., Olesen J. E. The role of catch crops in the ecological intensification of spring cereals in organic farming under Nordic climate. *Eur. J. Agron.* 2013;44:98-108. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.03.006>
6. Stagno F., Abbate C., Intrigliolo F., Abbate V., Gennari M. Effect of leguminous cover crops on soil biological activity in pots of Citrus unshiu Marcovitch. *Ital. J. Agron.* 2008;3(3):183-190. DOI: <https://doi.org/10.4081/ija.2008.183>
7. Kamh M., Horst W. J., Amer F., Mostafa H., Maier P. Mobilization of soil and fertilizer phosphate by cover crops. *Plant Soil.* 1999;211:19-27. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1004543716488>

8. Mauro R. P., Anastasi U., Lombardo S., Pandino G., Pesce R., Restuccia A., Mauromicale G. Cover crops for managing weeds, soil chemical fertility and nutritional status of organically grown orange orchard in Sicily. *Italian Journal of Agronomy* 2015;10(2):101-104. DOI: <https://doi.org/10.4081/ija.2015.641>
9. Kurenkova S. V. *Fotosinteticheskie pigmenty. Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rasteniy na Severe*. [Photosynthetic pigments. Physiology and biochemistry of cultivated plants in the North]. Leningrad: *Nauka*, 1976. pp. 28-35.
10. Andrianova Yu. E., Tarchevskiy I. A. *Khlorofill i produktivnost' rasteniy*. [Chlorophyll and plant productivity]. Moscow: *Nauka*, 2000. 135 p.
11. Batalova G. A., Shchennikova I. N., Lisitsyn E. M. Breeding of grain crops in extreme climatic conditions. *Temperate Crop Science and Breeding: Ecological and Genetic*. Waretown, NJ: Apple Academic Press, 2016. pp. 3-16. URL: https://www.researchgate.net/publication/313404916_Breeding_of_Grain_Crops_in_Extreme_Climatic_Conditions_Ecological_and_Genetic_Studies
12. Lisitsyn E. M., Kedrova L. I., Utkina E. I., Zlobina N. A. *Reaktsiya pigmentnogo apparata list'ev ozimoy rzhi na edaficheskiy stress*. [Reaction of pigment apparatus of winter rye leaves on edaphic stress]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka = Agricultural Science Euro-North-East*. 2010;1(16):20-24. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=13070823>
13. Li Q. C., Wang H. B., Wang H. J., Zheng W., Wu D. M., Wang Z. Z. Effects of kinetin on plant growth and chloroplast ultrastructure of two *Pteris* species under arsenate stress. *Ecotox. Environ. Safe*. 2018;158:37-43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.009>
14. Zhang F., Lu K., Gu Y., Zhang L., Li W., Li Z. Effects of Low-Temperature Stress and Brassinolide Application on the Photosynthesis and Leaf Structure of Tung Tree Seedlings. *Front. Plant Sci*. 2020;10:1767. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01767>
15. Lyskova I. V., Rylova O. N., Veselkova N. A., Lyskova T. V. *Vliyanie udobreniy i izvesti na agrokhimicheskie pokazateli i fosfatnyy rezhim dervno-podzolistoy srednesuglinistoy pochvy*. [Influence of mineral fertilizers and lime on agrochemical parameters and phosphorus regimes of medium-loamy sod-podzolic soil]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka = Agricultural Science Euro-North-East*. 2015;(2(45)):27-32. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23113615>
16. Lichtenthaler H. K., Buschmann C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*. 2001;1(1):F.4.3.1-F.4.3.8. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
17. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol*. Academic Press Inc., New York. 1987;148:350-382. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
18. Nagata N., Tanaka R., Satoh S., Tanaka A. Identification of a vinyl reductase gene for chlorophyll synthesis in *Arabidopsis thaliana* and implications for the evolution of *Prochlorococcus* species. *Plant Cell*. 2005;17(1):233-40. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.104.027276>
19. Suzuki K., Ohmori Y., Ratel E. High root temperature blocks both linear and cyclic electron transport in the dark during chilling of the leaves of rice seedlings. *Plant Cell Physiology*. 2011;52(9):1697-1707. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr104>
20. Murata N., Takahashi S., Nishiyama Y., Allakhverdiev S. I. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *BBA-Bioenergetics*. 2007;1767(6):414-421. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.11.019>
21. Yadegari L. Z., Heidari R., Carapetian J. The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MDA), total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedling. *Journal of Biological Sciences* 2007;7(8):1436-1441. DOI: <https://doi.org/10.3923/jbs.2007.1436.1441>
22. Wojciechowska R., Kalisz A., Sekara A., Nosek M., Cebula S., Miszalski Z., Kunicki E., Grabowska A. Alteration in chlorophyll a fluorescence and pigment concentration in the leaves of cauliflower and broccoli transplants subjected to chilling. *Not Bot Horti Agrobo*. 2016;44(1):17-24. DOI: <https://doi.org/10.15835/nbha44110251>
23. Hendry G. A. F., Price A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. *Methods in Comparative Plant Ecology*. Chapman & Hall, London. 1993. pp. 148-152.
24. Li Y., He N., Hou J., Xu L., Liu C., Zhang J., Wang Q., Zhang X., Wu X. Factors influencing leaf chlorophyll content in natural forests at the biome scale. *Front. Ecol. Evol*. 2018;6:64. DOI: <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00064>
25. Singh S. K., Reddy V. R., Fleisher D. H., Timlin D. J. Relationship between photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence in soybean under varying phosphorus nutrition at ambient and elevated CO₂. *Photosynthetica* 2017;55(3):421-433. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11099-016-0657-0>
26. Evans J. R. Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology*. 1983;72(2):297-302. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1066227/>

27. Bojovic B., Markovic A. Correlation between nitrogen and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.). Kragujevac J. Sci. 2009;31:69-74. URL: https://www.researchgate.net/publication/266609505_Correlation_between_nitrogen_and_chlorophyll_content_in_wheat_Triticum_aestivum_L

28. Lamptey S., Li L., Xie J., Zhang R., Yeboah S., Antille D. L. Photosynthetic Response of Maize to Nitrogen Fertilization in the Semiarid Western Loess Plateau of China. Crop Sci. 2017;57(5):2739-2752. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.12.1021>

29. Wamalwa D. S., Sikuku P. A., Netondo G. W., Khasabulli B. D. Influence of NPK Blended Fertilizer Application on Chlorophyll Content and Tissue Mineral Contents of Two Finger Millet Varieties Grown in Acid Soils of Kakamega, Western Kenya. International Journal of Plant & Soil Science. 2019;27(4):1-9. DOI: <https://doi.org/10.9734/ijpss/2019/v27i430082>

30. Kononov A. S., Shkotova O. N. *Vliyanie form azotnykh udobreniy na sodержanie khlorofilla v odnovidovykh i smeshannykh bobovo-zlakovykh agrotsenozakh*. [The influence of the forms of nitrogen fertilizers on the content of chlorophyll in single-species and mixed legume-cereal agrocenosis]. *Vestnik Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta* = The Bryansk State University Herald. 2012;4-1:103-106. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23478311>

31. Skudra I., Ruza A. Effect of Nitrogen and Sulphur Fertilization on Chlorophyll Content in Winter Wheat. Rural Sustainability Research. 2017;37(332):29-37. DOI: <https://doi.org/10.1515/plua-2017-0004>

Сведения об авторах

Лыскова Ирина Владимировна, кандидат с.-х. наук, ст. научный сотрудник, Фалёнская селекционная станция – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», ул. Тимирязева, д.3, п. Фалёнки, Кировская область, Российская Федерация, 612500, e-mail: fss.nauka@mail.ru, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1079-3513>

✉ **Лисицын Евгений Михайлович**, доктор биол. наук, ведущий научный сотрудник, зав. отделом, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Ленина, д. 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3125-3604>, e-mail: edaphic@mail.ru

Лыскова Татьяна Владимировна, младший научный сотрудник, Фалёнская селекционная станция – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Тимирязева, д. 3, п. Фалёнки, Кировская область, Российская Федерация, 612500, e-mail: fss.nauka@mail.ru, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9580-0021>

Information about the authors

Irina V. Lyskova, PhD in Agricultural science, senior researcher, Falenki Breeding Station – Branch of Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky, Timiryazev str., 3, v. Falenki, Kirov region, Russian Federation, 612500, e-mail: fss.nauka@mail.ru, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1079-3513>

✉ **Evgeniy M. Lisitsyn**, DSc in Biology, leading researcher, Head of the Department, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky, Lenin str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3125-3604>, e-mail: edaphic@mail.ru

Tatiana V. Lyskova, junior researcher, Falenki Breeding Station – Branch of Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Timiryazev str., 3, v. Falenki, Kirov region, Russian Federation, 612500, e-mail: fss.nauka@mail.ru, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9580-0021>

✉ – Для контактов / Corresponding author