

Спектральная оценка жизненного состояния *Quercus*

П.А. Зыбинская¹, А.В. Третьякова², П.А. Крылов³

ФГБНУ «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук», Волгоград, Россия

¹ ORCID: 0000-0002-7493-1110, zybinskaya-pa@vfanc.ru

² ORCID: 0009-0001-4478-4711, tretaykova@vfanc.ru

³ ORCID: 0000-0001-9587-5886, krylov-p@vfanc.ru

Аннотация

Неинвазивные спектральные методы анализа все чаще используются для изучения содержания метаболитов растений, оценки морфофизиологических и биохимических показателей, а также жизненного состояния. Визуализация жизненного состояния через спектральные профили может дать более детальную картину адаптации растений к стрессу. Для моделирования экспериментальной засухи были взяты 5-6 месячные саженцы *Quercus robur* L., которые были поделены на три группы: контрольная и экспериментальные группы с и без полива (засуха), по 15 саженцев в каждой. Спектральная оценка листовых пластинок проводилась с помощью портативного спектрорадиометра SpectraPen SP110 Uvis и анализатора растений Dualex Scientific+ через 0 (контроль), 168 (одна неделя) и 336 (две недели) часов. В результате спектрального анализа были получены спектрограммы поглощения излучения листовых пластинок *Q. robur*, а также содержание суммы хлорофиллов, флавонолов и антоцианов в условиях полива и засухи. В ходе исследования обнаружены изменения в спектрограммах поглощения у листьев *Q. robur*, связанные с содержанием метаболитов. Разница в пиках поглощения между группами становилась более выраженной с течением времени под влиянием засухи. Содержание пигментов в листовых пластинках менялось в течение эксперимента, что свидетельствует об адаптации растения к стрессу. Полученные предварительные результаты могут быть использованы для расширения знаний о способах оценки жизненного состояния древесных растений в полевых условиях.

Ключевые слова: спектральный анализ, листовая пластинка, пигменты, *Quercus robur* L., засуха.

1. Введение

Неинвазивные методы анализа все чаще используются в изучении жизненного состояния растений или содержания различных метаболитов [1-3]. Такие методы позволяют проводить измерения содержания веществ без повреждения или разрушения органов растений, что особенно важно при многократном проведении измерений. Спектральные методы позволяют оценивать различные морфофизиологические и биохимические показатели растений, а также их жизненное состояние без трудоемкой пробоподготовки в полевых и лабораторных условиях в ответ на различные стресс-факторы [4-7].

Однако основной проблемой является то, что часто оцениваются только общеизвестные метаболиты, без учета тех, которые могут быть обнаружены при других длинах волн. Кроме того, часто анализируется содержание целых групп веществ, таких как флавоноиды [8], каротиноиды [9] и т.д. В связи этим визуализация жизненного состо-

яния с помощью спектральных профилей может предоставить более целостную картину адаптации растений к стресс-факторам.

Объектом для пилотного исследования спектральных профилей был выбран дуб черешчатый (*Quercus robur* L.), известный своей высокой устойчивостью к засухе, а также являющийся одним из основных видов древесных растений, используемых для агролесомелиорации и защитного лесоразведения на юге России [10, 11]. В связи с этим проведение спектрального анализа листовой пластики может дать комплексное представление о том, как *Q. robur* реагирует на засуху.

Целью данной работы стало проведение пилотного исследования по оценке спектральных профилей листовой пластинки *Q. robur* в моделируемых условиях засухи.

2. Материалы и методы

Для моделирования экспериментальной засухи использовались саженцы *Q. robur* в возрасте от 5 до 6 месяцев, без признаков фитопатологии. Саженцы были поделены на три группы: контрольная, группа с поливом и группа без полива (засуха), по 15 саженцев в каждой. Спектральная диагностика листьев *Q. robur* проводилась через 0 (контроль), 168 (одна неделя) и 336 (две недели) часов. После измерения спектральных показателей листьев контрольной группы, в помещении, где проводился эксперимент, была установлена температура 30 °С.

Для получения спектральных профилей листовой пластинки исследуемых саженцев *Q. robur* был использован портативный спектрорадиометр SpectraPen SP110 Uvis (Photon Systems Instruments, Чехия), регистрирующий излучение в диапазоне длин волн от 340 нм до 790 нм [12]. Регистрация оптического излучения проводилась с абаксимальной стороны листовой пластинки рядом с центральной жилкой. Эталонным излучением выступал солнечный свет, оптический путь которого пролегал через место регистрации излучения на листовой пластинке. Для экспорта первичных данных спектральных профилей листовых пластинок *Q. robur* использовалась специализированная программа SpectraPen v. 1.1.0.10 (Photon Systems Instruments, Чехия). Полученные данные в формате .scv переводились в формат таблицы Excel (Microsoft, США) и использовались для дальнейшей статистической обработки.

Измерение содержания суммы хлорофиллов, флавонолов и антоцианов (в мкг/см²) в эпидерме листьев проводили с помощью анализатора растений Dualex Scientific+ («Force-A», Франция).

Для построения спектрограмм поглощения излучения была использована формула:

$$A = \log \frac{I_0}{I},$$

где, A – коэффициент оптической плотности, I_0 – эталонная интенсивность излучения, I – измеренная интенсивность излучения.

Количественные данные обрабатывались с помощью программы Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США) [13]. Рассчитывались показатели, принятые для оценки непараметрических выборок в биологических исследованиях: нормальность распределения значений, медиана [1-й квартиль, 3-й квартиль], анализировалась достоверность различий выборок. Для определения различий между двумя независимыми выборками использовали критерий Манна – Уитни при уровне достоверности $p < 0,05$.

3. Результаты и обсуждения

В результате исследования были получены спектрограммы поглощения излучения листовых пластинок *Q. robur* в диапазоне длин волн 340–790 нм в условиях полива и засухи в трех временных промежутках: 0 (контроль), 168 (одна неделя) и 336 (две недели) часов. Спектрограммы поглощения излучения имели два пика: более высокий и узкий пик в диапазоне 415–480 нм, а также более низкий и пологий пик в диапазоне 481–635 нм (рис. 1). Из полученных спектрограмм поглощения излучения видно, что величина пиков поглощения была максимальной у контрольной группы, а у экспери-

ментальных групп уменьшалась. Кроме того, наибольшая разница в значениях поглощения была зафиксирована в диапазонах длин волн вышеупомянутых пиков, а вне этих диапазонов различия были минимальны. Это свидетельствует о том, что воздействие засухи оказывало влияние на способность листьев поглощать свет. В то же время листовые пластинки с течением времени изменялись под воздействием стрессовых факторов (рис. 2А). В данном случае спектрограммы помогают отследить изменения в жизненном состоянии листовых пластинок *Q. robur*.

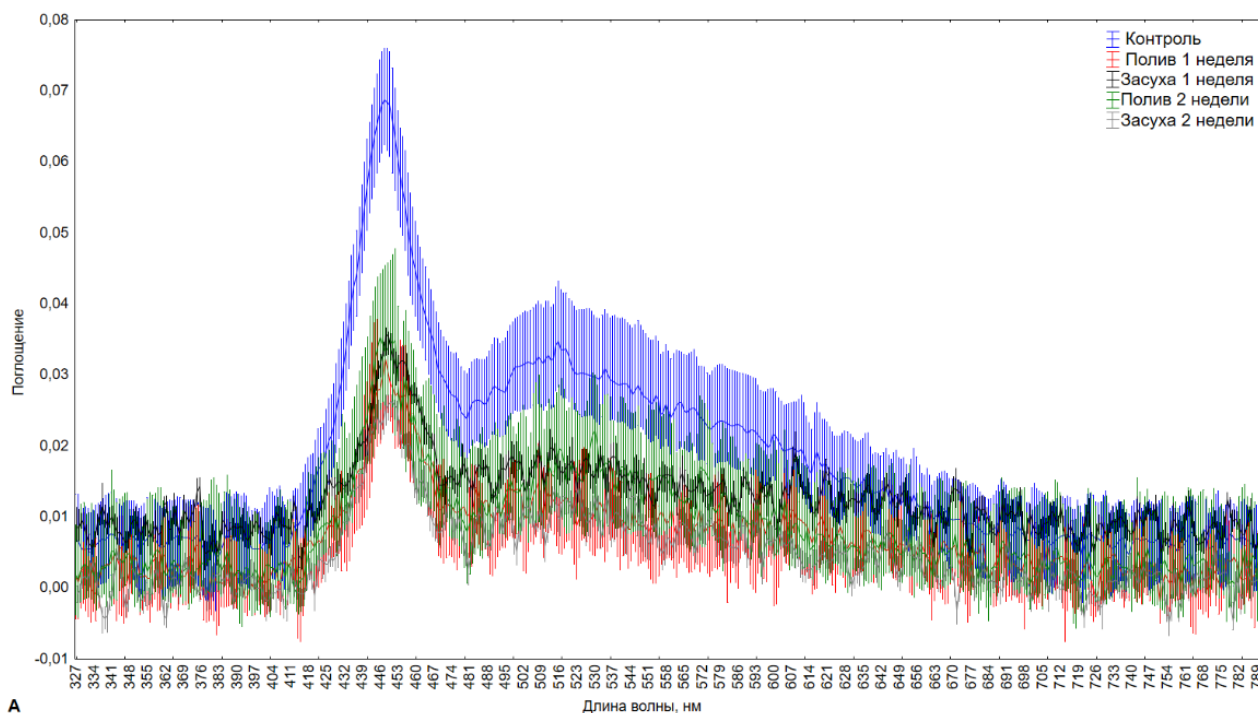


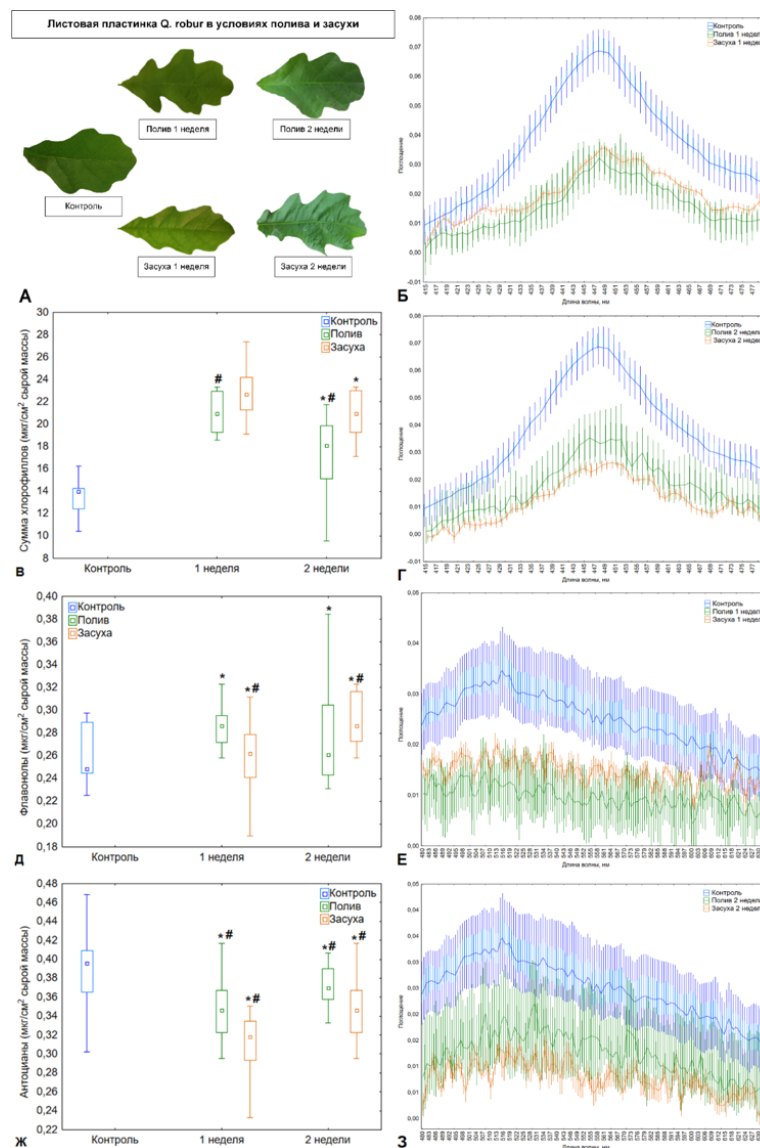
Рис. 1. Спектрограммы поглощения излучения листовых пластинок *Q. robur* в условиях моделируемой засухи

На основе литературных данных можно предположить, что первый пик – это пик хлорофилла и каротиноидов [14-16]. Второй пологий пик могут формировать антоцианы [17, 18]. Пик флавонолов не наблюдается. Это может быть связано с тем, что устройство фиксирует значения не на всех длинах волн для флавонолов [19], а также, что пик флавонолов небольшой сам по себе и его могли перекрывать пики других метаболитов. В дальнейшем для исследования состояния листовой пластинки (рис. 2А) и её связи со спектральным профилем поглощения излучения (рис. 2Б, 2Г, 2Е, 2З) были взяты спектры на длинах волн 415-480 нм и 481 – 635 нм.

Листовые пластинки *Q. robur* оценивали визуально. Спустя одну и две недели после начала эксперимента было зафиксировано, что листовые пластинки из группы полива не сильно отличаются от контрольной группы. В то же время листовые пластинки из группы засухи имели явные признаки увядания.

На рисунках 2Б и 2Г видно, что присутствует значительная разница в пиках поглощения (в 2,5-3 раза) между контрольной и экспериментальной группами в диапазонах 415-480 нм. Спустя две недели после начала эксперимента в значениях спектров прослеживается более чёткая разница в поглощении (в 1,5 раза) между группой, которую поливали, и группой, подверженной засухе.

На рисунках 2Е и 2З в диапазоне 481-635 нм также прослеживаются достоверные различия между группами. По сравнению с пиком контроля поглощение меньше в 2-3 раза у экспериментальных групп, причём на рассматриваемых графиках первой недели поглощение немного больше у экспериментальной группы засухи, чем у полива, но спустя две недели ситуация меняется.



Примечания: * - статистически значимые различия между разными экспериментальными группами внутри одного временного промежутка ($p < 0,05$); # - статистически значимые различия между одноименными экспериментальными группами на разных временных промежутках ($p < 0,05$)

Рис. 2. Жизненное состояние, содержание пигментов и спектрограммы поглощения излучения листовых пластинок *Q. robur* в условиях моделируемой засухи: А – состояние листовых пластинок *Q. robur*; Б – первый пик спектрограмм поглощения излучения через одну неделю эксперимента; В – сравнение содержания суммы хлорофиллов в листовых пластинках; Г – первый пик спектрограмм поглощения излучения через две недели эксперимента; Д – сравнение содержания флавонолов в листовых пластинках; Е – второй пик спектрограмм поглощения излучения через одну неделю эксперимента; Ж – сравнение содержания антоцианов в листовых пластинках; З – второй пик спектрограмм поглощения излучения через две недели эксперимента

Статистически незначимые различия имеют графики полива и засухи первой недели на следующих длинах волн: 416, 435, 436, 439-445, 452 и 470 нм. Также недостоверны различия между контролем и засухой на второй неделе при длине волн 434-435, 472-473 и 476-477 нм. На рисунках 2Е, 3 значимых статистических отличий не обнаружено между засухой и поливом первой недели на длине волны 517 нм и 593 нм, между контролем и засухой – 607, 608 нм. На второй неделе между поливом и засухой $p > 0,05$

при длине волн 483-485, 504, 513-514, 544, 587, 592-593, 597, 602, 605-606, 615, 619, 621-622, 624, 627-628 и 634 нм.

На рисунках 2В, 2Д и 2Ж представлены диаграммы суммы хлорофилла, содержание флавонолов и антоцианов соответственно. В контрольной группе содержание хлорофилла составляло 14 мкг/см², спустя одну неделю содержание хлорофилла возросло в экспериментальных группах в 1,5-2 раза, причём в группе с моделируемой засухой уровень хлорофилла был больше по сравнению с поливом. Спустя еще одну неделю содержание хлорофилла в экспериментальных группах немного уменьшилось по сравнению с предыдущей неделей (18 мкг/см² и 21 мкг/см² у полива и засухи соответственно). В группе, подвергшейся засухе, уровень хлорофилла был немного выше, чем в группе, которую поливали. Предположительно, растения стали вырабатывать больше хлорофилла в ответ на стресс. Одной из возможных причина такого повышения может быть ответная реакция на стресс, реализуемая за счет увеличения выработки хлорофилла на определенное время, что позволяет поддерживать уровень фотосинтеза и обеспечить выживание [20, 21].

Известно, что при различном стрессе содержание флавонолов может изменяться [22], в том числе увеличиваться под воздействием засухи [23-25]. По сравнению с контролем содержание флавонолов в экспериментальных группах немного повысилось ($p < 0,05$). Содержание антоцианов снизилось примерно в 1,5-2 раза, причём у группы засухи содержание антоцианов ниже, чем у группы полива. Спустя две недели содержание антоцианов увеличилось по сравнению с первой неделей. Предположительно, это связано с адаптацией растения к стрессу, в данном случае, с повышением уровня антоцианов.

Статистические значимые различия в содержании суммы хлорофиллов были обнаружены между первой неделей полива и второй неделей полива, а также между второй неделей полива и второй неделей засухи ($p < 0,05$) (рис. 2В). Разница в содержании флавонолов достоверна для всех групп ($p < 0,05$), за исключением значений между группами с поливом на первой и второй неделе (рис. 2Д). На графике, отражающем содержание антоцианов, значения между различными группами засухи и полива достоверны ($p < 0,05$). Статистически незначимые различия с контрольной группой обнаружены только между содержанием флавонолов первой недели засухи и второй недели полива.

Таким образом, изменения содержания пигментов, обусловленные адаптацией саженцев *Q. robur* к стрессу, привели к изменениям в спектрограммах соответствующих пигментов. Однако из-за использования неконтролируемого источника излучения полученные спектрограммы могут отличаться от эталонных спектрограмм соответствующих пигментов, полученных с помощью инвазивных методов [26]. В соответствии с законом Бугера – Ламберта – Бера полученные спектрограммы оптической плотности являются суммой поглощения излучения не только пигментами, но и иными метаболитами и химическими веществами, входящими в состав листовой пластинки, а также результатом рассеяния солнечного излучения растительной тканью листовой пластинки. На спектр поглощения хлорофилла, как и других веществ, могут влиять такие факторы окружающей среды, как pH, температура, присутствие других молекул, изменение структуры хлорофилла из-за стрессовых воздействий и другие [27, 28]. Возможно, из-за воздействия данных факторов произошло смещение пика поглощения в синюю область и уменьшение пика в красной области.

В ходе моделирования экспериментальной засухи у *Q. robur* были зафиксированы изменения в спектрограммах поглощения излучения листовых пластинок и в количественном содержании пигментов, что может быть связано с влиянием недостатка воды на физиологические процессы растений. Наблюдаемые различия в спектрограммах указывают на изменения в содержании пигментов и других метаболитов, а также изменения структурных особенностей листа, вызванные засухой.

Предполагается, что первый пик на спектрограмме соответствует пику хлорофилла и каротиноидов, а появление второго пологого пика свидетельствует о наличии антоцианов, в то время как пик флавонолов не наблюдался. Зафиксирована разница в пиках поглощения между контрольной и экспериментальными группами в диапазонах длин волн 415-480 нм и 481-635 нм. На первой неделе поглощение было немного выше у группы засухи по сравнению с группой полива. Через две недели после начала эксперимента различия в поглощении между группами стали более отчетливыми: по сравнению с контролем пик экспериментальных групп меньше в 2-3 раза.

Известно, что при воздействии стрессовых факторов, таких как засуха, растения начинают производить больше хлорофилла и других веществ, чтобы повысить уровень фотосинтеза и обеспечить выживаемость. В экспериментальных группах отмечалось повышение содержания хлорофилла. Хлорофилл в контрольной группе составлял 14 мкг/см², через неделю в экспериментальных группах его содержание увеличилось в 1,5-2 раза, а затем незначительно снизилось к следующей неделе (18 мкг/см² у группы с поливом и 21 мкг/см² у группы засуха). В экспериментальных группах наблюдается незначительное увеличение содержания флавонолов по сравнению с контрольной группой. В большинстве своём значения пиков поглощения имеют статистические значимые различия ($p < 0,05$). В то же время, у всех экспериментальных групп уровень антоцианов уменьшился примерно в 1,5-2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Самым низким оказался уровень антоцианов в группе, подвергнутой засухе в сравнении с группой, получавшей полив через одну неделю эксперимента. Однако на второй неделе уровень антоцианов увеличился, что может свидетельствовать об адаптации растений к стрессу и восстановлении уровня производства антоцианов.

4. Заключение

В ходе проведения пилотного исследования обнаружено, что изменения в спектрограммах поглощения излучения у листовых пластинок *Q. robur* связаны с возможным изменением содержания широкого спектра метаболитов, таких как хлорофилл, каротиноиды и антоцианы. Было выявлено, что разница в пиках поглощения между контрольной и экспериментальными группами становилась более выраженной с течением времени, указывая на влияние условий засухи. Спектрограммы поглощения излучения показали, что контрольная группа демонстрировала максимальную способность листьев к поглощению излучения, в то время как у экспериментальных групп, подвергшихся засухе, наблюдалось снижение в поглощении. Одновременно с этим листовые пластинки *Q. robur* претерпевали морфологические изменения под воздействием стресса.

Также из результатов исследования можно сделать вывод, что воздействие стрессовых факторов, таких как засуха, способствует увеличению содержания хлорофилла в растениях, что повышает уровень фотосинтеза и способствует их выживаемости. Содержание флавонолов увеличивается незначительно, что может быть связано с отсутствием фитопатологий. В то же время, уровень антоцианов уменьшается в условиях стресса, однако с течением времени происходит их восстановление, что свидетельствует об адаптации растений к стрессовым условиям.

Таким образом, спектрограммы позволяют отслеживать изменения в жизнеспособности листьев, наиболее заметные в диапазоне, соответствующем пикам поглощения на полученных спектрограммах. Необходимы дальнейшие исследования по изучению спектральных профилей и их связи с адаптацией растений в ответ на стрессовые факторы, в частности, засуху. Полученные предварительные результаты могут быть в перспективе использованы для разработки методов оценки жизненного состояния, физиолого-биохимических показателей и расчетных индексов древесных растений в полевых условиях.

Благодарности

Работа проведена при финансовой поддержке в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FNFE-2025-0013 «Управление экспрессий генов, вовлеченных в процесс адаптации к неблагоприятным факторам внешней среды, для улучшения хозяйственно-ценных признаков древесно-кустарниковых и культурных растений, используемых в агролесомелиорации».

Список литературы

1. Dinish U.S., Teng M.T.J., Xinhui V.T., Dev K., [et al.]. Miniaturized Vis–NIR handheld spectrometer for non-invasive pigment quantification in agritech applications // *Scientific Reports*, 2023, Vol. 13, № 1, P. 9524.
2. Sachet M.R., Citadin, I., Guerrezi M.T., Pertille R.H., [et al.]. Non-destructive measurement of leaf area and leaf pigments in feijoa trees // *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 2019, Vol. 23, P. 16-20.
3. Barnes M., Sulé-Suso J., Millett J., Roach P. Fourier transform infrared spectroscopy as a non-destructive method for analysing herbarium specimens // *Biology Letters*, 2023, Vol. 19, № 3, P. 20220546.
4. Dudek G., Strzelewicz A., Krasowska M., Rybak A., [et al.]. A spectrophotometric method for plant pigments determination and herbs classification // *Chemical Papers*, 2014, Vol. 68, № 5, P. 579-583.
5. Bagheri N., Mohamadi-Monavar H. Early detection of fire blight disease of pome fruit trees using visible-NIR spectrometry and dimensionality reduction methods // *Journal of Agricultural Machinery*, 2020, Vol. 10, № 1, P. 37-48.
6. Сироткин В.В., Васюков С.В., Усманов Б.М. Изучение почвенных параметров на основе полевых спектрометрических данных // *Вестник Удмуртского университета. Серия: Биология. Науки о Земле*, 2020, Том 30, № 1, С. 71-82.
7. Aline U., Bhattacharya T., Faqeerzada M.A., Kim M.S., [et al.]. Advancement of non-destructive spectral measurements for the quality of major tropical fruits and vegetables: a review // *Frontiers in Plant Science*, 2023, Vol. 14, P. 1240361.
8. Haruna S.A., Li H., Wei W., Geng W., [et al.]. Simultaneous quantification of total flavonoids and phenolic content in raw peanut seeds via NIR spectroscopy coupled with integrated algorithms // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2023, Vol. 285, P. 121854.
9. Zur Y., Gitelson A.A., Chivkunova O.B., Merzlyak M.N. The spectral contribution of carotenoids to light absorption and reflectance in green leaves // *Proceedings of the 2nd International Conference Geospatial Information in Agriculture and Forestry*, 2000, Vol. 2, P. 1-7.
10. Крючков С.Н., Иозус А.П., Морозова Е.В. Семеноводство дуба черешчатого в степной зоне Нижнего Поволжья // *Современные проблемы науки и образования*, 2015, № 6, С. 569-569.
11. Мартынюк А.А., Турчин Т.Я., Корнеев А.Б. Изученность государственных защитных лесных полос европейской части российской федерации: аналитический обзор // *Лесохозяйственная информация*, 2023, № 3, С. 55-76.
12. Mishra K.B., Vitek P., Barták M. A correlative approach, combining chlorophyll a fluorescence, reflectance, and Raman spectroscopy, for monitoring hydration induced changes in Antarctic lichen *Dermatocarpon polyphyllizum* // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, T. 208, С. 13-23.
13. Гржибовский А.М., Иванов С.В., Горбатова М.А. Сравнение количественных данных двух независимых выборок с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS: параметрические и непараметрические критерии // *Наука и здравоохранение*, 2016, № 2, С. 5-28.
14. Burchard P., Bilger W., Weissenböck G. Contribution of hydroxycinnamates and flavonoids to epidermal shielding of UV-A and UV-B radiation in developing rye primary leaves as

assessed by ultraviolet-induced chlorophyll fluorescence measurements // *Plant, Cell & Environment*, 2000, Vol. 23, № 12, P. 1373-1380.

15. Croce R., Cinque G., Holzwarth A.R., Bassi R. The Soret absorption properties of carotenoids and chlorophylls in antenna complexes of higher plants // *Photosynthesis Research*, 2000, Vol. 64, P. 221-231.

16. Lichtenthaler H.K., Buschmann C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS Spectroscopy // *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001, Vol. 1, № 1, P. F4.3.1-F4.3.8.

17. Голубев Д.А., Пунегов В.В., Шапошников М.В., Москалев А.А. Оценка содержания антоцианов в различных ягодах и их потенциальная геропротекторная активность // *Вестник Сыктывкарского университета. Серия 2. Биология. Геология. Химия. Экология*, 2019, № 11, С. 73-79.

18. Supradip S., Jashbir S., Anindita P., Rohan S., [et al.]. Anthocyanin Profiling Using UV-Vis Spectroscopy and Liquid Chromatography Mass Spectrometry // *Journal of AOAC International*, 2020, Vol. 103, № 1, P. 23-39.

19. Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B. The Ultraviolet Spectra of Flavones and Flavonols. In: *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2016.

20. Heidari A., Bandehagh A., Toorchi M. Effects of NaCl stress on chlorophyll content and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines // *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 2014, Vol. 24, № 2, P. 111-120.

21. Agathokleous E., Feng Z.Z., Peñuelas J. Chlorophyll hormesis: are chlorophylls major components of stress biology in higher plants? // *Science of the Total Environment*, 2020, Vol. 726, P. 138637.

22. Agati G., Stefano G., Biricolti S., Tattini M. Mesophyll distribution of antioxidant flavonoids in *Ligustrum vulgare* leaves under contrasting sunlight irradiance // *Annals of Botany*, 2009, Vol. 104, № 5, P. 853-861.

23. Diethelm A.C., Reichelt M., Dilts T.E., Farlin J.P., [et al.]. Climatic history, constraints, and the plasticity of phytochemical traits under water stress // *Ecosphere*, 2022, Vol. 13, № 8, P. e4167.

24. Hodaie M., Rahimmalek M., Arzani A., Talebi M. The effect of water stress on phytochemical accumulation, bioactive compounds and expression of key genes involved in flavonoid biosynthesis in *Chrysanthemum morifolium* L. // *Industrial Crops and Products*, 2018, Vol. 120, P. 295-304.

25. Rao M.J., Xu Y., Tang X., Huang Y., [et al.]. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 gene, is involved in accumulation of antioxidant flavonoids and induces drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* // *Antioxidants*, 2020, Vol. 9, № 2, P. 161.

26. Solovchenko A.E., Chivkunova O.B., Merzlyak M.N., Reshetnikova, I.V. A spectrophotometric analysis of pigments in apples // *Russian Journal of Plant Physiology*, 2001, Vol. 48, P. 693-700.

27. Batra N.G., Sharma V., Kumari N. Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and thylakoid membrane proteins of *Vigna radiata* // *Journal of Plant Interactions*, 2014, Vol. 9, № 1, P. 712-721.

28. Ni Z., Liu Z., Huo H., Li Z.L. Early water stress detection using leaf-level measurements of chlorophyll fluorescence and temperature data // *Remote Sensing*, 2015, Vol. 7, № 3, P. 3232-3249.

Spectral Evaluation of the Vital State of *Quercus Robur* L. Under Simulated Drought Conditions

P.A. Zybinskaya¹, A.V. Tretyakova², P.A. Krylov³

Federal State Budget Scientific Institution «Federal Scientific Centre of Agroecology,
Complex Melioration and Protective Afforestation of the Russian Academy of Sciences»,
Volgograd, Russia

¹ ORCID: 0000-0002-7493-1110, zybinskaya-pa@vfanc.ru

² ORCID: 0009-0001-4478-4711, tretaykova@vfanc.ru

³ ORCID: 0000-0001-9587-5886, krylov-p@vfanc.ru

Abstract

Non-destructive spectral methods of analysis are increasingly being used to study the content of plant metabolites, evaluate morpho-physiological and biochemical indicators, as well as evaluation of the vital state. Visualization of the vital state through spectral profiles can provide a more detailed picture of plant adaptation to stress. To model experimental drought, 5-6 month-old *Quercus robur* L. seedlings were divided into three groups: control and experimental groups with and without watering (drought), with 15 seedlings in each group. Spectral evaluation of leaf blades was performed using a portable spectroradiometer SpectraPen SP110 Uvis and a plant analyzer Dualex Scientific+ at 0 (control), 168 (one week), and 336 (two weeks) hours. As a result of spectral analysis, spectrograms of radiation absorption of *Q. robur* leaf blades were obtained, as well as the content of the sum of chlorophylls, flavonols and anthocyanins under watering and drought conditions. The study revealed changes in the spectrograms of absorption of *Q. robur* leaves related to the content of metabolites. The difference in absorption peaks between the groups became more expressed over time under the influence of drought. The pigment content in the leaf blades varied during the experiment, which indicates plant adaptation to stress. Preliminary results of the study can be used to expand knowledge about ways to evaluate the vital state of woody plants in the field.

Keywords: spectral analysis, leaf blade, pigments, *Quercus robur* L., drought.

References

1. Dinish U.S., Teng M.T.J., Xinhui V.T., Dev K., [et al.]. Miniaturized Vis–NIR handheld spectrometer for non-invasive pigment quantification in agritech applications // Scientific Reports, 2023, Vol. 13, № 1, P. 9524.
2. Sachet M.R., Citadin, I., Guerrezi M.T., Pertille R.H., [et al.]. Non-destructive measurement of leaf area and leaf pigments in feijoa trees // Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 2019, Vol. 23, P. 16-20.
3. Barnes M., Sulé-Suso J., Millett J., Roach P. Fourier transform infrared spectroscopy as a non-destructive method for analysing herbarium specimens // Biology Letters, 2023, Vol. 19, № 3, P. 20220546.
4. Dudek G., Strzelewicz A., Krasowska M., Rybak A., [et al.]. A spectrophotometric method for plant pigments determination and herbs classification // Chemical Papers, 2014, Vol. 68, № 5, P. 579-583.
5. Bagheri N., Mohamadi-Monavar H. Early detection of fire blight disease of pome fruit trees using visible-NIR spectrometry and dimensionality reduction methods // Journal of Agricultural Machinery, 2020, Vol. 10, № 1, P. 37-48.

6. Sirotkin V.V., Vasyukov S.V., Usmanov B.M. Study of soil parameters based on field spectrometric data // *Bulletin of the Udmurt University. Series: Biology. Earth Sciences*, 2020, Vol. 30, № 1, P. 71-82.
7. Aline U., Bhattacharya T., Faqeerzada M.A., Kim M.S., [et al.]. Advancement of non-destructive spectral measurements for the quality of major tropical fruits and vegetables: a review // *Frontiers in Plant Science*, 2023, Vol. 14, P. 1240361.
8. Haruna S.A., Li H., Wei W., Geng W., [et al.]. Simultaneous quantification of total flavonoids and phenolic content in raw peanut seeds via NIR spectroscopy coupled with integrated algorithms // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2023, Vol. 285, P. 121854.
9. Zur Y., Gitelson A.A., Chivkunova O.B., Merzlyak M.N. The spectral contribution of carotenoids to light absorption and reflectance in green leaves // *Proceedings of the 2nd International Conference Geospatial Information in Agriculture and Forestry*, 2000, Vol. 2, P. 1-7.
10. Kryuchkov S.N., Iozus A.P., Morozova E.V. Seed production of english oak in the steppe zone of the lower Volga region // *Modern problems of science and education*, 2015, № 6, P. 569-569.
11. Martynyuk A.A., Turchin T.Y., Korneev A.B. The study of state protective forest strips of the European part of the Russian Rederation: analytical review // *Forestry information*, 2023, № 3, P. 55-76.
12. Mishra K.B., Vitek P., Barták M. A correlative approach, combining chlorophyll a fluorescence, reflectance, and Raman spectroscopy, for monitoring hydration induced changes in Antarctic lichen *Dermatocarpon polyphyllizum* // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, T. 208, C. 13-23.
13. Grijbovski A.M., Ivanov S.V., Gorbatova M.A. Analysis of quantitative data in two independent samples using Statistica and SPSS software: parametric and non-parametric tests // *Science & Healthcare*, 2016, № 2, P. 5-28.
14. Burchard P., Bilger W., Weissenböck G. Contribution of hydroxycinnamates and flavonoids to epidermal shielding of UV-A and UV-B radiation in developing rye primary leaves as assessed by ultraviolet-induced chlorophyll fluorescence measurements // *Plant, Cell & Environment*, 2000, Vol. 23, № 12, P. 1373-1380.
15. Croce R., Cinque G., Holzwarth A.R., Bassi R. The Soret absorption properties of carotenoids and chlorophylls in antenna complexes of higher plants // *Photosynthesis Research*, 2000, Vol. 64, P. 221-231.
16. Lichtenthaler H.K., Buschmann C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS Spectroscopy // *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001, Vol. 1, № 1, P. F4.3.1-F4.3.8.
17. Golubev D.A., Punegov V.V., Shaposhnikov M.V., Moskalev A.A. Evaluation of the anthocyanin content in various berries and their potential geroprotective activity // *Vestnik of Syktyvkar State University. Series 2: Biology. Geology. Chemistry. Ecology*, 2019, № 11, P. 73-79.
18. Supradip S., Jashbir S., Anindita P., Rohan S., [et al.]. Anthocyanin Profiling Using UV-Vis Spectroscopy and Liquid Chromatography Mass Spectrometry // *Journal of AOAC International*, 2020, Vol. 103, № 1, P. 23-39.
19. Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B. The Ultraviolet Spectra of Flavones and Flavonols. In: *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2016.
20. Heidari A., Bandehagh A., Toorchi M. Effects of NaCl stress on chlorophyll content and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines // *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 2014, Vol. 24, № 2, P. 111-120.
21. Agathokleous E., Feng Z.Z., Peñuelas J. Chlorophyll hormesis: are chlorophylls major components of stress biology in higher plants? // *Science of the Total Environment*, 2020, Vol. 726, P. 138637.

22. Agati G., Stefano G., Biricolti S., Tattini M. Mesophyll distribution of antioxidant flavonoids in *Ligustrum vulgare* leaves under contrasting sunlight irradiance // *Annals of Botany*, 2009, Vol. 104, № 5, P. 853-861.
23. Diethelm A.C., Reichelt M., Dilts T.E., Farlin J.P., [et al.]. Climatic history, constraints, and the plasticity of phytochemical traits under water stress // *Ecosphere*, 2022, Vol. 13, № 8, P. e4167.
24. Hodaiei M., Rahimmalek M., Arzani A., Talebi M. The effect of water stress on phytochemical accumulation, bioactive compounds and expression of key genes involved in flavonoid biosynthesis in *Chrysanthemum morifolium* L. // *Industrial Crops and Products*, 2018, Vol. 120, P. 295-304.
25. Rao M.J., Xu Y., Tang X., Huang Y., [et al.]. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 gene, is involved in accumulation of antioxidant flavonoids and induces drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* // *Antioxidants*, 2020, Vol. 9, № 2, P. 161.
26. Solovchenko A.E., Chivkunova O.B., Merzlyak M.N., Reshetnikova, I.V. A spectrophotometric analysis of pigments in apples // *Russian Journal of Plant Physiology*, 2001, Vol. 48, P. 693-700.
27. Batra N.G., Sharma V., Kumari N. Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and thylakoid membrane proteins of *Vigna radiata* // *Journal of Plant Interactions*, 2014, Vol. 9, № 1, P. 712-721.
28. Ni Z., Liu Z., Huo H., Li Z.L. Early water stress detection using leaf-level measurements of chlorophyll fluorescence and temperature data // *Remote Sensing*, 2015, Vol. 7, № 3, P. 3232-3249.