

УДК 581.132:633.15:631.84

**ОЦІНКА ФОТОСИНТЕТИЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ РОСЛИН КУКУРУДЗИ З
ВИКОРИСТАННЯМ ПОРТАТИВНОГО ПРИЛАДУ ФЛОРАТЕСТ ЗА
РІЗНИХ РІВНІВ АЗОТНОГО ЖИВЛЕННЯ**

І.В. ЛОГІНОВА, кандидат сільськогосподарських наук

Є.В САРАХАН., кандидат сільськогосподарських наук

Р.В. СОНЬКО

М.Ф. СТАРОДУБ, доктор біологічних наук

В.О. РОМАНОВ, доктор технічних наук

Наведено результати випробування портативного флуорометра вітчизняного виробництва Флоратест на посівах кукурудзи для оцінки можливості його використання для діагностики азотного живлення рослин. Отримані дані свідчать про існування тісної зворотної залежності між індикаторним показником впливу екзогенних факторів (функція $(F_m - F_o)/F_m$) і вмістом азоту в індикаторному листку кукурудзи (коефіцієнт кореляції (r) у фазу 4-5 листків становив 0,82, 9-10 листків – 0,58) та врожайністю зерна (відповідно 0,76 і 0,83). Отже, використання приладу Флоратест для індикації умов живлення рослин кукурудзи є перспективним і потребує проведення детальніших досліджень.

Ключові слова: флуорометр, Флоратест, кукурудза, азотні добрива

Давно відомо, що досягнути високих урожаїв усіх сільськогосподарських культур, і кукурудзи зокрема, можливо лише за дотримання вимог сучасних технологій їх вирощування. Ефективність технологій залежить від того, наскільки вони здатні врахувати вимоги культури за змінних умов. Тому необхідною складовою стає постійний контроль за станом рослин у посівах протягом вегетації, що можливе за використання різних методів діагностики [4].

Сучасний ринок пропонує цілий ряд методик і приладів для діагностики живлення рослин. Проте легкість їх використання часто поєднується зі

складністю інтерпретації отриманих результатів, що зумовлює прагнення вчених до детальнішого вивченні ефективності їх запровадження.

Внаслідок біологічних особливостей кукурудза дуже вимоглива до умов мінерального живлення, особливо до забезпечення азотом, який має надходити в рослину протягом усього періоду вегетації, тому його внесення потребує продуманого адміністрування.

Фотосинтез є одним із процесів у рослині, який дуже чутливий до змін умов існування, а азотові у ньому належить одна з головних функцій. Саме тому найбільше застосовуються прилади, які дозволяють оцінити азотний статус рослин, використовуючи *опосередковані* дані фотосинтетичної діяльності листка. На цьому базуються методи використання спектральних характеристик листка (N-Tester, N-Sensor, цифрові фотокамери, дистанційні методи зондування тощо). Розроблений Інститутом кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України портативний прилад Флоратест вирізняється серед інших тим, що дозволяє провести *прямий* аналіз фотосинтетичної діяльності листка. Робота приладу базується на властивості хлорофілу випромінювати (флуоресціювати) надлишки поглинутого світла залежно від порушень окремих ланок фотосинтезу, спричинених різними впливами на рослини [6].

Метою нашого дослідження було випробування приладу Флоратест у посівах кукурудзи для оцінки можливості його використання для діагностики азотного живлення рослин.

Матеріали і методика досліджень. Дослідження було проведене в польовому досліді кафедри агрохімії та якості продукції рослинництва імені О.І. Душечкіна Національного університету біоресурсів і природокористування України (с. Пшеничне, Васильківський р-н, Київська обл.) у 2012 році. Гібрид кукурудзи Дельфін F1 висівали на зерно у першій декаді травня у зерно-буряковій сівозміні після буряків цукрових.

Ґрунт дослідної ділянки – лучно-чорноземний карбонатний легкосуглинковий на лесовидному суглинку, орний шар якого характеризується

слабко лужною реакцією ґрунтового розчину (рН 8,0), середнім вмістом гумусу (3,94%), сполук азоту, що легко гідролізують (72,8 мг/кг) та рухомого фосфору (26,3 мг/кг) і низьким – обмінного калію (90,2 мг/кг).

Мікропольовий дослід (площа облікової ділянки 30 м² за 4-разової повторності) проводили за такою схемою: 1. Без добрив (контроль); 2. P₉₀K₉₀ (фон); 3. Фон + N₆₀; 4. Фон + N₁₂₀; 5. Фон + N₁₂₀ + N₆₀ (кореневе підживлення у фазу 5-6 листків); 6. Фон + N₁₈₀; 7. Фон + N₂₄₀; 8. Фон + N₃₆₀. Доза добрив N₁₂₀P₉₀K₉₀ (яку прийнято за «одинарну») є рекомендованою для цих умов.

Вимірювання приладами Флоратест та N-Tester здійснювали на наймолодшому повністю сформованому листку у фазах 4–5 листків і 9–10 листків кукурудзи. Одночасно визначали вміст нітратного азоту в орному шарі ґрунті (0–25 см) іонометричним методом (ДСТУ 4729:2007), а в індикаторному листку та у всій рослині – вміст азоту після мокрого озолення за Гінзбург з реактивом Несслера. Облік урожайності здійснювали поділянково у фазі повної стиглості зерна.

Портативний однопроменевий флуорометр Флоратест, розроблений науково-інженерним центром мікроелектроніки Інституту кібернетики імені В.М. Глушкова (автори А. Снегур і В.Корсунський), є єдиним приладом для визначення індукції флуоресценції хлорофілу, який серійно випускається в Україні [6].

Прилад N-Tester, або хлорофіл-метр, розроблений компанією «Yara» для визначення необхідності підживлення рослин азотом, принцип його роботи полягає в оцінці вмісту хлорофілу (інтенсивності зеленого забарвлення листка) за рахунок вимірювання різниці між поглинанням світла за довжини хвилі 650 нм, що відповідає максимальній абсорбції хлорофілами а і b, і 940 нм, що відповідає інфрачервоному спектру, в якому спектри хлорофілу не проходять [11].

Результати дослідження. Для аналізу впливу азотних добрив на показники фотосинтетичної діяльності листка для кожного з варіантів досліду

нами були побудовані та проаналізовані часові залежності інтенсивності флуоресценції хлорофілу (ІФХ), або крива Каутського.

Залежно від стану фотосинтетичного апарату інтенсивність флуоресценції хлорофілу *in vivo* може змінюватися у широкому діапазоні, що спостерігається при опромінюванні попередньо адаптованого до темряви листка рослини, при цьому інтенсивність флуоресценції спочатку різко зростає, потім поступово знижується. Цей ефект вперше був виявлений і досліджений Каутським і тому отримав назву «ефект Каутського», або ефект «індукції флуоресценції хлорофілу». Залежність інтенсивності флуоресценції хлорофілу від часу після початку опромінювання відома як індукційна крива чи крива індукції флуоресценції хлорофілу. Форма цієї кривої досить чутлива до змін, які відбуваються у фотосинтетичному апараті рослин при адаптації його до різних умов навколишнього середовища, що стало основою широкого використання ефекту Каутського в дослідженні фотосинтезу рослин і оцінки їх стану під впливом стресових факторів.

На рис. 1 наведена типова крива індукції флуоресценції хлорофілу (крива Каутського).

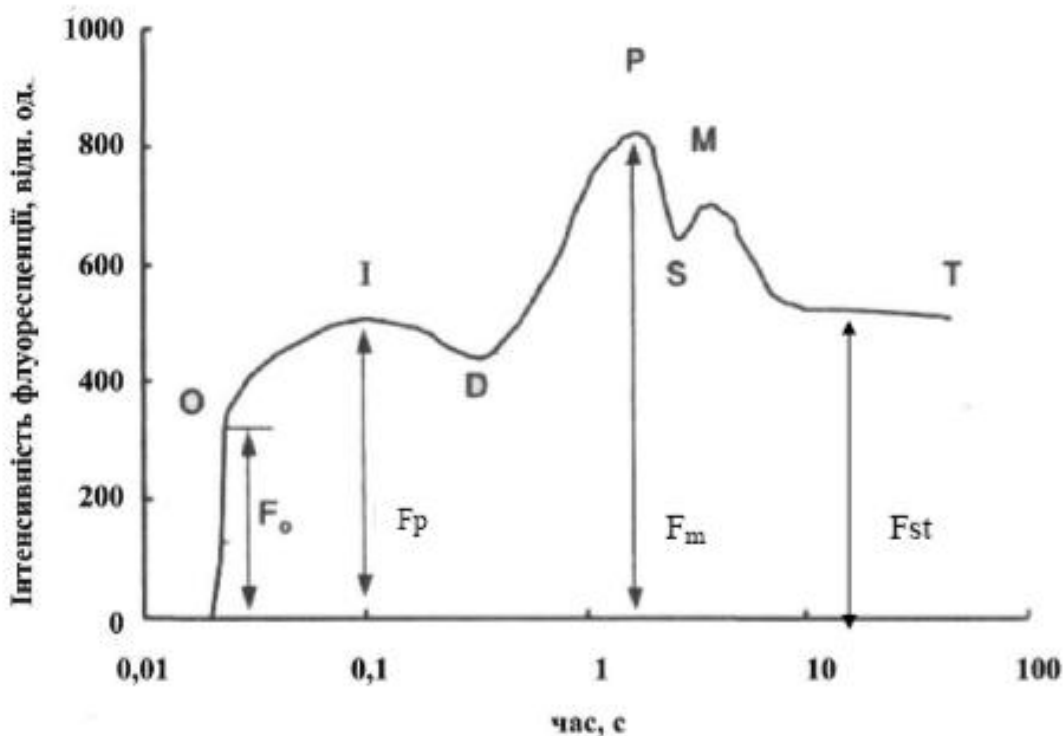


Рис. 1. Типова крива індукції флуоресценції хлорофілу [5]

Відомо, що певні відрізки кривої індукції флуоресценції хлорофілу є індикаторами відповідних фізіологічних процесів у ланцюгу фотосинтезу і порушення окремих ланок фотосинтезу проявляються у змінах характеристик кривої [5].

В основі методу індукції флуоресценції хлорофілу лежать фотохімічні процеси, які відбуваються у листках рослини. Квантова енергія, яку отримує листок рослини під час опромінювання, перетворюється на фотохімічну реакцію (основну реакцію фотосинтезу) та супутні теплову дисипацію і флуоресценцію, які конкурентні до фотосинтезу. Прямих експресних методів оцінки процесу фотосинтезу не існує, але аналіз конкурентного до фотосинтезу процесу, яким є флуоресценція, дає змогу проводити експрес-діагностику фотосинтетичного апарату рослин [3].

Використання вказаних характеристик важливе, перш за все, під час підбору і виведення стійкіших та продуктивніших сортів, при використанні агротехнічних заходів, що сприяють підвищенню стійкості рослин проти стресових факторів, або послаблюють дію несприятливих факторів. У цих умовах важливе місце належить методам оцінки фізіологічного стану рослин у реальному часі, їх стійкості проти нестачі вологи чи високих температур для вибору оптимального засобу протистояння фактору впливу. Метод оцінки інтенсивності флуоресценції хлорофілу рослин дає об'єктивну експресну інформацію про функціонування фотосинтетичного апарату досліджуваної рослини при зміні умов [9,10].

Варто відзначити, що для наших дослідів були використані повністю сформовані листки рослин кукурудзи. Визначення спектральних характеристик флуоресценції листка проводилися з його поверхні неінвазійно без порушення цілісності органу безпосередньо за вирощування рослин у польових умовах. Це дозволило здійснити вивчення пластидних і вакуолярних пігментів в їх природному стані і уточнити розвиток біофізичних і фізіолого-біохімічних процесів, які відбуваються в живому листку, що визначають важливі аспекти

фотосинтетичної діяльності. Інтенсивність флуоресценції зразка визначали у відносних одиницях.

Дослідженнями вчених з'ясовано, що несприятливі умови живлення рослин призводять до функціональних змін пігментного комплексу листя, які за своєю дією подібні до хлорозу. Цим зумовлене погіршення загального фізіологічного стану рослин і, як наслідок, зниження врожаю. Незважаючи на вивченість розглянутих взаємозв'язків, на нашу думку, важливо з'ясувати структурно-функціональні зміни пластидного апарату, які виникають у листках рослин кукурудзи за різних режимів живлення. Це завдання вирішувалося нами за допомогою приладу Флоратест.

Виходячи з того, що портативний прилад Флоратест працює в експрес-режимі, нами виконувалася діагностика змін пігментного комплексу листків рослин кукурудзи як за допомогою цього приладу, так і в порівнянні з результатами за використання традиційних агробіологічних та біохімічних методів.

Після аналізу кривої флуоресценції хлорофілу залежно від норми внесення азотних добрив, нас зацікавило питання залежності характеристик кривої від показників азотного живлення рослин. Показники кривої індукції флуоресценції хлорофілу було опрацьовано і найбільшій увазі приділено функції $(F_{pl} - F_0)/F_m$, оскільки, як вказують автори [5], вона є *індикаторним показником впливу екзогенних факторів* (ШВЕФ).

Так, дані наших досліджень засвідчили існування оберненої залежності між індикаторним показником і дозою внесеного азоту добрив: у фазу 4–5 листків коефіцієнт кореляції (r) становив 0,65, 9–10 листків – 0,54, що вказує на середній зв'язок. Також ми відзначили, що середній зв'язок існував і між індикаторним показником та вмістом нітратного азоту в ґрунті (коефіцієнти кореляції становили відповідно 0,69 і 0,67). Таким чином, можна зробити попередній висновок, що підвищення доз азотних добрив сприяло покращенню азотного режиму ґрунту, що посилювало фотосинтетичні процеси в рослинах.

Нітратний азот у ґрунті є основним джерелом азотного живлення рослин, що позначається на утилізації рослиною азоту. У наших дослідженнях збільшення вмісту нітратів у ґрунті призводило до відповідного зростання вмісту загального азоту в індикаторному листку кукурудзи (на якому проводили вимірювання приладом). Нами встановлено, що розрахований ПВЕФ знаходився у тісному оберненому зв'язку з вмістом азоту в індикаторному листку: у фазу 4-5 листків він був сильним ($r=0,82$), 9-10 листків – середнім ($r=0,58$). Це дозволило нам стверджувати, що умови азотного живлення кукурудзи позитивно позначились на фотосинтетичних процесах у рослині, що знайшло відображення у показниках приладу Флоратест. Між показниками приладів N-Tester і Флоратест зв'язку не встановлено.

На основі одержаних даних можна зробити загальний висновок, що індукція флуоресценції хлорофілу чутлива до змін умов азотного живлення рослин кукурудзи і прилад Флоратест може бути перспективним у встановленні умов мінерального живлення рослин кукурудзи та рекомендований для подальших досліджень.

Оскільки було встановлено зв'язок між показниками азотного живлення рослин і показниками приладу Флоратест, ми простежили залежність між урожайністю зерна кукурудзи і характеристиками кривої Каутського.

Одержані нами дані засвідчили сильний обернений зв'язок між вказаними показниками в обох фазах росту і розвитку рослин (рис. 2).

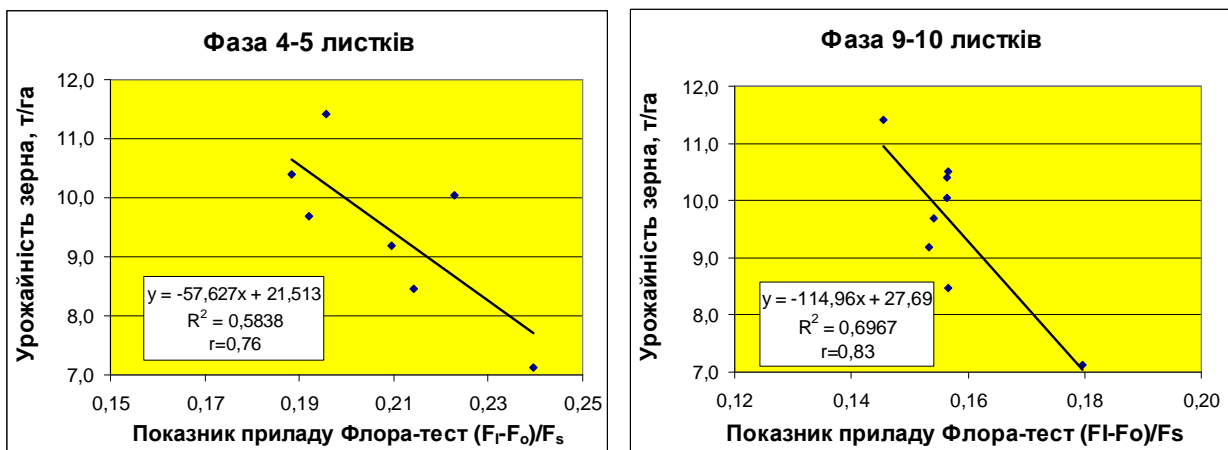


Рис. 2. Залежність між урожайністю зерна кукурудзи і показниками приладу Флоратест

На нашу думку, ріст рівня індукції флуоресценції хлорофілу є результатом порушення ферментативних процесів фотосинтезу, які відбуваються у темряві, наслідком чого є блокування процесу окислення акцептора фотосистеми I. Це, в свою чергу, призводить до послідовної відбудови ферментів-переносників електротранспортного ланцюга хлоропластів і накопиченню первинного акцептора фотосистеми II у відбудованому стані, який характеризується максимальною індукцією флуоресценції.

Зміна індукційних і спектральних характеристик флуоресценції листової пластинки рослин кукурудзи спостерігається за дії різних режимів живлення та способів внесення добрив.

У багатьох літературних джерелах показано [1,2], що умови живлення рослин перш за все впливають на інтенсивність фізіологічних процесів, які відбуваються у рослинах і відповідають за інтенсивність і тривалість процесів росту, а також на величину і якість урожаю. За оптимального режиму живлення відбувається достатньо інтенсивний ріст рослини, гарна облистяність, та інтенсивний розвиток її кореневої системи, що забезпечує стабільний врожай високої якості. В умовах несприятливих режимів живлення різко пригнічуються процеси росту надґрунтової частини і кореневої системи рослини, змінюється колір її листя, виникають внутрішні анатомічні зміни окремих органів і тканин, знижується врожай.

Так, у варіанті з підживленням азотом (Фон + N₁₂₀ + N₆₀) показники ІФХ найбільш позитивно відображають стан рослин. У варіантах Фон + N₁₈₀ та Фон + N₂₄₀ за високих доз азоту характер змін індукції флуоресценції хлорофілу залежно від різних режимів живлення, на нашу думку, визначався змінами функціонування реакційних центрів фотосистем I і II та електротранспортного ланцюга.

Норма азоту 360 кг/га (варіант 8) виявилась фітотоксичною, свідченням чого було пригнічення ростових процесів та зменшення маси рослин, що ми відзначали вже на початку вегетації. У результаті, в цьому варіанті спостерігали

деяке зниження врожайності, що свідчить, з одного боку, про появу у пігментній матриці пасток енергії збудження, які здійснюють її нерадіаційну дисипацію, з іншого, підсилювалася міграція енергії збудження на агреговані форми хлорофілу у результаті конформаційних змін у мембранах хлоропластів, які виникали під впливом несприятливих режимів живлення. Про це свідчило, перш за все, зменшення інтенсивності флуоресценції хлорофілу в короткохвильовій і довгохвильовій областях.

За результатами досліджень можна стверджувати, що з погляду економічної доцільності найбільш оптимальною за врожайністю і нормою азоту виявилась N_{180} . Унесенні його за такої норми у два строки ($N_{120} + N_{60}$ у кореневе підживлення) урожайність не підвищилась порівняно з одноразовим внесенням всього азоту до посіву. Але не можна категорично стверджувати, що це недоцільно. Можливо, що в рік проведення досліду за конкретних умов «клімат – живлення» ефект нівелювався, а за інших погодних умов він міг проявитися суттєвіше. Можна вважати, що ріст індукції флуоресценції хлорофілу за різного удобрення скоріше за все спричинюється конформаційними змінами мембран хлоропластів, у результаті чого може бути зменшена проникність для ендогенних акцепторів електронів.

Останнім часом деякі автори [7,8] висловлюють припущення, що ріст індукції флуоресценції хлорофілу зумовлений фазовими переходами у ліпідних компонентах тилакоїдних мембран. Виявлені розбіжності між удобреними рослинами і контролем можуть свідчити про перерозподіл енергії збудження між фотосистемами I і II, який регулюється зміною конформаційного стану мембран і в нашому досліді є наслідком дії стресу.

Висновки

1. Встановлено існування прямого середнього зв'язку між індикаторним показником впливу екзогенних факторів $[(F_{pl} - F_o)/F_m]$, визначеним на основі показників приладу Флоратест, і нормою внесеного азоту добрив (у фазу 4–5 листків коефіцієнт кореляції становив 0,65, 9–10 листків – 0,54) та вмістом нітратного азоту в ґрунті (відповідно за фазами $r=0,69$ і $r=0,67$).

2. ПІВЕФ знаходився у тісному оберненому зв'язку з вмістом азоту у індикаторному листку кукурудзи: у фазу 4–5 листків зв'язок був сильним ($r=0,82$), а 9–10 листків – середнім ($r=0,58$).

3. На основі попередніх висновків можна стверджувати, що індукція флуоресценції хлорофілу чутлива до змін умов азотного живлення рослин кукурудзи, тому прилад Флоратест може бути перспективним у встановленні умов мінерального живлення рослин кукурудзи і рекомендований для подальших досліджень.

4. Показано сильний обернений зв'язок між ПІВЕФ і врожайністю зерна кукурудзи (коефіцієнт кореляції становив відповідно за фазами 0,76 та 0,83). За проведення подальших досліджень прилад Флоратест може виявитись перспективним для прогнозування врожайності зерна кукурудзи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Григорюк І. П. Ріст пшениці і кукурудзи в умовах посухи та його регуляція / І. П. Григорюк, О. І. Жук. – К.: Науковий світ, 2002. – 118 с.

2. Гуляев Б. И. Фотосинтез и продуктивность растений: проблемы, достижения, перспективы исследований / Б. И. Гуляев // Физиол. биохим. культ. растений. – 1996. – № 1/2. – С. 15–35.

3. Корнеев Д. Ю. Информационные возможности метода индукции флуорисценции хлорофилла / Д. Ю. Корнеев. – К.: «Альтерпрес», 2002. – 188 с.

4. Наукові основи дистанційного моніторингу стану посівів зернових / Т. М. Шадчина; відп. ред. В. В. Моргун; НАН України, Інститут фізіології рослин і генетики. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 220 с.

5. Портативний флуорометр «Флоратест»: Настанова з експлуатації. – Інститут кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України, 2011. – 27 с.

6. Сімейство портативних приладів «Флоратест»: підготовка до серійного виробництва / [Романов В. О., Артеменко Д. М., Брайко Ю. О., та ін.] // Комп'ютерні засоби, мережі та системи. – 2011. – № 10. – С. 85–93.

7. Archer E.E. The effect of plant spacing on the water status of soil and grapevines / E. E. Archer, H. C. Strauss // *S. Afr. J. End. Vitis*. – 1989. – № 10. – P. 49–58.

8. Berry J. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants / J. Berry, O. Bjorkman // *Ann. Rev. Plant Physiol.* – Inc. Palo Alto. – California, USA. – 1980. – № 31. – P. 491–543.

9. Foyer C. H. Harbinson J. Relationships between antioxidant metabolism and carotenoids in the regulation of photosynthesis / In: *The Photochemistry of Carotenoids*. Ed.: Frank H.A., Young A.J., Cogdell R.J. Kluwer Acad. Publish. : The Netherlands, 1999. – P. 305–325.

10. Gruszecki W. Does the xanthophyll cycle take part in the regulation of fluidity of the thylakoid membrane? / W. Gruszecki, K. Strzalka // *Biochim. biophys. acta*. – 1991. – № 2. – P. 310–314.

11. MacKown C. T. Using early-season leaf traits to predict nitrogen sufficiency of burley tobacco / C. T. MacKown, T. G. Sutton // *Agronomy J.* – 1998. – Vol. 90. – P. 21–27.

ОЦЕНКА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОРТАТИВНОГО ПРИБОРА ФЛОРАТЕСТ ПРИ РАЗНЫХ УРОВНЯХ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ

ЛОГИНОВА И.В., САРАХАН Е.В., СОНЬКО Р.В., СТАРОДУБ Н.Ф.,
РОМАНОВ В.А.

Приведены результаты испытания портативного флуориметра отечественного производства Флоратест в посевах кукурузы с целью оценки возможности использования его для диагностики азотного питания растений. Полученные данные свидетельствуют о существовании тесной обратной зависимости между индикаторным показателем влияния экзогенных факторов (функция $(F_m - F_o)/F_m$) и содержанием азота в индикаторном листке кукурузы (коэффициент корреляции составлял в фазу 4-5 листков 0,82, в фазу 9-10 листков – 0,58), также урожайностью зерна (соответственно по фазам 0,76 и 0,83). Таким образом, использование прибора Флоратест с целью индикации условий питания растений кукурузы является перспективным и требует проведения более детальных исследований.

Ключевые слова: флуориметр, Флоратест, кукуруза, азотные удобрения

EVALUATION THE PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF CORN PLANTS USING A PORTABLE FLUORMETER FLORATEST UNDER DIFFERENT LEVELS OF NITROGEN NUTRITION

LOGINOVA I.V., SARAKHAN E.V., SONKO R.V., STARODUB M.F.,
ROMANOV V.O.

The results of testing the portable Ukrainian fluorometer Floratest on corn to assess the possibility of its use for diagnosis of nitrogen nutrition of plants are presented. The findings suggest the existence of a close inverse relationship between the indicated index of exogenous factors influence (function $(F_m - F_o)/F_m$) and the nitrogen content in the indicating corn leaf (the correlation coefficient was in the growth stage V5 $r = 0.82$, in V10 $r = 0.58$), as well as grain yield ($r = 0.76$ and $r = 0.83$ respectively to growth stages). Thus, the use of the device Floratest to indicate the conditions of nutrients supply of corn plants is promising and requires more detailed studies.

Key words: fluormeter, Floratest, corn, nitrogen fertilizers