

## **ОСОБЛИВОСТІ ІНДУКЦІЇ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ХЛОРОФІЛУ В ЛИСТКАХ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН В УМОВАХ УРБАНІЗОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА**

**Н.О. Олексійченко**, доктор сільськогосподарських наук

**О.І. Китаєв, М.О. Совакова**, кандидати біологічних наук

**О.В. Соваков**, кандидат сільськогосподарських наук

**М.О. Борщевський**, аспірант\*

**Національний університет біоресурсів і природокористування України**

**Наведено порівняльну оцінку функціонального стану пігментного комплексу листкового апарату найбільш розповсюджених (*Tilia cordata* Mill.) і малопоширених (*Rhus typhina* L.) деревних рослин із застосування методу індукції флуоресценції хлорофілу в насадженнях Києва.**

**Вступ.** Адаптивні зміни в деревних рослин міських насаджень відбуваються під тиском трансформованого середовища і супроводжуються певними морфологічними перебудовами асиміляційного апарату рослин, зміщенням сезонних ритмів розвитку, що залежить, насамперед, від їх аутоекологічної пластичності [1]. Визначення впливу чинників навколишнього середовища на стан зелених насаджень вимагає застосування експресних та інформативних методів, які б давали змогу здійснювати аналізи і в лабораторних, і в польових умовах з мінімальним порушенням цілісності досліджуваних об'єктів. До таких методів належить метод індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ), що широко використовується в сучасних дослідженнях фотосинтетичних процесів. Дослідження природної (первинної) флуоресценції рослинних об'єктів є дієвим методом визначення функціонального стану останніх [2].

Здатність рослин успішно виконувати фотосинтез залежить від ряду факторів, включаючи стресові, зумовлені зовнішніми умовами. Поглинута світлова енергія, яка використовується для фотосинтезу, розсіюється через виділення тепла і ре-емісію малих, але діагностично важливих доз поглинутого випромінювання у вигляді світлових хвиль червоного та інфрачервоного діапазонів. Така ре-емісія світла називається індукцією флуоресценції хлорофілу. Випромінювання флуоресценції хлорофілу з цілого листа є незначним і не може спостерігатися неозброєним оком, але його можна зафіксувати спеціальними пристроями, такими як флуорометри. Фотосинтез та індукція флуоресценції хлорофілу відбуваються в прямій конкуренції між собою і обмежені кількістю поглинутої світлової енергії. Будь-які зміни у використанні енергії одним з цих процесів зумовлює додаткові зміни в іншому процесі. Цей факт дозволяє використовувати індукцію флуоресценції хлорофілу як експресне та надійне неруйнівне оцінювання фотосинтезу. Флуорометри призначені спеціально для виявлення випромінювання флуоресценції хлорофілу з листа рослини [3].

У більшості наукових досліджень для вимірювання параметрів фотосинтетичного апарату рослин використовується показник швидкої (або перемінної) флуоресценції, тобто вимірювання енергії, котра не вступала в реакцію фотосинтезу і не перейшла в тепло після поглинання клітиною кванта світла [5]. Залежність флуоресценції від часу після початку освітлення називають кривою індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) або індукційною кривою.

Асортимент декоративних рослин, які можуть бути використані у зеленому будівництві, дуже великий — тисячі видів, різновидів, форм, сортів. Нині у колекціях ботанічних садів, дендропарків налічується близько 350 видів, форм, сортів голонасінних (серед них найбільше шпилькових) та 2400 покритонасінних (листяних). В озелененні використовують значно меншу кількість. Більша частина (близько 2/3 видів) використовується у парковому будівництві і лише третина — в озелененні вулиць [10, 11].

Для розширення рослинного асортименту і підвищення декоративної цінності насаджень у вуличних композиціях частіше використовують інтродуковані види, серед яких і представники роду *Rhus* L. [12].

Мета досліджень — провести порівняльну оцінку функціонального стану пігментного комплексу листового апарату найбільш розповсюджених (*T. cordata* Mill.) і малопоширених (*Rh. typhina* L.) деревних рослин у насадженнях Києва. із застосування методу ІФХ

**Методика досліджень.** Дослідження флуоресценції хлорофілу в листовому апараті липи серцелистої і сумаха оленерогого проводили упродовж вегетаційних періодів 2011—2012 рр. Зразки листя відбирали в різних районах Києва, залежно від рівня трансформації екотопів: "Лісопарк (Л)" — незначний вплив техногенного забруднення; "Житлова забудова (ЖЗ)" — задовільний рівень техногенного забруднення; "Транспортно-шляхова зона (ТШЗ)" — високий рівень техногенного забруднення. Параметри ІФХ вимірювали у верхівковій частині листка. Використовували по 10 листків від 3—5 дерев з кожного представленого екотопу.

Дослідження проводили в лабораторії фізіології Інституту садівництва УААН за допомогою хронофлуорометра "Флоратест-2", розробленого Інститутом кібернетики ім. В.М. Глушкова НАН України, НВФ "РОСТ" і випробуваного Інститутом садівництва НААН України. Адаптація листків до темряви тривала 5 хв. Довжина хвилі освітлення в максимумі —  $470 \pm 15$  нм; сила світла діода — 120 мКд; кут освітлення —  $130^\circ$ ; освітлення в межах плями — не менше 20 Вт/м<sup>2</sup>. Спектральний діапазон вимірювання флуоресценції складав 670—800 нм [6, 3]. Статистичну обробку даних проводили з використанням пакетів Microsoft Excell і Statistica.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Зроблено аналіз таких параметрів емісії флуоресценції листків: максимальна інтенсивність флуоресценції хлорофілу *a* —  $F_{\max}^{680}$  ( $\lambda_{\max}=680$  нм); стаціонарний рівень індукційної кривої —  $F_{st}^{680}$ ; коефіцієнт індукції

$$\text{флуоресценції} - K_i = \frac{F_{\max}^{680} - F_{st}^{680}}{F_{\max}^{680}}.$$

Флуоресценцію хлорофілу, викликану слабким світлом при відкритих реакційних центрах після адаптації зразків до темряви, позначають як  $F_0$  (рис. 1, 2). Під дією спалаху світла реакційні центри насичуються і закриваються, реєструється максимальний рівень флуоресценції —  $F_m$ . Максимальна ефективність використання енергії світла реакційними центрами фотосистеми 2 розраховується як відношення перемінної флуоресценції ( $F_v = F_m - F_0$ ) до максимальної, тобто  $F_v/F_m$ . Цей параметр характеризує максимальну ефективність первинних процесів фотосинтезу, котрі залежать від фізіологічного стану рослини. Наукові дослідження цього явища доводять, що ефективність фотосинтезу (як і величина  $F_v/F_m$ ) знижується за низької або високої температури, засолення, дефіциті мінерального живлення, дії токсичних речовин, важких металів, техногенних поллютантів тощо [5,7—9].

Оскільки існує тісний зворотний зв'язок між фотосинтетичними реакціями та ІФХ, нами досліджено зміни параметрів індукції флуоресценції хлорофілу залежно від рівня трансформації екотопу. Як видно з рис. 1 і 2, вплив різних за інтенсивністю несприятливих техногенних факторів викликав у липи і сумаха досить різні за інтенсивністю і спрямованістю зміни ІФХ.

Аналіз отриманих в ході дослідження даних свідчить про залежність показників ІФХ від рівня техногенного навантаження (табл.).

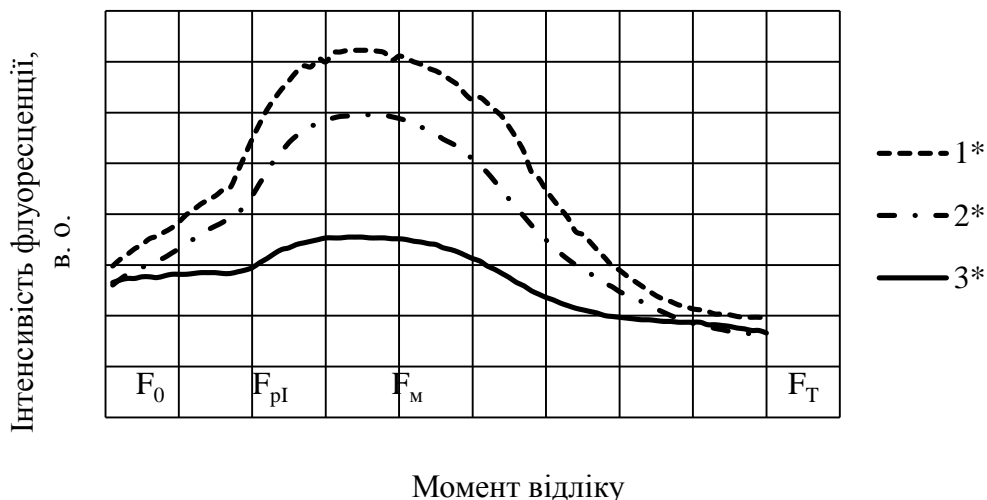


Рис. 1. Індукційні криві флуоресценції хлорофілу листків *T. cordata* Mill., залежно від рівня забруднення екотопу: 1 – "Лісопарк"; 2 – Житлова забудова"; 3 – "Транспортно-шляхова зона"

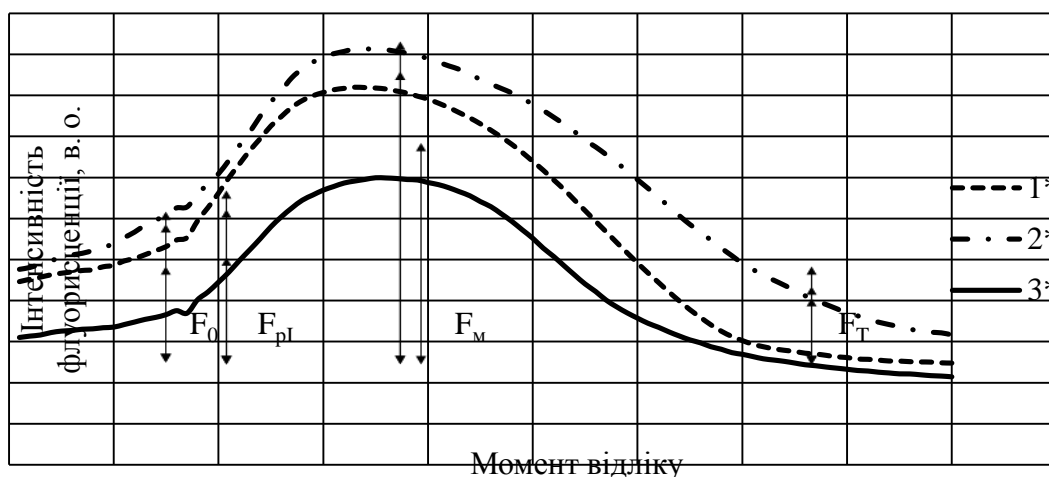


Рис. 2. Індукційні криві флуоресценції хлорофілу листків *Rh. Typhina* L., залежно від рівня забруднення екотопу: 1 – "Лісопарк"; 2 – Житлова забудова"; 3 – "Транспортно-шляхова зона"

Таблиця. Вплив умов місцезростання на параметри флуоресценції *Rh. typhina* L. і *T. cordata* Mill.

Варіант	Параметри світлової індукції, $\lambda=680$ нм							
	$F_{0, \text{v.o.}}$	$F_{pl, \text{v.o.}}$	$F_{\text{max}, \text{v.o.}}$	$F_{st, \text{v.o.}}$	$\Delta F_{pl}$	$F_v$	$K_{pl}$	$K_i$
<i>T. cordata</i> (ТШЗ)	0,53	0,57	0,71	0,39	0,04	0,18	0,22	0,45
<i>T. cordata</i> (ЖЗ)	0,70	1,03	1,48	0,60	0,33	0,78	0,42	0,59
<i>T. cordata</i> (Л)	0,59	0,89	1,44	0,72	0,3	0,85	0,35	0,50
<i>Rh. typhina</i> (ТШЗ)	0,26	0,32	0,57	0,18	0,07	0,32	0,21	0,69
<i>Rh. typhina</i> (ЖЗ)	0,38	0,48	0,86	0,27	0,10	0,48	0,21	0,69
<i>Rh. typhina</i> (Л)	0,31	0,38	0,71	0,18	0,07	0,32	0,21	0,69

За даними [6]  $F_0$  (рівень флуоресценції хлорофілу, котра випромінюється комплексами ФС 2 з "відкритими" реакційними центрами) залежить від втрат енергії збудження при її міграції по пігментній матриці світлозбиральних комплексів. При активному фотосинтезі, коли всі реакційні центри знаходяться у відкритому робочому стані, в умовах слабого освітлення майже вся поглинута енергія світла використовується в процесі фотосинтезу. Як правило, в нормальних умовах величина  $F_0$  незначна, що говорить про активне використання клітинами енергії поглинутого світла. Значення параметра під дією

техногенно трансформованого середовища знижується у *Rh. typhina* L. на 15%, а у *T. cordata* Mill. — на 10%, що свідчить про зменшення кількості хлорофілів, які не беруть участь у фотосинтетичному переносі енергії на реакційні центри. Порівняння отриманих даних дає змогу говорити про ефективніше використання поглинутого світла листками *Rh. typhina* L.

Значення показника  $Kp_l$  у зразках *Rh. typhina* L. становить 0,21, що істотно менше гранично допустимої норми (0,40) і свідчить про відсутність вірусної інфекції у рослин. Проте в одному з відібраних зразків *T. cordata* Mill., а саме тих, що зростають в умовах із задовільним рівнем техногенного забруднення, зафіксовано незначне перевищення допустимого значення  $Kp_l$ . Зважаючи на це, можна говорити про достатньо високу вірогідність присутності інфекції вірусного походження у дерев липи. Водночас даний параметр вказує на частку реакційних центрів, які не відновлюють первинний акцептор електрону  $Q_v$ . У зразках *T. cordata* Mill., що відібрані в умовах з високим рівнем трансформації екотопу, значення  $Kp_l$  вдвічі менше. Це говорить на можливе прискорення електрон-транспортних процесів.

Коефіцієнт  $F_{max}$  вказує на максимальне значення флуоресценції. В найменш сприятливих умовах зафіксовано зменшення цього показника у *T. cordata* Mill. на 50%, а у *Rh. typhina* L. — на 20%. Можливо це пов'язане з блокуванням ресинтезу хлорофілу, деградацією, руйнуванням структури хлоропластів та зменшенням їх кількості під впливом зовнішнього середовища.

Для даного приладу оптимальне значенням коефіцієнта індукції флуоресценції ( $K_i$ ) дорівнює 0,70. Такий рівень характерний для литсків рослин, що зростають у сприятливих умовах і знаходяться в гарному фізіологічному стані. Відповідно до отриманих даних, дерева *T. cordata* Mill., знаходяться в кризовому стані. В умовах транспортно-шляхової зони коефіцієнт  $K_i$  знижується на 35%, а в лісопаркових умовах на 20%. У дерев *Rh. typhina* L., незалежно від умов зростання, ефективність фотосинтезу знаходиться в оптимальних межах і становить 0,69.

### **Висновок**

Основні параметри індукційної кривої можна використовувати як тестові показники для визначення стійкості декоративних деревних рослин до дії несприятливих факторів техногенно сформованих едафотопів. Зміни цих показників характеризують процеси, пов'язані з впливом середовища на перебіг як світлових, так і темнових фаз фотосинтетичних процесів у хлоропластах.

Виявлено погіршення функціонального стану дерев *T. cordata* Mill. у залежності від рівня трансформації екотопу. Показники індукції флуоресценції хлорофілу в листках *Rh. typhina* L. свідчать про його толерантність до впливу міського середовища, дає змогу стверджувати про доцільність ширшого використання *Rh. typhina* L. у вуличних насадженнях, а саме в умовах з високим рівнем трансформації екотопу.

### **Література**

1. Веселовский В.А., Веселова Т.И. Люминесценция растений. Теоретические и практические аспекты. — М.: Наука, 1990. — 200 с.
2. Брайон О.В. Флуоресцентна мікроскопія рослинних тканин і клітин. — К.: Вища школа, 1973. — 144 с.
3. Сімейство портативних приладів "Флоратест": підготовка до серійного виробництва / В.О. Романов, Д.М. Артеменко, Ю.О. Брайко та ін. // Комп'ютерні засоби, мережі та системи. — 2011. — №10. — С. 85—93.
4. Rohacek K., Bartak M. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications // *Photosynthetica*. — 2000. — 37, №3. — P. 339—363.
5. Рубин А.Б. Биофизические методы в экологическом мониторинге // Соросовский образовательный журнал. — 2000. — 6, № 4. — С. 7—13.
6. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. — К.: "Альтерпрес". — 2002. — 188 с.

7. Нестеренко Т. В., Тихомиров А. А., Шихов В. Н. Индукция флуоресценции хлорофилла и оценка устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям // Журн. общ. биологии. — 2007. — 68, №6. С. 444—458.
8. Loreto F., Bonghi G. Analysis of stress status through natural fluorescent probes in intact leaves // *AgRh. mediter.* — 1988. — 118, №4. — P. 344—353.
9. Яковлева О. В., Талипова Е. В., Кукарских Г. П. и др. Изучение параметров флуоресценции хлорофилла в листьях травянистых растений, растущих в разных экологических условиях // *Биофизика.* — 2005. — 50, №6. — С. 1112—1119.
10. Бардачева О.Г. Средообразующая роль древесных насаждений в условиях мегаполиса // *Докл. ТСХА.* — 2003. — № 275. — С. 221—223.
11. Кузнецов С.І., Левон Ф.М., Пушкар В.В. Дендрологічний склад зелених насаджень в Україні та перспективи його поліпшення // *Матеріали Першого міжнародного семінару "Проблеми ландшафтної архітектури, урбоекотології та озеленення населених місць".* — Львів, 1997. — Т. 1. — С. 205—206.
12. Каталог деревьев и кустарников ботанических садов Украинской ССР / Н. А. Кохно, А. М. Курдюк, П. Я. Чуприна и др. — К.: Наук. думка, 1987. — 72 с.

#### АННОТАЦИЯ

**Алексейченко Н.А., Китаев О.И., Совакова М. А., Соваков А.В., Борщевский М.А.** Особенности индукции флуоресценции хлорофилла в листьях древесных растений в условиях урбанизированной среды // *Биоресурсы и природопользование.* — 2013. — 5, № 5—6. — С. 107—112.

*Представлена сравнительная оценка функционального состояния пигментного комплекса листового аппарата наиболее распространенных (*Tilia cordata* Mill.) и малораспространенных (*Rhus typhina* L.) древесных растений с использованием метода ИФХ в насаждениях Киева.*

#### SUMMARY

**N. Olekseichenko, O. Kitaev, O. Sovakova, O. Sovakov, M. Borhshevskiyi.** Features of the induction of chlorophyll fluorescence in leaves of woody plants in urban environment// *Biological Resources and Nature Management.* — 2013. — 5, № 5—6. — P. 107—112.

*A comparative evaluation of the functional condition of the pigment complex of deciduous timber of the most common (*Tilia cordata* Mill.) and less common (*Rhus typhina* L.) woody plants in plantations of Kiev using CFI has been made.*