

ISSN 0558 - 1125

УДК 581.132:58.035.7:632.112:634.23

В.А. КРИВОШАПКА, кандидат с.-г. наук
Інститут садівництва (ІС) НААН, Київ, Україна

ДІАГНОСТИКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ РОСЛИН У ЗВ'ЯЗКУ З ЇХ СТІЙКІСТЮ ДО ПОСУХИ ТА ВИСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

V.A. KRYVOSHAPKA, PhD
Institute of Horticulture, NAAS, Kyiv, Ukraine

DIAGNOSIS OF THE PLANTS FUNCTIONAL STATE IN CONNECTION WITH THEIR RESISTANCE TO DROUGHT AND HIGH TEMPERATURES

Наведено результати визначення функціонального стану рослин за різних абіотичних факторів. Описано новий метод оцінки їх стійкості до посухи та жару за показниками фото- і термоіндукції флуоресценції хлорофілу листків.

Приведены результаты определения функционального состояния растений при различных абиотических факторах. Описан новый метод оценки их устойчивости к засухе и жаре по показателям фото- и термоиндукции флуоресценции хлорофилла листьев.

The author presents the results of determining the functional state of plants under different abiotic factors and describes a new method of estimating the resistance to drought and heat according to the indexes of the leaves chlorophyll fluorescence photo - and thermoinduction.

Більшість плодових та ягідних культур у процесі вирощування може пригнічуватися різними абіотичними факторами (мороз, посуха та ін.), що впливає на їх функціональний стан. У зв'язку з глобальним потеплінням стає актуальним вивчення адаптації рослин до зміни клімату, стійкості їх до нестачі вологи та до високих температур.

Відомо, що життєві процеси в рослин, як і в інших організмів, відбуваються у водному середовищі. Вода необхідна для підтримки структурної цілісності біологічних молекул і відповідно клітин, тканин і всього організму. Її фізіологічне значення визначається багатьма властивостями. Вона є розчинником і середовищем, в якому відбуваються переміщення речовин та їх обмін, а її висока теплоємність сприяє стабілізації температури рослин [16, 17, 19].

Дефіцит вологи в них впливає на такі процеси, як поглинання води, кореневий тиск, фотосинтез, дихання, транспірація, ріст і розвиток тощо. Дія водного дефіциту на метаболічні процеси у значній мірі залежить від її тривалості. В умовах посухи знижується вміст білків у листках, а також спостерігається зменшення кількості всіх форм цукрів [16, 25]. Посушлива

погода викликає зниження приросту пагонів і коренів, послаблення розвитку листового апарату, а також порушення асиміляції CO₂ та зменшення накопичення запасних поживних речовин, погіршує якість і лежкість плодів. Ряд авторів [1, 6, 15, 21, 24] відмічає, що нестача вологи у ґрунті і високі температури пригнічують фотосинтез і спричиняють також функціональні захворювання.

Ось чому всебічне вивчення реакції плодкових і ягідних порід та їх сортів на посуху з метою оцінки їх чутливості до неї є одним з найважливіших завдань фізіології у плодівництві.

На даний час використовуються польовий та лабораторно-польовий методи оцінки посухостійкості культур, але вони досить трудомісткі. Тому необхідно розробляти або вдосконалювати експрес – методи для діагностики адаптивності рослин до умов пригнічення високою температурою (посуха, спека). Оскільки інтродукційна та селекційна робота нерозривно пов'язана з визначенням таких властивостей, як жаро- та посухостійкість, здатність до загартування, стійкість до зневоднення та інше, розробка та вдосконалення методів оцінки цих властивостей мають важливе значення.

Ряд авторів [11, 16, 22, 24] відмічає, що в екстремальних умовах змінюються не тільки ростові процеси в рослинах, але й посилюються анатомічні зміни в окремих органах і тканинах, у мембранах клітин, стану пластидного апарату в листках і пагонах, а також донорно-акцепторна взаємодія поблизу реакційних центрів фотосистем. У кінцевому результаті це впливає на перебіг фотосинтетичних процесів.

Найчастіше порушується фотосинтез нативного хлорофілу в листі. Характер змін на його первинних стадіях безпосередньо відображається у зміні флуоресценції хлорофілу у фотосинтетичних мембранах клітин, котра є досі єдиним явищем, яке дозволяє дослідити в живих об'єктах проходження фотохімічних реакцій, пов'язаних з роботою фотосистеми II вищих рослин, системи, найбільш чутливої до факторів зовнішнього середовища, таких як екстремальні температури, надлишкова освітленість, солі важких металів, висушування, підвищення вмісту солей у поживному середовищі. Саме ця система відповідає за розклад води і виділення кисню [4, 9, 10, 23].

Останнім часом увагу дослідників привертають біоелектрична активність, фотоіндуковане свічення та ряд інших властивостей рослин [2, 4, 5, 7, 8, 10, 13, 14, 18], на основі яких можна розробити методи об'єктивної оцінки їх стану до й після дії несприятливих умов. Важливою перевагою цих методів було б те, що у процесі досліджень об'єкт не пошкоджувався б, оцінка проводилася швидко, з'явилась би можливість автоматизувати виміри, а тим самим підвищити ефективність дослідницької роботи, прискорити впровадження її результатів у практику.

Тому мета наших досліджень полягала в розробці експрес - метода, який дозволив би без порушень цілісності об'єкта контролювати його функціональний стан і зміни під дією факторів навколишнього середовища.

Методика. Дослідження було проведено в лабораторії фізіології рослин і мікробіології ІС НААН України. За об'єкти взято 10 сортів вишні вітчизняної та зарубіжної селекції.

З метою виділення посухостійких сортів визначали водоутримувальну спроможність листків, їх водний дефіцит, здатність відновлювати тургор, оводненість тканин, а при встановленні стійкості до високих температур - жаростійкість листя [17].

Вивчали фото - і термоіндукцію флуоресценції хлорофілу лабораторним мікроспектрофлуориметром СМФ-1р, визначаючи ступінь стійкості конкретної рослини до посухи та жари [10, 11]. Спостереження за індукцією флуоресценції хлорофілу (ІФХ) проводили на живих листочках рослин. Фотосинтезуючий об'єкт збуджували опроміненням його в діапазоні хвиль від 400 до 500 нм і реєстрували залежність флуоресценції від температури - від 650 до 770 нм. Визначали максимальне і стаціонарне значення флуоресценції індукції, а також піку флуоресценції термоіндукції в діапазоні температур від 10 до 70 °С [12].

Основним завданням була розробка способу, який на основі вимірювань фізичних показників, зокрема характерних значень флуоресценції індукції та термоіндукції хлорофілу, дозволить з мінімальними витратами праці й часу, без використання контрольного варіанту надійно та експресно діагностувати посухо- та жаростійкість рослин [3, 19, 20].

Реєстрували такі показники: максимальне (F_m) і стаціонарне (F_{st}) значення індукції флуоресценції; значення піку флуоресценції термоіндукції в діапазонах температур: 10 – 35 °С (F_{α}^t), 35 – 45 °С (F_{β}^t) і 45 – 70 °С (F_{γ}^t).

Результати досліджень. Посухостійкість сортів визначали лабораторно - польовим методом, який включав вивчення водного режиму листя (його здатності водоутримувальної та відновлювати тургор, оводненості тканин і водного дефіциту). Було встановлено, що найбільш тісно корелюють показники останнього з F_{α}^t (α -хвилею).

Водний дефіцит досліджували в динаміці (через 2, 4 і 24 години). Найнижчим його значенням характеризувалися Чудо-вишня, Альфа та Ребатська красуня (16,8-18,2 %), найвищим - Тургенівка (32,4 %). Решта сортів займала проміжне положення (20,6-24,5 %). Ця закономірність спостерігалась і через 4 години. Тоді найкращими показниками відзначилися Чудо-вишня, Ребатська красуня та Альфа (20,0-21,1 %), найгірший водний дефіцит відмічено в Норд Стара і Тургенівки (34,0 і 37,4 % відповідно), в інших сортів - проміжний (22,1-30,4 %). Через 24 години після насичення листя закономірність по сортах в основному збереглася. Найнижчий водний дефіцит зафіксовано в Чудо-вишні та Подбельської (27 і 28 % відповідно) (табл.), найвищий за всіх термінів експозиції - у Норд Стара і Тургенівки (41 - 47 %). У сортів

Рєбатська красуня, Фаворит, Альфа, Донецький велікан, Ночка та Радість цей показник коливався в межах 30 - 38 %.

На підставі одержаних даних досліджувані сорти поділили на групи за посухостійкістю: з високою – Чудо-вишня, Рєбатська красуня, Альфа та Подбельська, середньою – Ночка, Донецький велікан, Фаворит і Радість, низькою – Норд Стар і Тургенєвка.

Одночасно визначали фото- і термоіндукцію флуоресценції хлорофілу, встановлюючи ступінь стійкості конкретного сорту до посухи та високих температур. Перед вимірюванням флуоресценції здійснювали темнову адаптацію листка. Це необхідно для приведення системи фотосинтезу в початковий стан та для одержання однозначних сигналів максимальної та стаціонарної флуоресценції. Тривалість адаптації (від 3 до 120 хв.) впливає на точність визначення максимального (F_m) та стаціонарного (F_{st}) значень флуоресценції, особливо при опроміненні листя з інтенсивністю, нижчою, ніж насичувальна. В нашому випадку стаціонарне значення (F_{st}) використовували для визначення початку нагрівання листка, щоб одержати сигнали термоіндукції. Для надійного встановлення стаціонарної флуоресценції потрібна темнова адаптація на протязі не менше 3 хв.

З досягненням стаціонарного рівня (F_{st}) починали нагрівання листка (його освітлену зону з постійною швидкістю підвищення температури в межах 8 - 10 $^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$) і вимірювання флуоресценції термоіндукції. При нагріванні проявляються так звані хвилі термоіндукції. Це означає, що поточні значення флуоресценції в діапазоні хвиль від 670 до 770 нм проходять ряд пікових значень. Кожна з хвиль викликана певними фізіологічними процесами і проявляється у певному діапазоні температур. Так, у діапазоні від оточуючої до 35 $^{\circ}\text{C}$ (до 90 сек.) виникає α -хвиля, пов'язана з впливом водного та світлового режиму на фотосинтетичні реакції. Але підвищення F_{α}^t може бути викликане як збільшенням дефіциту вологи листка, так і перезволоженням ґрунту. Тому тільки одночасне зростання F_{st} і F_{α}^t та врахування обох цих показників при визначенні дефіциту вологи листя можна однозначно трактувати як його збільшення. Крім того, індикатором оптимального дефіциту вологи може бути $F_{\alpha}^t \leq F_{st}$.

Показники функціональної активності та водного дефіциту листя різних сортів вишні

Сорт	F_m , від.од.*	F_{st} , від.од.	F_{α}^t , від.од.	F_{α}^t , %	Водний дефіцит (через 24 години експозиції), %
Радість	298	59,6	7,7	12,9	38
Ночка	212	38,2	5,5	14,4	32
Тургенівка	208	33,3	7,2	21,6	47
Фаворит	253	50,6	5,7	11,3	31
Чудо-вишня	313	59,5	7,0	11,8	27
Альфа	280	42,0	9,1	21	33
Норд Стар	176	35,2	5,6	15,9	41
Донецький велікан	288	57,6	7,1	12,3	35
Подбельська	226	52,0	8,9	16	28
Рєбатська красуня	272	51,7	9,2	16,1	30
НІР ₀₅	38	7,2	1,1	2,3	5,1

* відносні одиниці.

При проведенні комплексної оцінки стійкості сортів вишні до посухи та високих температур встановлено досить високу корелятивну залежність ($r = 0,49$) між першим з названих показників і параметром термоіндукції флуоресценції хлорофілу листків (F_{α}^t у відсотках від F_{st}), що характеризує напруженість у перебігу електрон - транспортних процесів між реакційними центрами фотосистем хлоропластів (див. табл.). Це дозволило з мінімальними витратами праці і часу, без використання контрольної рослини експресно та надійно визначити в польових умовах водний дефіцит листя, тобто діагностувати посухостійкість рослин за функціональними ознаками.

Після виникнення α - хвилі з'являються β - і γ - хвилі термоіндукції, котрі можуть вказувати на стійкість рослин до високих температур. При використанні як об'єкти сортів вишні встановлено, що температура виникнення хвиль флуоресценції β і γ прямо опосередкована стабільністю функціонування реакційних центрів фотосистем [19]. Вищі температури, передусім γ - хвилі, свідчать про більшу жаростійкість хлоропластів і листового апарату в цілому (Ночка та Альфа – 62,4-63,4° С). У сорту Донецький велікан цей показник був найнижчий – 56,4° С.

Таким чином, високотемпературні хвилі флуоресценції, передусім температура їх появи, можуть характеризувати термостабільність пігментного комплексу хлоропластів, який грає значну роль у посухо- та жаростійкості листового апарату і рослини в цілому.

Температурні зміни при нагріві листків є чутливим показником структурного і функціонального стану пластидного комплексу, обумовленого сортовими особливостями плодкових рослин і умовами їх вирощування, і можуть служити тестом для швидкої оцінки ступеня їх посухо- та жаростійкості.

Висновки. На підставі результатів досліджень описано метод термоіндукції флуоресценції, що дозволяє значно прискорити порівняльну оцінку сортів на їх стійкість до посухи.

Встановлено, що параметр термоіндукції флуоресценції хлорофілу F_a^t , що характеризує напруженість у перебігу електрон - транспортних процесів між реакційними центрами фотосистем хлоропластів, тісно корелює з водним дефіцитом.

Експресне визначення первинних фотосинтетичних процесів у хлоропластах листків дозволяє діагностувати жаро - та посухостійкість рослин, оскільки вплив дефіциту вологи і температури визначають через функціональні зміни фотосинтезу.

Порівняльне вивчення реакції фотосинтетичного апарату на дію посухи та високої температури із застосуванням методів фото- і термоіндукції флуоресценції хлорофілу листя і дефіциту вологи дозволило згрупувати рослини за їх стійкістю до посухи.

Комплексний аналіз показав, що серед сортів, які вивчалися, високою посухостійкістю характеризувалися Чудо-вишня, Ребатська красуня, Альфа та Подбельська, середньою – Ночка, Донецький велікан, Фаворит і Радість, низькою – Норд Стар і Тургенівка.

Спосіб визначення функціонального стану рослин за змінами фотоіндукованої флуоресценції хлорофілу та його термоіндукції може бути застосований у сільському господарстві, селекційній роботі, садівництві та зрошувальному землеробстві при нормуванні зрошування.

Список використаної літератури

1. Барабаш О.І. Оцінка посухо- та жаростійкості однорічних сорто-підщепних комбінунвань яблуні за функціональним станом їх листового апарату / О.І. Барабаш, В.І. Дубровський, О.І. Китаєв // Садівництво. – 2000. – Вип. 51. – С. 246 – 251.
2. Брайон О.В. Інструментальне вивчення фотосинтетичного апарату за допомогою індукції флуоресценції хлорофілу / О.В. Брайон, Д.Ю. Корнєєв, С.С. Снегур, О.І. Китаєв / Методичні вказівки для студентів біологічного факультету. - Київ, 2000. - 25 с.
3. Бублик М.О. Особливості визначення адаптивного потенціалу сортів вишні до жару та посухи / М.О. Бублик, В.А. Скряга, О.І. Китаєв // Бюл. Інституту зернового господарства. - Дніпропетровськ, 2010. - № 39. – С. 173-176.

4. Веселовский В.А. Люминесценция растений / В.А. Веселовский, Т.В. Веселова – М.: Наука, 1990. – 200 с.
5. Гудковский В.А. Основные стресс-факторы и механизмы повреждения растений / В.А. Гудковский, Н.Я. Каширская, Е.М. Цуканова // Садівництво.- 2004. – Вип. 55. – С. 283-290.
6. Еремеев Г.Н. Некоторые физиологические показатели стойкости к засушливым условиям плодовых и других древесно-кустарниковых растений / Г.Н. Еремеев. - М., 1960. - С.9.
7. Зеленянська Н.М. Застосування флуоресцентних методів досліджень у виноградному розсадництві Криму / Н.М. Зеленянська // Науковий вісник Національного аграрного університету. – 2008. – Вип. 26. – С. 157-162.
8. Зеленянська Н.М. Індукція флуоресценції листків винограду в стресових умовах середовища / Н.М. Зеленянська // Вісник ЦНЗ АПВ Харківської області. – 2009. – Вип. 6. – С. 70-80.
9. Карапетян Н.В. Переменная флуоресценция хлорофилла как показатель физиологического состояния растений / Н.В. Карапетян, Н.Г. Бухов // Физиология растений. – Т. 33. - 1986. – № 5. – С. 1013 – 1026.
10. Китаев О.И. Флуоресцентные микроспектральные исследования физиологических особенностей плодовых и ягодных растений в связи с их зимостойкостью: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Кишинев, 1988. – 18 с.
11. Китаев О.І. Дослідження функціональних порушень пластидного апарату рослин абрикоса при надмірній вологості ґрунту люмінесцентно-спектральними методами / О.І. Китаєв // Садівництво. – 1983. - Вип. 31. - С. 69-71.
12. Китаев О.І. Патент на спосіб визначення водного дефіциту листа рослин (опис) / О.І. Китаєв, Ю.Ю. Андрусик, П.С. Клочан, І.В. Ковалевський, Ю.С. Колесник, О.П. Лушпіган, В.О. Романов, В.А. Скрыга, Т.В. Бедненко, В.С. Федак // UA 85524 C2 МПК (2009) G01N 21/64 A 01G 7/00 26.01.2009, Бюл. № 2, 2009 р. – С. 1-10.
13. Китаев О.І. Оцінка сорто-підщепних комбінацій яблуні за аналізом функціонального стану їх листкового апарату / О.І. Китаєв, В.М. Пелехатий // Садівництво. - 1998.- Вип. 46. – С. 174 – 176.
14. Лагутенко О.Т. Активність фотосинтетичного апарату та біологічна продуктивність агрусу залежно від системи удобрення ґрунту / О.Т. Лагутенко, О.І. Китаєв // Науковий вісник НАУ. - 2007. - Вип. 109. - С. 114-123.
15. Мельничук М.Д. Флуоресцентний аналіз рослин протягом розвитку та в стресових умовах / М.Д. Мельничук, Ю.І. Посудін, О.О. Годлевська [та ін.] // Агробіологія: зб. наук. праць. – Біла Церква, 2009. – Вип. 1 (64). – С. 1-8.
16. Полевой В.В. Физиология растений / В.В. Полевой. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
17. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под ред. Е.Н. Седова, Т.П. Огольцовой. – Орел: Изд-во Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур, 1999. – 608 с.
18. Рубин А.Б. Биофизические методы в экологическом мониторинге / А.Б. Рубин // Соросовский образовательный журнал. – Том 6. – 2000. - № 4. – С. 7-13.
19. Скрыга В.А. Комплексна оцінка посухо – та жаростійкості сортів вишні в північному Лісостепу України / В.А. Скрыга, М.О. Бублик, Н.В. Мойсейченко, О.І. Китаєв // Садівництво. - 2005. – Вип. 57. - С. 480-486.
20. Скрыга В.А. Оцінка продуктивності сортів вишні на основі показників функціональної активності листкового апарату / В.А. Скрыга, М.О. Бублик, Н.В. Мойсейченко, О.І. Китаєв // Садівництво. – 2006. - Вип. 58. - С. 167-174.
21. Таран Н.Ю. Адаптаційний синдром рослин в умовах посухи: автореф. дис. ... д-ра біол. наук. – К., 2001. – 42 с.
22. Титаренко Т.Є. Вплив затоплення ґрунту на C_{O_2} -газообмін, транспірацію, вміст пластидних пігментів і флуоресценцію хлорофілу у плодкових рослин / Т.Є. Титаренко, Д.А. Кірізій, О.І. Китаєв // Физиология и биохимия культурных растений. – Т.33. - 2001. –№ 3. - С. 268-274.
23. Тооминг Х.Н. Солнечная радиация и формирование урожая / Х.Н. Тооминг. - Л., 1977. – С. 25.

24. Чухіль С.М. Вивчення посухостійкості клонових підщеп та сорто-підщепних комбінувань яблуні / С.М. Чухіль, О.Д. Чиж, О.І. Китаєв // Садівництво. – 2007. - Вип. 60. - С. 227-238.
25. Шишкану П.В. Фотосинтез яблони / П.В. Шишкану. – Кишинев, 1973. – С. 18.

Одержано редколегією 12.05.12