

ISSN 0558 - 1125

УДК 581.132:58.035.7:634.1

О.І. КИТАЄВ, кандидат біол. наук**В.А. КРИВОШАПКА**, кандидат с. - г. наук

Інститут садівництва (ІС) НААН, Київ, Україна

ДІАГНОСТИКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЛОДОВИХ РОСЛИН МЕТОДОМ ІНДУКЦІЇ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ХЛОРОФІЛУ**O.I. KITAEV, V.A. KRYVOSHAPKA**, PhDs

Institute of Horticulture, UAAS, Kyiv, Ukraine

DIAGNOSIS OF THE FRUIT PLANT FUNCTIONAL STATE BY MEANS OF THE CHLOROPHYLL FLUORESCENCE INDUCTION*Наведено результати визначення функціонального стану листя плодкових рослин в різних абіотичних умовах методом індукції флуоресценції хлорофілу з використанням портативного приладу «Флоратест».**Приведены результаты определения функционального состояния листьев плодовых растений в различных абиотических условиях методом индукции флуоресценции хлорофилла с использованием портативного прибора «Флоратест».**The authors present the results of determining the functional state of the fruit plant leaves under different abiotic factors with the use of the portable instrument «Floratest».*

Більшість плодкових та ягідних рослин у процесі вирощування може зазнавати негативного впливу різних абіотичних факторів (мороз, посуха, високі температури та ін.), що погіршує їх функціональний стан, а в подальшому знижує продуктивність і при інтенсивному або довготривалому стресі навіть спричинити загибель. Найбільшої шкоди завдають порушення фотосинтетичних процесів у листках. Тому для прийняття управлінських рішень важливо швидко оцінити зміни у функціонуванні листкового апарату безпосередньо в польових умовах.

Останнім часом для аналізу фотосинтетичних процесів у листі все частіше використовують метод індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ).

Існує зв'язок між інтенсивністю флуоресценції нативного хлорофілу та фотосинтетичними реакціями, що є підґрунтям для широкого застосування цього методу з метою діагностики стану рослин [3, 5].

Флуоресценція хлорофілу та її індукційні зміни досить легко реєструються, що дозволило створити портативні прилади для визначення функціонального стану рослин у польових умовах [1, 2, 4]. Відомо, що певні ділянки її кривої є індикаторами відповідних фізіологічних процесів у ланцюгу фотосинтезу. Порушення окремих його ланок, викликані екзо- та ендогенними чинниками, проявляються у характерних змінах відповідних ділянок кривої ІФХ. Виникає потреба у виборі її специфічного показника для подальшого його вимірювання або визначення з метою оперативної оцінки функціонального стану рослин.

Методика. Об'єктами лабораторного дослідження, проведеного в лабораторії фізіології рослин і мікробіології Інституту садівництва НААН України, були листки різних плодових культур: яблуні, груші, абрикоса, горіха грецького. Визначали індукцію флуоресценції хлорофілу портативним приладом «Флоратест» [2, 4], моделюючи умови (мороз та посуха, контроль – без впливу факторів) та визначаючи ступінь стійкості конкретної рослини до зміни кожного з цих чинників (морозо- та посухостійкість, надмірне зволоження тощо).

Зразки піддавали впливу холоду в морозильній камері при температурі $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, час експозиції складав 20 хвилин. Посуху моделювали підсушуванням листка при $28\text{ }^{\circ}\text{C}$, вологості повітря 56 %, тривалість експозиції становила 2 години.

У кінетиці індукційних переходів флуоресценції хлорофілу знаходять своє відображення процеси як світлової, так і темної фаз фотосинтезу. Для оцінки стану фотосинтетичного апарату використовують цілий комплекс параметрів, серед яких ми проаналізували такі:

основні показники фотоіндукції флуоресценції, за якими оцінювали зміни у функціонуванні фотосинтетичних процесів в листках, а саме:

F_0 – початкове значення флуоресценції після ввімкнення освітлення;

F_{pl} – рівень її на час досягнення тимчасового сповільнення зростання її сигналу, так зване “плато”;

F_p – максимальне значення флуоресценції;

F_t – стаціонарний рівень її через 1,5-3 хвилини після початку освітлювання (рис. 1).

Всі показники індукційної кривої представлено у відносних одиницях еталона флуоресценції (світлофільтр ОС-14) з емісією в тому ж спектральному діапазоні, що й флуоресценція хлорофілу листка.

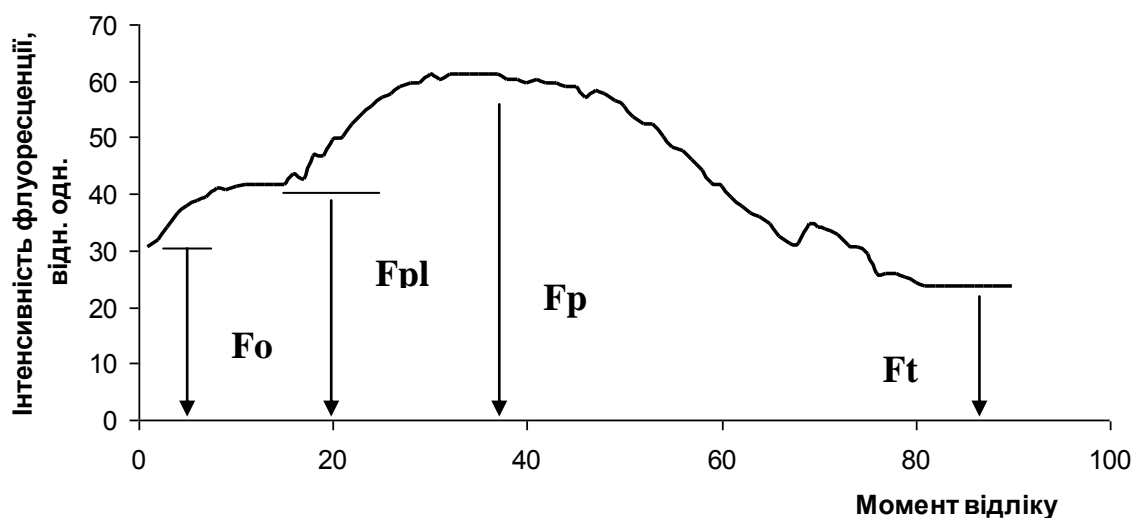


Рис. 1. Типова індукційна крива листя рослини

При визначенні ефективності роботи фотосинтетичного апарату листя рослин допомагають коефіцієнти K_{pl} , K_1 та K_2 , які обчислюють за формулами:

$K_{pl} = (F_{pl} - F_0) / F_v$ – частка центрів, що не відновлюють первинний акцептор електронів Q_A ;

$K_1 = (F_p - F_0) / F_p$ - коефіцієнт ефективності електронного транспорту поблизу реакційних центрів фотосистеми 2 (ФС II);

$K_2 = (F_p - F_t) / F_p$ - коефіцієнт ефективності темнових фотохімічних процесів.

Дослідження та оцінка впливу стрес – чинника ґрунтуються на порівнянні інформативних показників ІФХ дослідних і контрольних рослин або значень вибраних показників до й після дії стресового чинника.

Спостереження індукції флуоресценції хлорофілу проводили на живих листочках рослин, як правило, після їх п'ятихвилинної адаптації до темряви.

Результати досліджень. Флуоресценція хлорофілу є досі єдиним показником, що дозволяє вивчати в живих об'єктах проходження фотохімічних реакцій, пов'язаних з роботою фотосистеми II вищих рослин (яка відповідає за розклад води і виділення кисню). Ця система найбільш чутлива до факторів зовнішнього середовища, таких як екстремальні високі та низькі температури, надлишкова освітленість, перезволоження, висушування, підвищення вмісту солей у поживному середовищі [3, 6]. При активному фотосинтезі, коли всі РЦ (реакційні центри) знаходяться у відкритому робочому стані, в умовах слабкого освітлення майже вся поглинута енергія світла використовується у процесі фотосинтезу. Тому інтенсивність флуоресценції хлорофілу у клітині набагато нижча, ніж у розчині. Але й тут невелика частина енергії електронного збудження (не більш 3%) переходить в енергію світла флуоресценції у вигляді так званої фонової флуоресценції F_0 . Як правило, в нормальних умовах величина F_0 мала, що говорить про активне використання клітинами енергії поглинутого світла. Але якщо при яких-небудь впливах порушується стан фотосинтетичних мембран, то РЦ переходять у неактивний (закритий) стан, коли потік електронів у первинних процесах фотосинтезу зупиняється. В цих умовах поглинута енергія світла вже не може використовуватись у цьому процесі, тому й флуоресценція хлорофілу зростає. РЦ можна повністю вивести з робочого стану, наприклад, при дії інгібітору потоку електронів діурона. В цьому випадку флуоресценція сильно зростає і наближається до своїх максимальних значень F_p . Відмітимо, що закриті центри можна створити також надлишковою освітленістю клітин, коли відбувається світлове насичення фотосинтезу. Фотосинтетичний ланцюг переносу електрона наче захлинається від надлишку поглинутої світлової енергії, переводячи все більшу частину її у флуоресценцію [1, 3].

Оскільки існує тісний зворотний зв'язок між фотосинтетичними реакціями та інтенсивністю флуоресценції хлорофілу, ми дослідили зміни параметрів індукції флуоресценції хлорофілу у зв'язку з впливом різних абіотичних чинників (посуха, низькі температури). Як видно з рисунку 2, в яблуні, груші та абрикоса вплив контрастних за природою абіотичних факторів викликав досить різні за інтенсивністю і направленістю зміни ІФХ.

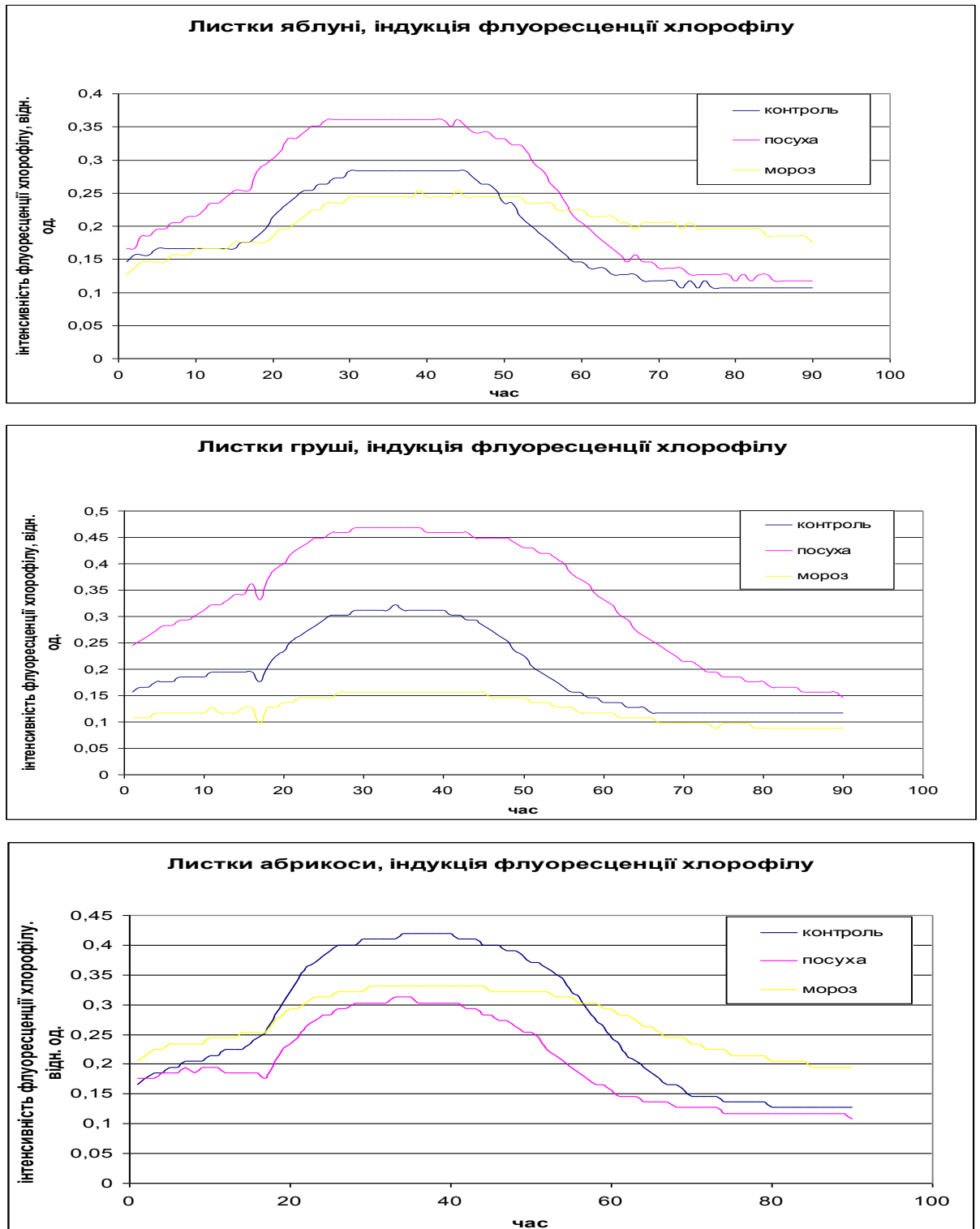


Рис. 2. Діагностика впливу стресових чинників на функціональний стан листя плодкових рослин

Так, під дією посухи в яблуні та груші зростає інтенсивність флуоресценції хлорофілу в усьому часовому інтервалі та її реєстрації. Значення параметру F_0 підвищується в яблуні - на 12-15, груші – більш, ніж на 60 % (табл.), що свідчить про збільшення кількості хлорофілів, які не беруть участі у фотосинтетичному переносі енергії на РЦ. Майже вдвічі зростає й доля реакційних центрів, які не відновлюють первинний акцептор електрону Q_B , котра характеризується параметром K_{p1} . Збільшується «інтеграл індукційних втрат» (площа під кривою ІФХ), %: у яблуні - на 40, груші – майже вдвічі, що вказує на гальмування фотохімічних процесів у листках внаслідок дії посухи. У більш посухостійких рослин абрикоса не відмічено збільшення F_0 , водночас K_p навіть зменшується, як і «інтеграл індукційних втрат» флуоресценції хлорофілу, що вказує на можливе прискорення електрон транспортних процесів. Однак параметри K_1 та K_2 дещо знижуються, можливо, за рахунок гальмування темнових фотохімічних процесів.

Вплив абіотичних факторів на параметри індукції флуоресценції

Культура	Варіанти	F_0 , від. од.	F_{p1} , від. од.	F_p , від. од.	F_t , від. од.	K_{p1}	K_1	K_2
Яблуна	Контроль	29	33	57	22	0,14	0,49	0,61
	Посуха	33	50	73	24	0,33	0,55	0,67
	Низькі температури	28	34	50	36	0,27	0,44	0,28
Груша	Контроль	31	39	63	24	0,25	0,51	0,62
	Посуха	49	68	94	31	0,42	0,48	0,67
	Низькі температури	21	26	32	21	0,45	0,34	0,34
Абрикос	Контроль	33	45	84	26	0,24	0,61	0,69
	Посуха	33	39	60	24	0,22	0,45	0,60
	Низькі температури	40	50	66	44	0,37	0,53	0,33

Низькі температури призводять до подальших змін індукції флуоресценції. У яблуні передусім зростає значення параметру F_t , що вказує на гальмування відтоку відновлених фотопродуктів від реакційних центрів. При цьому параметр K_2 зменшується більш, ніж удвічі. У груші відмічається зниження інтенсивності флуоресценції хлорофілу, нівелювання її індукційних змін.

Це проявляється у значному зменшенні параметрів K_1 та K_2 і свідчить не тільки про зниження інтенсивності фотохімічних процесів, зростання проникності мембран хлоропластів для ендогенних та екзогенних акцепторів на ділянці між ФС I та ФС II, а також про деструктивні зміни фотосинтетичного апарату. У неморозостійких рослин абрикоса також відмічено збільшення F_0 , K_{p1} , що означає порушення як у міграції енергії, так і у транспорті

електронів. Водночас параметри K_1 і K_2 зменшуються вдвічі, що свідчить про гальмування відтоку електронів від реакційних центрів ФС II внаслідок призупинення темнових фотохімічних процесів.

Висновок. Виходячи з отриманих нами результатів, можна зробити висновок, що параметри F_o , K_{pl} , K_1 та K_2 можна використовувати як тестові показники для визначення стійкості плодових рослин до дії низьких температур та посухи. Зміни цих показників характеризують процеси, пов'язані з дією стресових факторів на перебіг як світлових, так і темнових фаз фотосинтетичних процесів у хлоропластах. У чутливих до посухи рослин яблуні та груші відбуваються зміни як на світловій фазі - у процесі міграції енергії, так і при темновому фотохімічному її засвоєнні. У стійкої до посухи абрикоса зафіксовано гальмування передусім темнових фотосинтетичних реакцій. Низькі температури також найбільш інтенсивно впливають на проникність мембран, призводять до часткової деструкції структур хлоропластів, що особливо характерно для груші.

Виявлені нами зміни у показниках індукції флуоресценції хлорофілу листя дозволяють за допомогою приладу «Флоратест» оперативно визначати в польових умовах функціональний стан плодових рослин і приймати вискоєфективні рішення щодо застосування технологічних прийомів для його коригування. Широке впровадження приладу і методів оцінки стану рослин дасть можливість прискорити визначення стійкості сортів та гібридів до факторів довкілля та модернізувати селекційний і технологічний процеси.

Список використаної літератури

1. Брайон О.В. Інструментальне вивчення фотосинтетичного апарату за допомогою індукції флуоресценції хлорофілу / О.В. Брайон, Д.Ю. Корнеєв, С.С. Снегур, О.І. Китаєв / Методичні вказівки для студентів біологічного факультету. – Київ: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2000. - 25 с.
2. Войтович І.Д. Пристрій для визначення стану нативного хлорофілу / І.Д. Войтович, О.І. Китаєв, П.С. Клочан та ін. / Деклараційний патент на корисну модель. Україна (19)(UA)(11) 12382 (51) МПК (2006) G09В 23/28 (2006.01) G01N 21/64. Бюл. № 2, від 15.02.2006. – С. 1-6.
3. 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.
4. Китаєв О. Портативний хронофлуорометр для експрес-діагностики фотосинтезу «Флоратест» / О. Китаєв, П. Клочан, В. Романов // Зб. доп. конф. – звіту з комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України у галузі сенсорних систем та технологій, Київ, 2-3 лютого 2005 р. - С. 59.
5. Корнеєв Д.Ю. Информационные возможности индукции флуоресценции хлорофилла / Д.Ю. Корнеєв. - Киев: Альтерпрес, 2002. – С. 15-28.

6. Тітаренко Т.Є. Вплив затоплення ґрунту на C_{O_2} -газообмін, транспірацію, вміст пластидних пігментів і флуоресценцію хлорофілу у плодових рослин / Т.Є. Тітаренко, Д.А. Кірізій, О.І. Китаєв // Физиология и биохимия культурных растений. – Т.33. - 2001. –№ 3. - С. 268-274.

Одержано редколегією 21.02.12