

ISSN 0558-1125

УДК 632.4:612.014:634.11

**ІНДУКЦІЙНІ ЗМІНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ХЛОРОФІЛУ В ЛИСТКАХ ДЕРЕВ ЯБЛУНІ (*MALUS DOMESTICA BORKH.*), УРАЖЕНИХ БОРОШНИСТОЮ РОСОЮ (*PODOSPHAERA LEUCOTRICHA SALM.*)****І.М. МАКОВКІН**, молодший науковий співробітник**О.І КИТАЄВ**, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник

Інститут садівництва (ІС) НААН України, 03027, Київ-27, вул. Садова, 23, e-mail: makovkin@i.ua

*За допомогою методу індукції флуоресценції хлорофілу досліджено зміни фотосинтетичних процесів в листках дерев яблуні при ураженні їх борошнистою росю. Дано характеристику впливу на рослину пригнічення цією хворобою. Встановлено, що при посиленні ураження відбуваються зміни в ефективності функціонування реакційних центрів фотосистеми (ФС) 2. Зростає коефіцієнт плато, що характеризує відносну кількість неактивних реакційних центрів, знижується ефективність темнових фотохімічних процесів. Водночас показник  $F_v/F_r$ , який характеризує фотоенергетичну адаптивність ФС 2, із збільшенням балу ураження листка підвищується на 10-11%.*

**Ключові слова:** листок, індукція флуоресценції хлорофілу, борошниста роса, яблуня, бал ураження.

На даний час досить багато приладів фіксують реакцію рослин на негативну дію на них антропогенного забруднення навколишнього середовища. Тому розробка оперативних і точних методів оцінки функціонального стану рослин є актуальним питанням фундаментальних досліджень стресової дії на них з боку умов довкілля та фітопатогенів [1].

Одним із загальноприйнятих індикаторів стану рослин є оцінка змін в ефективності первинних процесів фотосинтезу у відповідь на вплив навколишнього простору. Визначення показників, що відображають фотосинтетичні функції, надзвичайно важливе, що зумовлено високою чутливістю фотосинтетичного апарату до факторів пошкодження. Багато дослідників довели, що зміна флуоресценції хлорофілу в часі або її індукційні переходи (ІПФ) є найбільш швидкими та інформативними серед багатьох експериментальних методів, які використовують для екологічного моніторингу [2, 3].

Сьогодні флуоресцентні методи широко застосовуються для діагностики стану рослин, починаючи з окремих із них і закінчуючи цілими екосистемами. З цього приводу було вирішено провести аналіз впливу розвитку борошнистої роси на функціональний стан листя за ІПФ хлорофілу.

**Методика досліджень.** За допомогою приладу "Флоратест", розробленого Інститутом кібернетики НАН України, визначено індукційні зміни у флуоресценції хлорофілу в листі дерев

яблуні сорту Лодел з різним ступенем ураження його борошнистою россою: 1 бал – 1-10% розвитку хвороби, 2 – 11-25%, 3 – 26-50%, 4 бали - >50%. За контроль брали чисті листки без наявних ознак хвороби [6].

**Результати.** Встановлено, що при збільшенні ураження листка борошнистою россою найбільші зміни відбуваються в ефективності функціонування реакційних центрів ФС 2 – коефіцієнт плато (Kpl), що характеризує відносну кількість неактивних реакційних центрів, тобто тих, які не беруть участь у транспорті електронів на пул пластохінонів:  $Kpl = (Fpl - Fo) : (Fp - Fo) = dFpl / Fv$ , де  $dFpl = Fpl - Fo$  – амплітуда плато флуоресценції;  $Fv = Fp - Fo$  – варіабельна флуоресценція (рис. 1).

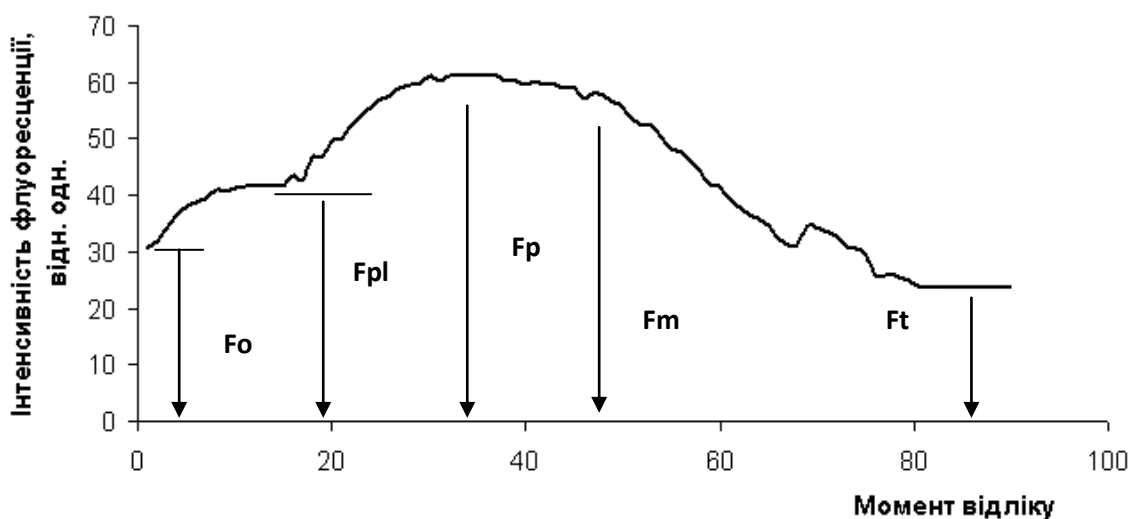


Рис. 1. Індукційні переходи флуоресценції хлорофілу листків дерев яблуні сорту Лодел

Базовим параметром для всіх розрахунків є мінімальний рівень флуоресценції хлорофілів, які не передають енергію на фотосинтез ( $F_0$ ). Це рівень, при якому вони не є учасниками фотосинтезу (рис. 2). З'ясувалося, що розвиток борошнистої роси практично не впливає на ці пігменти. Рівень неактивних пігментів у листі з різним ступенем ураження хворобою коливається в межах 10-11%. При відсутності ураження він становить 31,25 від відносної одиниці (в.о.); якщо воно було незначним, даний показник підвищувався на 3,17, а при двох, трьох і чотирьох балах зростав відповідно до 30,7; 33,20 і 30,07 в.о.

Аналіз мінімального рівня флуоресценції хлорофілів ( $F_t$ ) показав, що кількість пігментів, які не ефективно застосовують енергію, із зростанням ступеня ураження листка борошнистою россою збільшується. Отже, світлова енергія, накопичена реакційними центрами ФС 2, у фотохімічних процесах використовується не повністю. Вищевказаний рівень  $F_t$  зростає на 7,7% за незначного ураження (один бал), при двох балах він стабілізується до рівня, характерного для

неураженого листка, а при трьох і чотирьох підвищується відповідно на 3,9-13,0%. Отже, існує тенденція до підвищення даного показника.

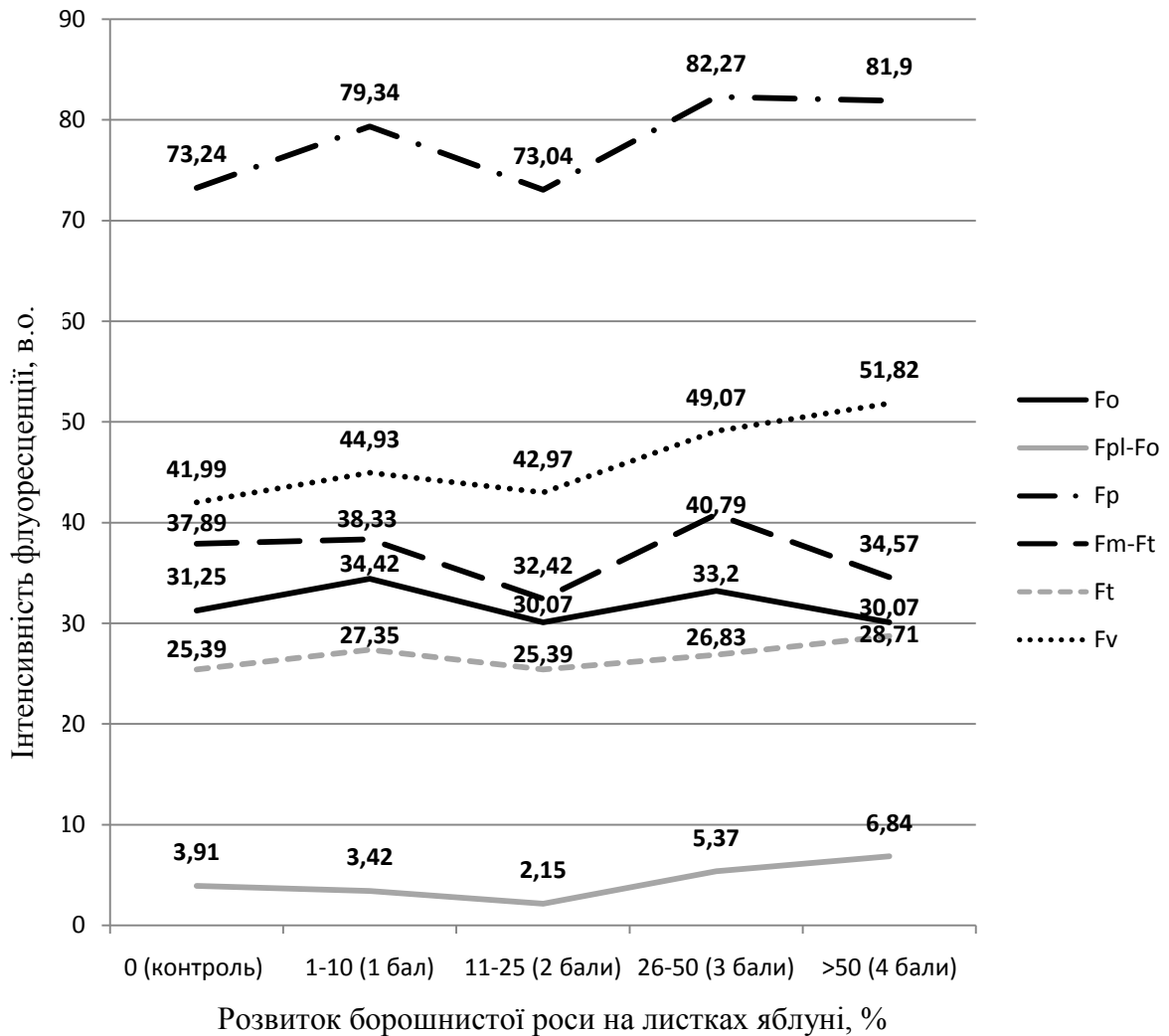


Рис. 2. Показники індукції флуоресценції хлорофілу в листі дерев яблуні, ураженому борошнистою росю. Сорт Лодел

Приріст флуоресценції хлорофілів за рахунок енергії, що не передається на електронтранспортний ланцюг (Fpl-Fo) спочатку зменшується до 3,42-2,15 в.о. при ураженні в один-два бали. Якщо ж уражується більше 25% листової поверхні, то показник Fpl-F підвищується в порівнянні з контролем на 1,46-2,57 відносної одиниці. Така реакція пояснюється зростанням кількості неактивних реакційних центрів.

Спостерігається також підвищення показника Fp – максимального рівня флуоресценції хлорофілів, пропорційного кількості пігментів, які в даному випадку зосереджені навколо реакційних центрів фотосистеми 2 – так звані антенні хлорофіли. У листках без борошнистого нальоту він складає 73,24 в.о., при чотирьох балах ураження зростає до 81,9 в.о., а за ураження 11-25% листової поверхні знижується до 73,04 в.о.

Максимальний рівень флуоресценції може зростати за рахунок притінення міцелієм борошнистої роси самого листка. Таким чином, активна флуоресценція  $F_v$ , тобто хлорофілів, які беруть участь у формуванні індукційних змін, збільшується, як і максимальна флуоресценція (остання – в результаті притінення листка).

Альтернативним поясненням цього явища може бути також поглинання грибом борошнистої роси поживних речовин, які виробляє листок. Останній, у свою чергу, виробляє та активує їх якомога більше. Внаслідок цього компенсаторного механізму «гриб забрав-листок виробив», листя, уражене хворобою, передчасно старіє й засихає, тобто йде активне споживання речовин листком.

$F_m$ - $F_t$  – це глибина спаду флуоресценції, зумовлена фотохімічними процесами та змінами в ефективності відтоку метаболітів від хлоропластів. Значні зміни цього показника відображають також процеси, пов'язані із взаємодією «гриб – листок».

Для характеристики фотосинтетичних процесів розглянемо раніш розроблені коефіцієнти (співвідношення параметрів ППФ) [1, 2, 3], що дозволяють розширити інформативність визначених нами індукційних змін флуоресценції хлорофілів (рис. 3).

Співвідношення змінної флуоресценції із загальним рівнем її в максимумі кривої ( $F_v/F_p$ ) – найбільш інтегральний показник ефективності фотоенергетичних процесів. Спостерігається незначне зростання (до 10%) даного показника у варіантах досліджу.  $F_v/F_p$  коливається в межах 0,5733-0,6328. Це вказує на роботу компенсаторного механізму листка за рахунок відтоку поживних речовин на потреби гриба.

На рисунку 3 найбільш виразно негативний вплив на стан флуоресценції хлорофілу характеризується параметром  $(F_{pl}-F_o)/F_v$  (коефіцієнт плато). Чітко видно, що при збільшенні балу ураження фактична частка неактивних реакційних центрів зростає. Така тенденція з невеликим спадом при ураженні в 1-2 бали веде до збільшення кількості неактивних реакційних центрів на 17,6% в листках, уражених на три бали, а при 4 балах на 41,8%. Відмітимо, що цей показник вказує на кількість неактивних реакційних центрів лише при насичувальному світлі. В нашому випадку інтенсивність такого світла становить близько 300-400, а на нашому приладі – 60-80  $W/m^2$ , що у 5 разів менше. Це зумовлює більші значення коефіцієнта плато, однак чутливіше відображає те, що токсини гриба все ж таки гальмують перенос електронів від реакційних центрів на електронтранспортний ланцюг.

Встановлено, що ефективність темнових фотохімічних процесів із збільшенням ураження листка знижується. У контрольному варіанті (листя не уражене борошнистою росю) параметр  $(F_m-F_t)/F_t$ , що є індексом розподілу величини фіксації вуглекислого газу, складав 1,493, а вже при ураженні більше 50% листової поверхні зменшився на 46,2% і становив 1,204. Однак у

варіанті з ураженням 3 бали спостерігали значний зріст ефективності темнових фотохімічних процесів (до 1,509), що відображає тимчасове збільшення відтоку метаболітів на потреби гриба.

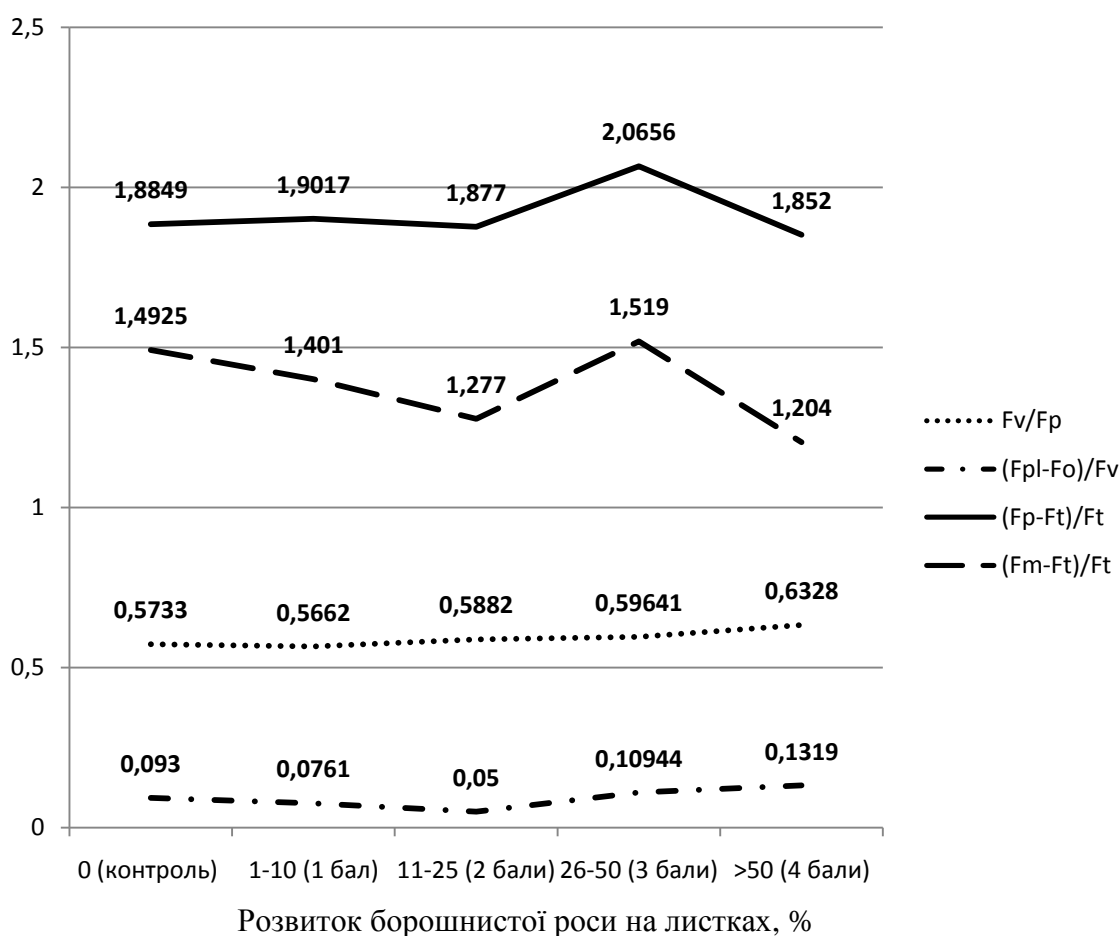


Рис. 3. Співвідношення параметрів флуоресценції хлорофілів у листках дерев яблуні. Сорт Лоддел

Стосовно фотофізичних світлових показників  $(F_p-F_t)/F_t$ , спостерігаються практично стабільні зміни на рівні 10%, що не має істотної різниці. Тенденція проявляється у двох варіантах – 2 і 3 бали ураження. При 2 балах флуоресценція хлорофілу спадає, що вказує на зміну активності фотосинтетичного апарату під впливом гриба, після чого як реакція на втрату поживних речовин зростають параметри  $F_{pI}-F_o$ ,  $F_p$ ,  $F_v/F_p$ ,  $(F_{pI}-F_o)/F_v$ . Це свідчить про підвищення ефективності роботи листового апарату. Після певного мінімуму починається захисна реакція, спрямована на підвищення ефективності фотосинтетичних реакцій. Рослина включає компенсаторний механізм і при ураженні до 3 балів, як видно на графіках, ефективність флуоресценції хлорофілу стабільно росте, а надалі перед загибеллю листка спостерігається незначний спад, зумовле-

ний отруєнням організму рослини, і як результат засвоєння вуглецю загальмовується. Таким чином, листя, уражене борошнистою россою, передчасно засихає та гине.

### **Список використаної літератури**

1. Брайон О.В. Інструментальне вивчення фотосинтетичного апарату за допомогою індукції флуоресценції хлорофілу. Методичні вказівки для студентів біологічного факультету / Брайон О.В., Д.Ю. Корнеєв, О.О. Снегур, О.І. Китаєв. – Київ: НАУ ім.Т.Г.Шевченка, 2000. 25с .
2. Карапетян Н.В. Переменная флуоресценция хлорофилла как показатель физиологического состояния растений / Н.В. Карапетян, Н.Г. Бухов // Физиология растений. – 1986. – Т. 33, № 5. – С. 1013-1026.
3. Корнеєв Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла / Д.Ю. Корнеєв. – Киев: Альтерпрекс 2002. – 188 с.
4. Байрак Н. В. Применение метода индукции флуоресценции хлорофилла для изучения неоднородности системы фотосинтеза растений / Н.В. Байрак, В.А. Зуза, Я.А.Погромская // Вісник Харківського університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія». – 2008. – № 814. – С. 181-186.
5. Галелюка І. Б. Портативний флуориметр для експрес-діагностики стану рослин: методи віртуального проектування і результати дослідного використання / І.Б. Галелюка, М.С.Качановська, Є.В. Сарахан. – К., 2006. –53с.
6. Трибель С.О. Методики випробування і застосування пестицидів / С.О. Трибель, Д.Д.Сігарьова, М.П. Секун та ін. / За ред. проф. С.О. Трибеля. – К.: Світ, 2001. – 448 с.

## **INDUCTION CHANGES OF THE CHLOROPHYLL FLUORESCENCE IN THE APPLE (*MALUS DOMESTICA BORKH.*) TREES LEAVES AFFECTED BY POWDERY MILDEW (*PODOSPHAERA LEUCOTRICHA SALM.*)**

**I.M. MAKOVKIN**, Junior Research Worker

**O.I. KYTAYEV**, Cand Biol Sci, Senior Research Worker

Institute of Horticulture, NAAS of Ukraine, 03027, Kyiv-27, Ukraine, Sadova str. 23, e-mail: makovkin@i.ua

*The changes of the photosynthetic processes in the apple trees leaves affectioned by powdery mildew have been researched by means of the chlorophyll fluorescence induction. The influence of this disease depression of the plant has been characterized. The affection degree increase has appeared to cause changes in the effectivity of the reactionary centres of the photosystem 2 functioning. The plateau coefficient which characterizes the relative amount of inactive reactionary centres increases, the efficiency of the photochemical processes which take place in darkness reduces. At the same time if the leaf affection gets stronger the Fv/Fp index that characterizes the photoenergetic adaptivity rises by 10-11%.*

**Key words:** leaf, chlorophyll fluorescence induction, powdery mildew, apple, point of defeat.

**ИНДУКЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ ДЕРЕВЬЕВ ЯБЛОНИ (*MALUS DOMESTICA* BORKH.), ПОРАЖЕННЫХ МУЧНИСТОЙ РОСОЙ (*PODOSPHAERA LEUCOTRICHA* SALM.)**

**И.Н. МАКОВКИН**, младший научный сотрудник

**О.И. КИТАЕВ**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Институт садоводства НААН Украины, Киев-27, ул. Садовая 23, e-mail: makovkin@i.ua

*С помощью метода индукции флуоресценции хлорофилла исследованы изменения фотосинтетических процессов в листьях деревьев яблони при поражении их мучнистой росой. Дана характеристика влияния на растение угнетения этой болезнью. Установлено, что при усилении поражения происходят изменения в эффективности функционирования реакционных центров ФС 2. Возрастает коэффициент плато, который характеризует относительное количество неактивных реакционных центров, снижается эффективность темновых фотохимических процессов. В то же время показатель  $F_v/F_p$ , характеризующий фотоэнергетическую адаптивность ФС 2, с увеличением балла поражения листа повышается на 10-11%.*

**Ключевые слова:** лист, индукция флуоресценции хлорофилла, мучнистая роса, яблоня, балл поражения.

Одержано редколлегією 09.01.15