

УДК 581.132.1:581.5:577.3

**В.В. Груша**, кандидат біологічних наук

**Т.І. Гордієнко**, кандидат сільськогосподарських наук

**М.В. Патика**, доктор сільськогосподарських наук

*ННЦ «ІНСТИТУТ ЗЕМЛЕРОБСТВА НААН»*

## **ОЦІНЮВАННЯ ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ ПОСІВІВ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР МЕТОДОМ ФОТОІНДУКЦІЇ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ХЛОРОФІЛУ**

В сучасному землеробстві застосування інтенсивних технологій у рослинництві, розробка і впровадження наукоємних методів точного землеробства зумовлює використання різноманітних автоматизованих систем моніторингу стану сільськогосподарських угідь, що дозволяють оперативно здійснювати оцінку стану рослинного покриву. Одним із сучасних методів отримання даних про стан та фізіологічні процеси у рослинах є метод індукції флуоресценції хлорофілу рослин в червоному спектрі світла, що характеризує широкий спектр процесів проходження фотосинтезу [1, 4].

Фотосинтез є ключовою ланкою складного процесу онтогенезу, що забезпечує в цілому ріст і розвиток рослин відповідно до їх генетичних особливостей. У процесі фотосинтезу відбувається перетворення енергії світла, асиміляція вуглецевих сполук за допомогою біохімічних енергетичних зв'язків продуктів фотосинтезу.

За різних умов ФАР, температур і впливу зовнішніх факторів, у тому числі і стресових чинників, в рослинах змінюється стан фотосинтетичного апарату і продуктивність фотосинтезу. Індикатором подібних фізіологічних змін є хлорофіл, локалізований у фотосинтетичних мембранах, що має певні спектральні властивості, зміни яких можна детектувати та реєструвати в режимі реального часу. Саме на основі цього отримується необхідна інформація для експрес-діагностики стану клітин [3, 5, 9].

Наукові дослідження вітчизняних та іноземних вчених свідчать про можливість використовувати цей ефект для експресної оцінки життєдіяльності рослин, що знаходяться під впливом біотичних та абіотичних чинників – посуха, заморозки, внесення пестицидів, визначення оптимальних доз мінеральних добрив, забруднення довкілля шкідливими речовинами техногенного походження. Як

результат, це дає можливість автоматизувати дослідження в галузі рослинництва, визначати оптимальні дози мікроелементів, мінеральних добрив, стимуляторів росту тощо [2, 9-11].

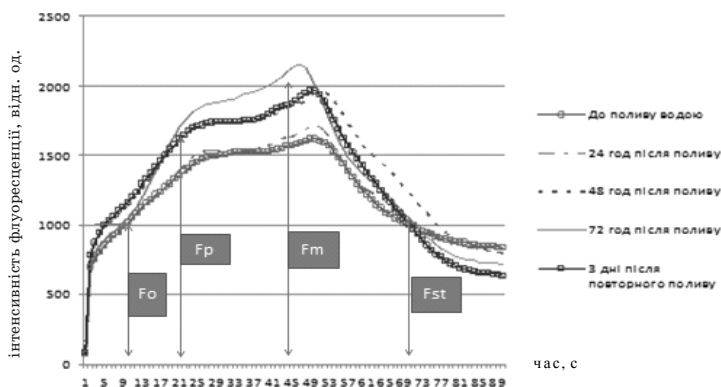
**Метою досліджень** було визначення фізіологічного стану ячменю ярого та встановлення рівня активізації фізіологічних процесів у рослинах під впливом фактора ризосфери, обумовленого формуванням рослинно-мікробної взаємодії.

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження проводили у вегетаційному досліді на сірому лісовому пилювато-легкосуглинковому ґрунті з  $pH_{(KCl)} = 8,1-8,3$ , вмістом гумусу (за Тюрніним) в орному шарі 0-20 см – 1,87%, вмістом азоту, що легко гідролізується – 61,0 мг, рухомого фосфору (за Чіріковим) – 18,6 мг, обмінного калію – 15,0 мг/100 г ґрунту. Для вивчення функціональних характеристик фотосинтетичного апарату рослин ячменю ярого (сорт Незабудка) використовували метод індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) – реєстрацію флуоресценції хлорофілу листків, кінетика якої має характерний вигляд кривої (крива Каутського) і відображає параметри первинних процесів фотосинтезу, що змінюються залежно від умов вирощування рослин. Невикористана у фотосинтезі енергія поглинутих квантів світла переходить або в тепло, або у флуоресценцію хлорофілу. Параметри флуоресценції є показником стану та ефективності протікання процесів фотосинтезу, оскільки зменшення ефективності використання світлової енергії у фотосинтезі веде до збільшення інтенсивності флуоресценції [5, 8]. Визначення проводили за допомогою однопроменевого хронофлуорометру «Флоратест» за трихвилинного режиму.

За зволоження рослин використовували мультифункціональний мікробний біопрепарат ЕкстраКон (розробник – ННЦ «Інститут землеробства НААН»), основу якого складає природний консорціум ґрунтових мікроорганізмів, призначений для трансформації будь-яких органічних речовин в біогумус (наприклад, соломи, листового опаду, рослинних решток, гілок, кори, складних лігнін-целюлоз, целюлоз і геміцелюлоз, побутових целюлозовмісних відходів, паперу, картону та ін.), а також торфи верхового і перехідного типу. За наявності вуглецьвмісних корневих ексудатів ЕкстраКон формує специфічну рослинно-мікробну систему [6, 7].

**Результати досліджень та їх обговорення.** У модельному вегетаційному досліді було досліджено стан рослин ячменю ярого сорту Незабудка в стресових умовах стану посухи (10% від повної вологості), відновлення вегетації, активізації фізіологічних

процесів, а також до і після застосування біопрепарату ЕкстраКон (рис. 1, 2).



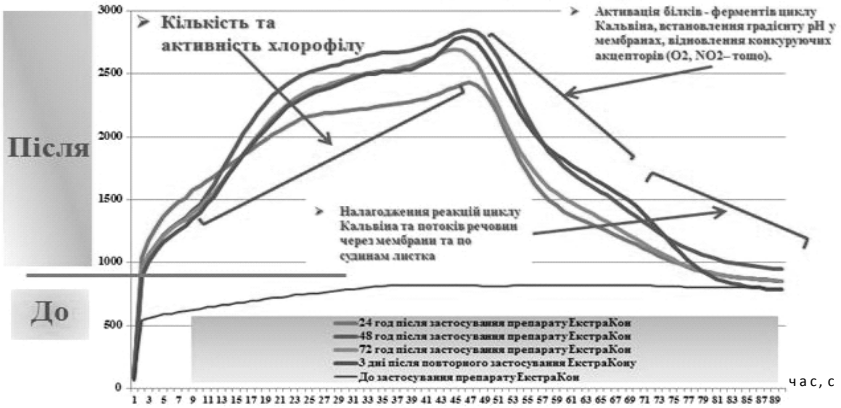
**Рис. 1. Індукція фізіологічного стану рослин ячменю ярого до і після зволоження водою**

Установлено, що у початковий момент всі канали фотосинтетичного переносу електронів відкриті і максимум енергії збуджених електронів йде на фотосинтетичний процес до першого піку (F0). У цей період флуоресценція хлорофілу мінімальна. Інтервал на кривих від першого (F0) до другого піку (Fp) відповідає переносу електронів від реакційних центрів фотосистеми II, яка практично повністю визначає флуоресценцію в червоному діапазоні і обумовлює більшу частину флуоресценції дольшого червоного діапазону, через феотін до первинних акцепторів (хінонів). Весь відрізок від F0 до третього піку (Fm) характеризує швидку фазу флуоресценції або її варіабельність. Повільна фаза індукції флуоресценції хлорофілу свідчить про всі індукційні переходи після досягнення піку Fm (активація білків-ферментів циклу Кальвіна, встановлення градієнту рН у мембранах, відновлення конкуруючих акцепторів O<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). Далі йде спадання і вихід на стаціонарний режим (Fst). Відбувається налагодження реакцій циклу Кальвіна й потоків речовин через мембрани та по судинам листка.

Всі ці процеси у рослин в стані стресу (в умовах посухи) уповільнюються, а за умов відновлення водного режиму (оптималь-

ного зволоження) активізуються і підвищуються на 50-70%. За поливу рослин біопрепаратом ЕкстраКон активація білків-ферментів циклу Кальвіна, встановлення градієнту рН у мембранах збільшується в 2-2.5 рази.

Інтенсивність флуоресценції, відн. од.



**Рис. 2. Фізіологічний стан рослин ячменю ярого до і після застосування мультифункціонального мікробного препарату ЕкстраКон**

Особливо важливим є те, що зміни фотосинтезу за допомогою методу ІФХ можна виявити задовго до того, як зміниться зовнішній вигляд рослини та попередити за допомогою відповідних агротехнічних заходів. Крім цього, можна ще на ранній стадії онтогенезу детектувати моменти формування взаємодії з ризосферною мікрофлорою та створення фактору ризосфери, а за погіршення стану навколишнього середовища своєчасно застосувати відповідні заходи (полив, підживлення мікро- і макроелементами, інтегрований захист рослин тощо). Крім цього, виявляючи зміни у фотосинтезі культурних рослин, метод ІФХ дозволяє контролювати стан та вплив екзогенних та ендогенних факторів довкілля, виявляти порушення гомеостазу агроєкосистем.

**Висновки.** Отже, одним із сучасних та інформативних методів визначення впливу факторів довкілля, а також фізіологічного стану посівів сільськогосподарських культур є застосування експресного методу фотоіндукції флуоресценції хлорофілу. В силу того, що біохімічні реакції обумовлюють фотосинтез і флуоресценцію

хлорофілу та являються основними каналами перетворення синтезованої шляхом поглинання світлової енергії і передачі її до реакційних центрів фотосинтезу, оперативна діагностика фізіологічного стану рослин дає можливість отримати важливу інформацію про стан фотосинтетичного апарату рослин. Якщо за будь-яких чинників фотосинтез гальмується, це в першу чергу позначається на інтенсивності флуоресценції хлорофілу. За рівнем виявлених змін визначено, що саме ланкою фактору ризосфери обумовлено процес фотосинтезу.

Доведена необхідність формування відповідних умов для вегетації рослин за участю біологічної складової в ризосфері, а також створення трофічних систем між рослиною (продукування ексудатів вуглецевмісних фотосинтетично асимільованих, які створюють умови або середовище для ґрунтової мікрофлори). Ґрунтова мікрофлора селективно стає ризосферною, але не завжди. В цьому аспекті використання біопрепарату ЕкстраКон на основі консорціуму ґрунтових мікроорганізмів сприяє оптимальним умовам вегетації рослин, оскільки мікробні складові біопрепарату переходять у ризосферу і починають ефективно взаємодіяти з рослиною. Саме в цьому полягають мультифункціональні властивості даного біопрепарату.

1. Брайон О.В. Інструментальне вивчення фотосинтетичного апарату за допомогою індукції флуоресценції хлорофілу. Методичні вказівки для студентів біологічного факультету / О.В. Брайон, Д.Ю. Корнєєв, О.О. Снегур, О.І. Китаєв. – К.: Видавничо-поліграфічний центр Київського університету, 2000. – 15 с.
2. Китаєв О.И. Флуоресцентные микроспектральные исследования физиологических особенностей плодовых и ягодных растений в связи с их зимостойкостью: диссерт. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук. / О.И. Китаєв. – К., 1985. – 155 с.
3. Корнєєв Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла / Д.Ю. Корнєєв. – К.: Альтерпрес, 2002. – 188 с.
4. Медведєв С.С. Физиология растений / С.С. Медведєв. – Санкт-Петербург: Изд-во С.-Пет. ун-та, 2004. – 367 с.
5. Основы флуоресцентной спектроскопии / Д. Лакович. – Пер. с англ. – М: Мир, 1986. – 496 с.
6. Петриченко В.Ф. Землеробство з основами екології, ґрунтознавства та агрохімії / В.Ф. Петриченко, М.Я. Бомба, М.В. Пати́ка [та ін.]. – К.: Аграрна наука, 2011. – 492 с.
7. Паты́ка Н.В. Микроорганизмы почвы: структура и функциональное разнообразие / Н.В. Паты́ка, Ю.В. Круглов, Е.В. Шеин // Агрохімія і

грунтознавство. Охорона ґрунтів – основа сталого розвитку України. – Кн. 3. – Харків, 2014. – С. 312.

8. Рубин А.Б. Биофизика фотосинтеза и методы экологического мониторинга / А.Б. Рубин. Технология живых систем. – Т.2. – 2005. – С. 47–68.

9. Butler W.L. Chlorophyll fluorescence: a probe for electron transfer and energy transfer. – In: Encyclopedia of Plant Physiology. Vol. 5. / ed. by Trebst A., Avron M. – Springer.– Berlin, 1977. – P. 149–167

10. Muller N.J.C. Beziehungen zwischen Assimilation, Absorption und Fluoreszenz im Chlorophyll des lebenden Blattes // Jahrbucher Wissenschaftliche Botanik. – 1874. – Vol. 9. – P. 42–49.

11. Strasser R.J., Tsimpli-Michael M., Srivastava A. Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient. – In: Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis / ed. by Papageorgiou G.C., Govindjee. – Springer. – The Netherlands, Dordrecht, 2004. – P. 322–362

*Встановлено, що інтенсивність флуоресценції хлорофілу дає важливу інформацію про стан фотосинтетичного апарату сільськогосподарських рослин. Якщо фотосинтез гальмується, пригнічується стресовими факторами, то зростає інтенсивність флуоресценції хлорофілу. По розташуванню виявлених змін на «кривій індукції флуоресценції хлорофілу» можна визначити, якою саме ланкою багатofакторного процесу фотосинтезу обумовлені ці зміни.*

**Ключові слова:** фізіологічний стан рослин, метод індукції флуоресценції хлорофілу, «крива індукції флуоресценції хлорофілу».

*Установлено, что интенсивность флуоресценции хлорофилла дает важную информацию о состоянии фотосинтетического аппарата растений. Если фотосинтез замедляется, угнетается под действием стрессового фактора, то повышается интенсивность флуоресценции хлорофилла. По распределению выявленных изменений на «кривой индукции флуоресценции хлорофилла» можно определить, на каком именно звене многофакторного процесса фотосинтеза получены эти изменения.*

**Ключевые слова:** физиологическое состояние растений, метод индукции флуоресценции хлорофилла, «кривая индукции флуоресценции хлорофилла».

*Found that watching the intensity of chlorophyll fluorescence yield important information about the state of the photosynthetic apparatus of plants. If photosynthesis slows down, inhibits the action of some factor, then increases the intensity of the fluorescence of chlorophyll. On the distribution of detected changes to «chlorophyll fluorescence induction curve» can be determined exactly which link the multifactorial process of photosynthesis produced these changes.*

**Key words:** physiological condition of the plants, method of chlorophyll fluorescence induction, «chlorophyll fluorescence induction curve».