

УДК 633.6

О. І. Присяжнюк, кандидат сільськогосподарських наук

І. І. Коровко, аспірант

Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН
InnaKorovko1990@gmail.com

Розроблення методу експрес-діагностики стану фотосинтетичного апарату рослин цукрових буряків на основі інтенсивності флуоресценції хлорофілу

Описано залежність інтенсивності флуоресценції хлорофілу від біологічних особливостей гібридів цукрових буряків та фаз розвитку рослини. Оцінено межі точності методу експрес-діагностики стану фотосинтетичного апарату рослин цукрових буряків.

Ключові слова:

експрес-діагностика, інтенсивність флуоресценції хлорофілу, буряки цукрові.

Вступ. Цукрові буряки – досить світлоактивна культура. Оптимальне формування асиміляційного апарату цукрових буряків позитивно впливає на накопичення сухої речовини і врожайність культури. Тому успішне розв'язання проблеми ефективної експрес-діагностики стану посівів потребує чіткого розуміння закономірностей формування асиміляційного апарату, знаходження на цій основі спектральних параметрів, найбільш інформативних щодо характеристик стану рослин, розроблення адекватних методів та апаратури для їх вимірювання, а також обґрунтованої відповіді на питання, що стосуються кількості та якості вимірюваної інформації для її раціонального та ефективного використання.

Флуоресценція хлорофілу є одним з показників, що дає можливість досліджувати в живих об'єктах перебіг фотохімічних реакцій, пов'язаних з роботою фотосистеми. Залежно від стану фотосинтетичного апарату інтенсивність флуоресценції хлорофілу *in vivo* може значно змінюватися, що особливо помітно в разі освітлення попередньо адаптованого до темряви листка. Інтенсивність сигналу флуоресценції спочатку різко зростає, потім поступово зменшується. Це явище, яке вперше дослідив Ганс Каутський, називають «індукція флуоресценції хлорофілу» (ІФХ), або «ефект Каутського». Залежність інтенсивності флуоресценції хлорофілу від часу після початку освітлення відома як індукційна крива, або крива індукції флуоресценції хлорофілу [1].

Форма індукційної кривої є чутливою до змін стану фотосинтетичного апарату внаслідок дії несприятливих чинників або фізіологічно ак-

тивних речовин, наприклад, гербіцидів [2].

Метою досліджень було визначення індукції флуоресценції хлорофілу в гібридів цукрових буряків за різних фаз розвитку культури для обрання найбільш інформативних числових показників кривої ІФХ для визначення фізіологічного стану рослин та з'ясування на їх основі кореляційних залежностей між інтенсивністю флуоресценції та вмістом хлорофілу, визначеного класичним методом.

Матеріали та методика досліджень. Експериментальні дослідження виконували протягом 2012–2013 рр. на дослідному полі полігону Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН (далі ІБКіЦБ) у с. Ксаверівка (Васильківський район, Київська область).

Об'єктом дослідження були рослини цукрових буряків гібридів Рамзес, Ромул, Олександрія, Білоцерківський ЧС 57, Уманський ЧС 97, Софія, Кварта, Уманський ЧС 90, Український ЧС 72. Дослідження проводили у фазу змикання листків у міжряддях і на момент збирання.

У роботі використано портативний комп'ютерний прилад «Флоратест», розроблений в Інституті кібернетики НАН України. Адаптація листків до темряви тривала 5 хв. Довжина хвилі висвітлення – у максимумі 470 ± 15 нм; освітленість у межах плями не менш ніж 20 Вт/м^2 . Спектральний діапазон вимірювання флуоресценції становить 670–800 нм. Тривалість вимірювання – 4 хвилини.

Для контролю вмісту хлорофілу в листках визначали зелені пігменти спектрофотометричним методом. Хлорофіл з листків екстрагували 96%

Розроблення методу експрес-діагностики стану фотосинтетичного апарату рослин цукрових буряків на основі інтенсивності флуоресценції хлорофілу

етилловим спиртом. У подальшому витяжку зелених пігментів аналізували на спектроколориметрі КФК-3. Вміст пігментів обчислювали за методикою А. М. Гродзинського і Д. М. Гродзинського [3].

Для визначення кривої індукції флуоресценції хлорофілу цукрових буряків використовували

метод експрес-діагностики стану рослин. У його основі лежить ефект індукції флуоресценції хлорофілу, або ефект Каутського. За інтенсивністю флуоресценції хлорофілу в максимумі кривої можна провести оцінку питомого вмісту хлорофілу в листках рослини (рис. 1).

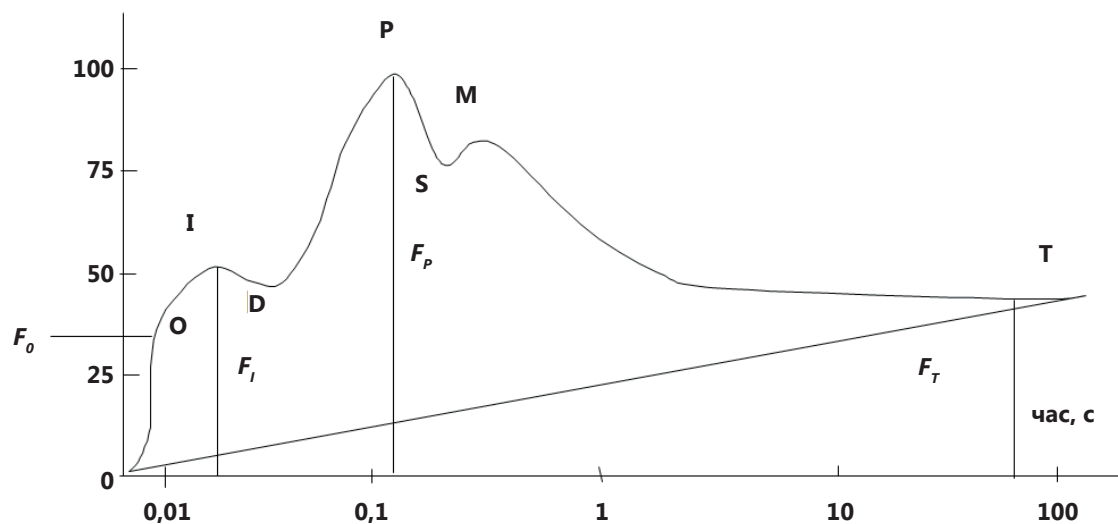


Рис. 1. Крива індукції флуоресценції хлорофілу

Для оцінки стану фотосинтетичного апарату рослин використовують ряд числових показників кривої ІФХ: $O (F_o)$ – початкове значення індукції флуоресценції після початку опромінення; $P (F_m)$ – максимальне значення індукції флуоресценції; F_{st} – стаціонарне значення індукції флуоресценції після світлової адаптації листка рослини, середнє арифметичне всіх значень у точках кривої; $F_m - F_o$ – варіабельна флуоресценція, t_1 – час досягнення 0,5 варіабельної флуоресценції у разі зростання кривої ІФХ; t_2 – час досягнення 0,5 варіабельної флуоресценції у разі спадання кривої ІФХ; $T = t_2 - t_1$ – тривалість ІФХ; F_v – варіабельна флуоресценція; F_v / F_m – максимальна квантова ефективність фотосистеми II; показник, чутливий до продуктивності фотосинтезу; оцінка фотоінгібування (здорова рослина – не менше ніж 0,85, понад 0,74 – задовільний стан рослин); F_v / F_o – максимальний початковий вихід фотохімії фотосистеми II; оцінка здатності листка рослин до фотосинтезу; $(F_m - F_{st}) / F_{st}$ – відносна зміна фотосинтетичної активності; швидкість виділення O_2 в розрахунку на хлорофіл [4–6].

Результати досліджень. Інтенсивність флуоресценції хлорофілу гібридів цукрових буряків визначали у фазі змикання листків у міжряддях і на момент збирання. Встановлено, що показник інтенсивності флуоресценції хлорофілу залежить не лише від біологічних особливостей гібриду, а

й від фази розвитку рослин (рис. 2).

Інтерпретацію кривої ІФХ здійснювали відповідно до кінетики індукції флуоресценції, що враховує активність киснепродукуючих комплексів фотосистеми II [1]. Початкова точка заміру для приладу «Флоратест» становить 1 мс.

Для оцінки меж точності методу експрес-оцінки стану фотосинтетичного апарату в рослинах цукрових буряків ми визначили вміст хлорофілу за допомогою спектрофотометра. Встановлено, що вміст хлорофілу в листках рослин залежить від біологічних особливостей гібридів та фаз їхнього розвитку (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст хлорофілу в листках гібридів цукрових буряків

Гібрид	Змикання листків у міжряддях		Технічна стиглість	
	Вміст у листках, мг/г			
	хлорофіл a	хлорофіл b	хлорофіл a	хлорофіл b
Рамзес	12,11	4,19	9,16	3,83
Ромул	7,73	2,50	8,84	5,25
Олександрія	8,36	3,17	7,77	4,00
Білоцерківський ЧС 57	7,65	1,20	10,46	5,85
Уманський ЧС 97	6,04	1,78	10,01	5,74
Софія	9,04	3,32	9,30	7,62
Кварта	8,71	1,78	5,65	5,81
Уманський ЧС 90	7,32	3,16	6,72	7,59
Український ЧС 72	4,52	1,62	8,19	4,34

Розроблення методу експрес-діагностики стану фотосинтетичного апарату рослин цукрових буряків на основі інтенсивності флуоресценції хлорофілу

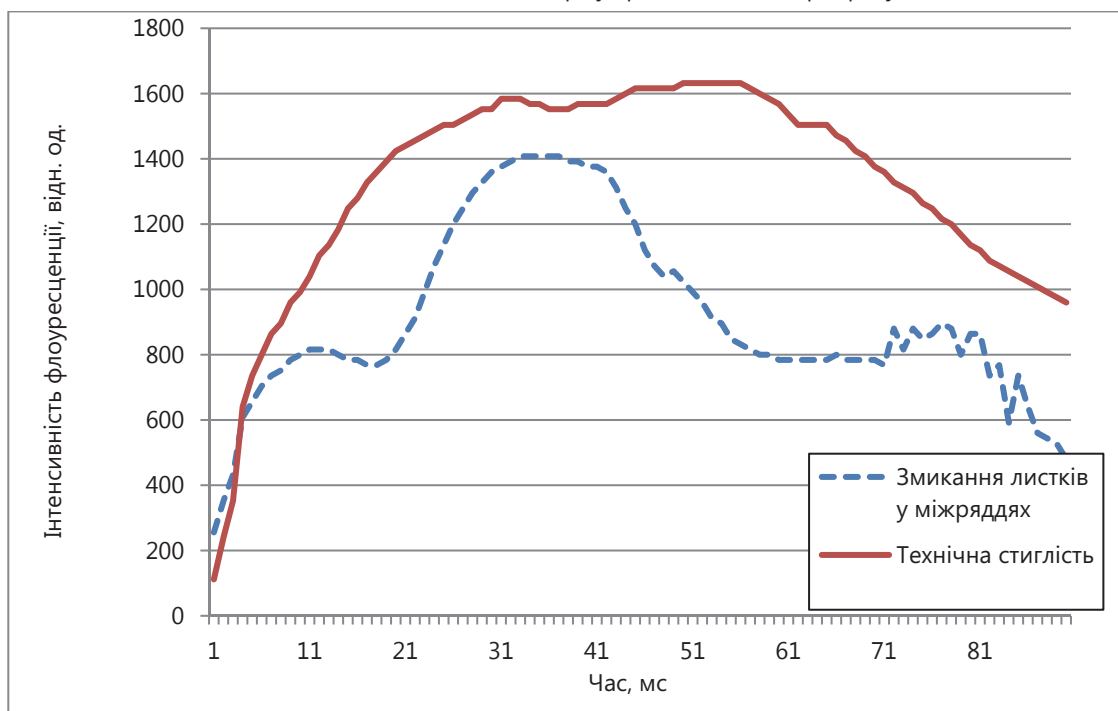


Рис. 2. Інтенсивність флуоресценції хлорофілу гібриду Рамзес залежно від фази розвитку рослин

Максимальний вміст хлорофілу *a* спостерігався у гібриду Рамзес на початок змикання листків у міжряддях (12,11 мг/г), а на момент технічної стиглості вміст хлорофілу *a* на рівні 10,01–10,46 був у гібридів Уманський ЧС 97 та Білоцерківський ЧС 57.

Загалом вміст хлорофілу *b* є меншим, ніж хлорофілу *a* по всіх досліджуваних гібридах, і це співвідношення можна записати як 3,45:1.

На основі проведеної експрес-діагностики індукції флуоресценції хлорофілу встановлено основні параметри кривої ІФХ (табл. 2).

Як впливає з таблиці, основні параметри кривої ІФХ залежать від біологічних особливостей гібридів цукрових буряків і їх можна описати математичним рівнянням.

Розрахунок параметрів кривої індукції флуоресценції хлорофілу дав можливість встановити кореляційну залежність та побудувати рівняння регресії між показниками ІФХ та загальним вмістом хлорофілів у листках гібридів цукрових буряків (рис. 3). Встановлено, що коефіцієнт кореляції між стаціонарним значенням індукції флуоресценції після світлової адаптації листка рослини (F_{st}) та загальним вмістом хлорофілів у листку на момент технічної стиглості є позитивним і високим ($R^2 = 0,82$).

На основі отриманих кривих ІФХ та їхніх числових показників, наведених у таблиці 2 для кожного з обраних гібридів, були обчислені параметри, за якими можна оцінити фізіологічний стан рослин (табл. 3).

Таблиця 2

Основні числові показники ІФХ гібридів цукрових буряків у фазі технічної стиглості

Гібрид	F_0	F_m	F_{st}
Рамзес	112,0	1632,0	1328,2
Ромул	96,0	1104,0	801,4
Олександрія	144,0	1040,0	867,6
Білоцерківський ЧС 57	176,0	896,0	732,8
Уманський ЧС 97	96,0	1296,0	856,5
Софія	96,0	1360,0	977,2
Кварта	64,0	784,0	579,9
Уманський ЧС 90	224,0	880,0	749,2
Український ЧС 72	416,0	928,0	855,8

Таблиця 3

Інформативні параметри кривої ІФХ гібридів цукрових буряків у фазі технічної стиглості

Гібрид	F_v	F_v / F_0	F_v / F_m	$(F_m - F_{st}) / F_{st}$
Рамзес	1520	13,57	0,93	0,23
Ромул	1008	10,50	0,91	0,38
Олександрія	896	6,22	0,86	0,20
Білоцерківський ЧС 57	720	4,09	0,80	0,22
Уманський ЧС 97	1200	12,50	0,93	0,51
Софія	1264	13,17	0,93	0,39
Кварта	720	11,25	0,92	0,35
Уманський ЧС 90	656	2,93	0,75	0,17
Український ЧС 72	512	1,23	0,55	0,08

Розроблення методу експрес-діагностики стану фотосинтетичного апарату рослин цукрових буряків на основі інтенсивності флуоресценції хлорофілу

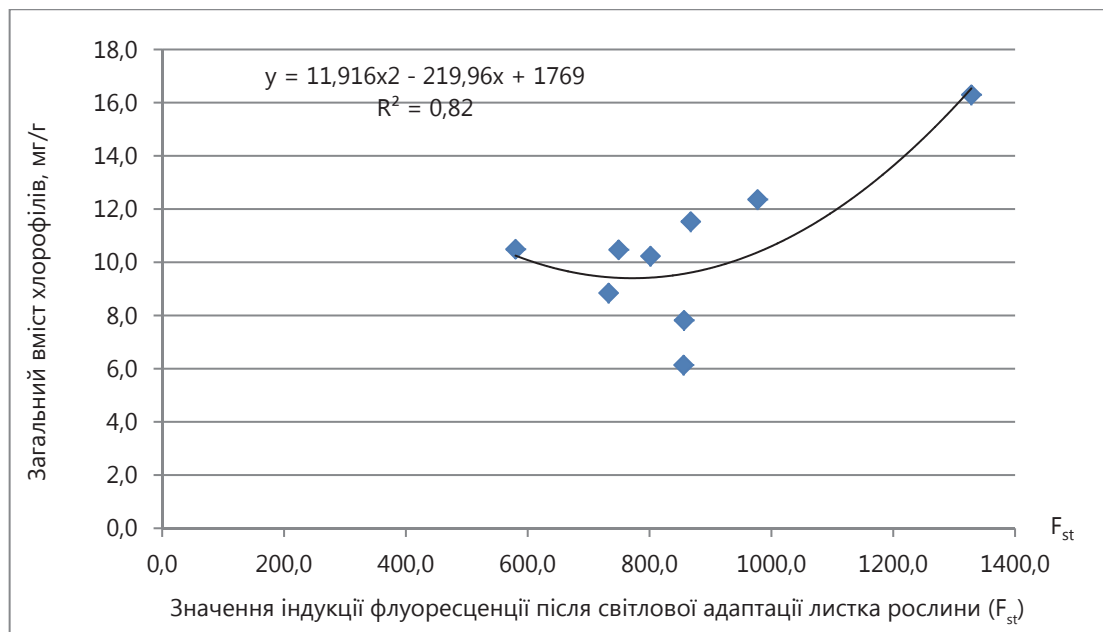


Рис. 3. Кореляційна залежність між стаціонарним значенням індукції флуоресценції після світлової адаптації листка рослини (F_{st}) і загальним вмістом хлорофілів у листку на момент змикання листків у міжряддях

Досліджувані гібриди вирощували в однакових умовах – під впливом однакових абіотичних чинників. Тому отримані відмінності в числових значеннях обчислених параметрів можна пояснити генетичним різноманіттям.

Максимальний початковий вихід фотохімії фотосистеми II (F_v/F_o) характеризує загальну здатність рослини до фотосинтезу. Більшість гібридів характеризуються високим рівнем досліджуваної ознаки в межах від 13,57 (Рамзес) до 10,50 (Ромул). Водночас, гібриди Олександрія, Білоцерківський ЧС 57, Уманський ЧС 90 та Український ЧС 72 мають значно нижчий потенціал фотосинтезу – від 6,22 до 1,23.

Ефективність фотохімічного перетворення енергії у фотосистемі II (F_v/F_m) є показником, чутливим до продуктивності фотосинтезу, він також дає можливість оцінити фотоінгібування, адже в природних умовах інтенсивність сонячного світла значно перевищує квантові потреби фотохімічних процесів у реакціях фотосинтезу, тобто надлиш-

кова енергія інгібує фотосинтез. У гібридів Рамзес, Ромул, Олександрія, Кварта, Софія, Уманський ЧС 97 цей показник є на рівні не менше ніж 0,74, що свідчить про ефективність фотосинтезу. Нижче значення цього показника (Український ЧС 72 – 0,55) свідчить про зниження ефективності фотохімічного перетворення енергії у фотосистемі II.

За кривою ІФХ можна також розрахувати відносний вихід O₂ у розрахунку на хлорофіл [(F_m-F_{st})/F_{st}]. Цей показник у гібриду Уманський ЧС 97 становить 0,51 і є найвищим, а найнижчий – 0,08 – має Український ЧС 72.

Висновки. Застосування методів експрес-діагностики стану фотосинтетичного апарату рослин у технологічному процесі вирощування цукрових буряків дає можливість спрогнозувати перебіг процесів росту й розвитку рослин і рекомендувати проведення додаткових агрозаходів, орієнтуючись на багаторічні дані, що стосуються вирощування цукрових буряків у конкретному господарстві.

ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Корнеев Д. Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла / Д. Ю. Корнеев. – К. : Альтерпрес, 2002. – С. 5.
2. Зуза С. Г. Застосування методу індукції флуоресценції хлорофілу при вивченні впливу некореневого підживлення кукурудзи карбамідом / С. Г. Зуза, Я. А. Погромська, В. О Зуза // Вісник До-
3. Фізіологія рослин. Практикум / [О.В. Войцехівська, А. В. Капустян, О. І. Косик та ін.]; за заг. ред. Т. В. Паршикової. – Луцьк : Терен, 2010. – С. 89.
4. Флуоресцентний аналіз рослин у стресових умовах / [Ю. І. Посудін, Я. В. Кожем'яко, І. А. Залюло,

Розроблення методу експрес-діагностики стану фотосинтетичного апарату рослин цукрових буряків на основі інтенсивності флуоресценції хлорофілу

- О. О. Годлевська] // Перший Всеукр. з'їзд екологів : міжнар. наук.-техн. конф : тези доп. – Вінниця, 2006. – С. 174.
5. Misra A. N. Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology / A. N. Misra, M. Misra, R. Singh // Biophysics. – 2012. – С. 179.
6. Kalaji H. M. Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs / H. M. Kalaji, G. Peiguo // Nova Science Publishers. – 2008. – № 12. – P. 441–442.

УДК 633.6

О. И. Присяжнюк, И. И. Коровко. Разработка метода экспресс-диагностики состояния фотосинтетического аппарата растений сахарной свеклы на основе интенсивности флуоресценции хлорофилла // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин : наук.-практ. журн. – 2014. – № 3 (24). – С. 72–76.

Описана зависимость интенсивности флуоресценции хлорофилла от биологических особенностей гибридов свеклы сахарной и фаз развития растения. Оценены границы точности метода экспресс-диагностики состояния фотосинтетического аппарата растений сахарной свеклы.

Ключевые слова: экспресс-диагностика, интенсивность флуоресценции хлорофилла, свекла сахарная.

UDC 633.6

O. I. Prysiazhniuk, I. I. Korovko. Developing a method of rapid diagnosis of the photosynthetic apparatus status of sugar beet plants based on chlorophyll fluorescence intensity // Sortovyvchennia ta okhorona prav na sorty roslyn : naukovo-praktychnyi zhurnal (Plant Varieties Studying and Protection : journal of applied research). – 2014. – № 3 (24). – P. 72–76.

Chloropyll fluorescence intensity dependence on biological features of sugar beet hybrids and plant growth stages is described. Accuracy of a method of rapid diagnosis of the photosynthetic apparatus status of sugar beet plants are evaluated.

Keywords: rapid diagnosis, chlorophyll fluorescence intensity, sugar beet.

Надійшла 28.03.2014 р.

Шановні автори!

Вимоги до оформлення статей та іншу інформацію розміщено на веб-сайті журналу:
<http://journal.sops.gov.ua/>

Рубрики журналу:

НАЙАКТУАЛЬНІШЕ
СОРТОВИВЧЕННЯ ТА СОРТОЗНАВСТВО
СЕЛЕКЦІЯ ТА НАСІННИЦТВО
РИНОК СОРТІВ
РОСЛИННИЦТВО
БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОБЕЗПЕКА
ОХОРОНА ПРАВ НА СОРТИ РОСЛИН
МІЖНАРОДНЕ СПІВРОБІТНИЦТВО
ІНФОРМАЦІЙНІ СИСТЕМИ ТА ТЕХНОЛОГІЇ
СТОРІНКА МОЛОДОГО ВЧЕНОГО
ІСТОРІЯ НАУКИ

Передплатний індекс видання – 89273