

**ЗМІНА ІНДУКЦІЇ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ХЛОРОФІЛУ У РОСЛИН  
РІПАКУ ОЗИМОГО ЗАЛЕЖНО ВІД МІКРОДОБРІВ**

**Ю. М. САВЧУК**, аспірант\*

**О. Ф. АНТОНЕНКО**, доктор сільськогосподарських наук, професор  
*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*E-mail: juriy.savchuk@gmail.com*

***Анотація.** Досліджено вплив мікродобрив на проходження індукції флуоресценції хлорофілу у рослин ріпаку озимого сорту Снігова королева та Везувій. Зміни в процесі проходження фотосинтезу зумовлюють зміни вигляду кривої Каутського, що дає змогу охарактеризувати стан фотосинтетичного апарату рослин за впливу мікродобрив. Встановлено, що мікродобрива Вуксал Теріос, Мікроплант та Аскофол позитивно впливають на проходження фотосинтезу в рослинах ріпаку озимого. Представлено відмінності між кривими інтенсивності флуоресценції хлорофілу листків ріпаку озимого різних сортів за впливу різних мікродобрив, порівняно з показниками ІФХ ріпаку озимого.*

***Ключові слова:** озимий ріпак, мікродобрива Вуксал, фотосинтетичний апарат, індукція флуоресценції хлорофілу, фотосистема II, біосенсор, крива Каутського*

Визначення впливу різних факторів на стан рослини вимагає застосування експресних та інформативних методів, які б дозволяли проводити аналізи як в лабораторних, так і в польових умовах із мінімальним порушенням цілісності досліджуваних об'єктів. До таких методів належить метод індукції флуоресценції хлорофілу, що широко використовується в сучасних дослідженнях фотосинтетичних процесів. Форма індукційної кривої є чутливою до змін стану фотосинтетичного апарату в результаті дії несприятливих чинників або фізіологічно-активних речовин, наприклад, гербіцидів [5]. Вимірювання не потребують значних затрат часу та реактивів, їх можна проводити не пошкоджуючи нативної структури об'єкту. Завдяки цим перевагам метод індукції флуоресценції набув широко вжитку у дослідженнях фотосинтетичного апарату рослин [1].

---

\*Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук, професор О. Ф. Антоненко

**Мета дослідження** – виявлення зміни стану фотосинтетичного апарату рослин ріпаку озимого за дії на нього різних мікродобрив за допомогою експрес-методу діагностики індукції флуоресценції хлорофілу в польових умовах.

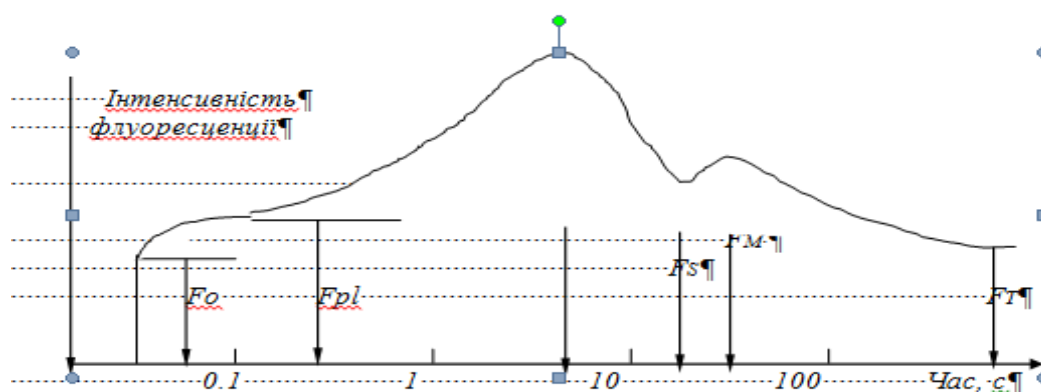
**Об'єкт досліджень** – листки рослин ріпаку озимого сорту Снігова королева та Везувій.

**Матеріали і методи досліджень.** Вплив агробіологічних препаратів на стан фотосинтетичного апарату рослин ріпаку озимого сортів Снігова королева та Везувій вивчали за допомогою портативного біосенсора «Флоратест», розробленого державним науково-інженерним центром мікроелектроніки Інституту кібернетики ім. В.М. Глушкова, який дає змогу реєструвати індукційну криву флуоресценції, за параметрами якої можна з'ясувати перебіг процесів світлової і темної фаз фотосинтезу. Форма індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) чутлива до всіх змін у будь-якій ланці фотосинтезу, спричинених основними факторами навколишнього середовища та ендогенними.

Вивчення змін ІФХ здійснювали у 3-разовому повторенні із 3-хвилинною тривалістю циклу вимірювання. Для проведення вимірів листок рослини розміщували в оптичному блоці. Для цього, натискаючи на спеціальні важелі, утворюють щілину (2-4 мм) між верхньою освітлювальною та нижньою реєструючою частинами. Листок встановлюють проти джерела світла (для цього існують спеціальні позначки). Потім повільно, щоб не ушкодити листок, відпускають важелі. М'які прокладки з темної тканини захищають листок від травмування, запобігають проникненню зовнішнього світла на фотоприймач та ділянку листової поверхні під час адаптації останньої до темряви. Ділянка листка, що використовується для вимірювання, має бути обернена верхньою стороною до джерела світла, на ній повинні бути відсутні товсті жилки. Адаптація до темряви тривала 10 хв., після чого проводилося вимірювання [1, 3]. Отримані результати переносили на персональний комп'ютер, порівнювали

криві з контрольної та дослідної груп, для побудови кривих ІФХ та їх аналізу використано програмний засіб Microsoft Office Excel 2007.

Залежність інтенсивності флуоресценції від часу після початку освітлення називається кривою індукції флуоресценції хлорофілу або індукційною кривою (рис. 1). За допомогою приладу «Флоратест» вдалося зафіксувати кінетику як швидких, так і повільних змін рівня сигналу, та розробити інтерпретацію характерних ділянок індукційних кривих [4].



**Рис. 1 Типова індукційна крива**

Для отримання фізіологічно значущих результатів визначали основні кінетичні параметри:

$F_0$  – фоновий рівень флуоресценції, який залежить від втрат енергії збудження під час міграції пігментною матрицею, а також від вмісту молекул хлорофілу, які не мають функціонального зв'язку з реакційними центрами.

$F_0$ ,  $F_{pl}$  – швидке відновлення QA в комплексах  $ФC_2$ , які не беруть участь у транспорті електронів на пул пластохінонів.

$F_{pl}$ ,  $F_{max}$  – більш повільне відновлення QA в комплексах  $ФC_2$ , які беруть участь у транспорті електронів на пул пластохінонів.

$F_{max}$ ,  $F_{st}$  – активація ферредоксин-НАДФ<sup>+</sup>-редуктази, накопичення градієнту протонів, відокремлення фосфорильованого світлозбираючого комплексу від  $ФC_2$ .

$F_{st}$ ,  $F_{max_2}$  – сповільнення відтоку електронів з електрон-транспортного ланцюга до ферредоксин-НАДФ<sup>+</sup>-редуктази, викликане зменшенням пулу

НАДФ<sup>+</sup> в умовах затримки фіксації вуглекислого газу, а також зменшення градієнту протонів за рахунок активності АТФ-синтетази.

$F_{max2}$ ,  $F_{st}$  – початок активної фіксації вуглекислого газу.

$F_{st}$  – стаціонарний рівень, який характеризується динамічною рівновагою між процесами, які обумовлюють збільшення флуоресценції та процесами, які призводять до її зменшення.

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

$(F_{max}-F_0)/F_{max}=F_v/F_{max}$  – залежить від ефективності фотохімічних реакцій ФС<sub>2</sub>, де  $F_v=F_{max}-F_0$  – варіабельна флуоресценція;

$(F_p1-F_0)/F_v$  – якщо інтенсивність діючого світла достатня для досягнення стану максимальної відновленості QA, у момент досягнення рівня  $F_p$ , тоді параметр  $(F_p1-F_0)/F_v$  відповідає відносній кількості QB-невідновлюючих комплексів ФС<sub>2</sub>, які не беруть участі у лінійному транспорті електронів;

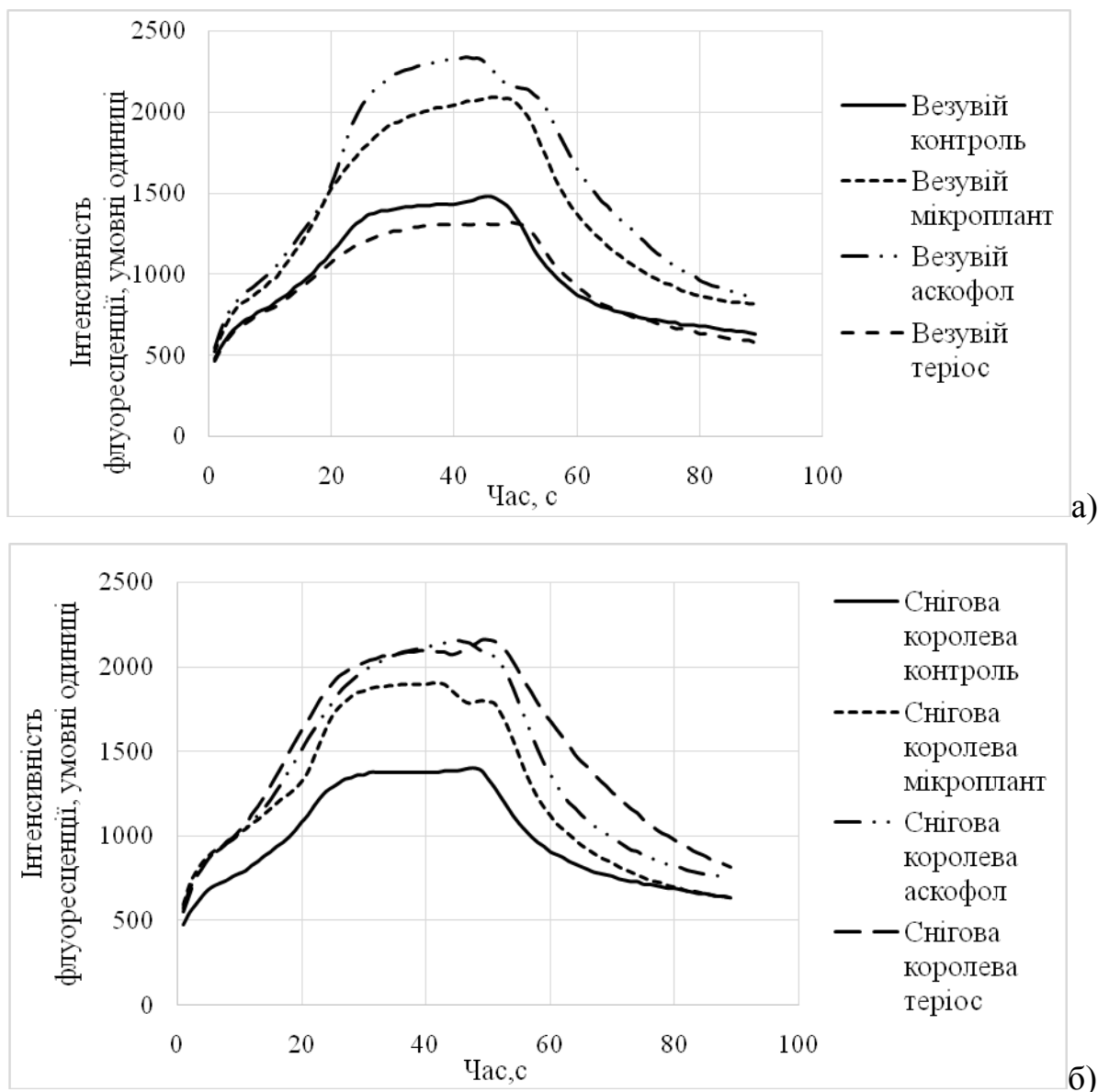
$t_{1/2}$  – час, який відповідає досягненню половини варіабельної флуоресценції;

$(F_{max}-F_{st})/F_{st}$  – величина гасіння флуоресценції, на яку впливають як фотохімічні (фіксація CO<sub>2</sub>), так і нефотохімічні процеси (теплова дисипація енергії збудженого стану молекул хлорофілу);

$(F_{max2}-F_{st})/F_{st}$  – корелює з інтенсивністю темної фіксації вуглекислого газу[1].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Флуоресценція хлорофілу це – показник, що дозволяє досліджувати в живих об'єктах протікання фотохімічних реакцій, пов'язаних з роботою фотосистеми 2 (ФС<sub>2</sub>) вищих рослин системи, найбільш чутливої до факторів зовнішнього середовища. Результати таких досліджень сприяють більш глибокому розумінню регуляторних механізмів, що забезпечують ефективне перетворення енергії в первинних і наступних стадіях фотосинтезу[6].

Часова залежність інтенсивності флуоресценції хлорофілу ріпаку озимого мала характерний вигляд кривої з максимумом, що графічно відображає ефект Каутського (рис. 2 а, б ). Зміни у будь-якій ланці фотосинтезу зумовлюють зміни вигляду кривої, що дає змогу діагностувати поточний стан фотосинтетичного апарату рослин за впливу різних стресових чинників.



**Рис.2. Індукційні зміни кривих флуоресценції хлорофілу листків ріпаку озимого сортів: а) Везувій, б) Снігова Королева за різних мікродобрив**

За даними Д. Ю. Корнеєва [7]  $F_0$  (рівень флуоресценції хлорофілу, котра випромінюється комплексами ФС 2 з «відкритими» реакційними центрами) залежить від втрат енергії збудження під час її міграції пігментною матрицею світлозбиральних комплексів. З рисунку 2 видно, що в озимого ріпаку сортів

Снігова Королева та Везувій за дії мікродобрив Вуксал Мікроплант, Аскофол і Теріос спостерігалось зростання інтенсивності фонові флуоресценції ( $F_0$ ) порівняно з контролем, що зумовлено збільшенням кількості неактивного хлорофілу, який не передає енергію збудження до реакційних центрів. Більш інтенсивне зростання фонові флуоресценції спостерігалось у сорту Снігова Королева за дії мікродобрив Вуксал Мікроплант, Аскофол, Теріос. Цей показник зріс порівняно з контролем відповідно на 25,4%, 20,33%, 16,94%, тоді як у рослин ріпаку сорту Везувій за дії тих самих мікродобрив він зріс відповідно на 8,3%, 13,3%, 0,2% (табл.1).

### 1. Показники ІФХ листків ріпаку озимого за дії різних мікродобрив

Варіанти	Показники ІФХ, умовні одиниці							
	$F_0$	$F_{pl}$	$F_{max}$	$F_{st}$	$F_v$	$F_v/F_{max}$	$K_{pl}$	$K_i$
Везувій контроль	<b>480,00</b>	<b>760,00</b>	<b>1480,00</b>	<b>632,00</b>	<b>1000,00</b>	<b>0,68</b>	<b>0,28</b>	<b>0,57</b>
Везувій мікроплант	520,00	848,00	2088,00	816,00	1568,00	0,75	0,21	0,61
Везувій аскофол	544,00	944,00	2336,00	856,00	1792,00	0,77	0,22	0,63
Везувій теріос	481,00	768,00	1320,00	576,00	839,00	0,64	0,34	0,56
Снігова Королева контроль	<b>472,00</b>	<b>720,00</b>	<b>1400,00</b>	<b>632,00</b>	<b>928,00</b>	<b>0,66</b>	<b>0,27</b>	<b>0,55</b>
Снігова Королева мікроплант	592,00	904,00	1904,00	632,00	1312,00	0,69	0,24	0,67
Снігова Королева аскофол	568,00	952,00	2152,00	744,00	1584,00	0,73	0,24	0,65
Снігова Королева теріос	552,00	928,00	2160,00	816,00	1608,00	0,74	0,23	0,62

Разом з тим у рослин ріпаку озимого сорту Везувій за дії мікродобрив Вуксал Мікроплант та Аскофол і рослин сорту Снігова Королева за добривами Вуксал Аскофол й Теріос значно збільшився стаціонарний рівень флуоресценції ( $F_{st}$ ), який характеризувався динамічною рівновагою між процесами, які обумовлюють збільшення флуоресценції.

В кінетиці індукційних переходів флуоресценції хлорофілу знаходять своє відображення процеси як світлової, так і темної фази фотосинтезу. В контрольних рослин ріпаку озимого варіабельна флуорисценція була нижчою ніж у рослин, які вирощувались з мікродобривами, це говорить про перехід більшої частини хлорофілів у неактивну форму в контрольних рослин, також параметр  $F_V/F_{\max}$  у контрольних рослин був нижчий, ніж у рослин з мікродобривами, що вказує на слабке проходження фотохімічних реакцій ФС 2.

У ріпаку озимого сорту Снігова королева за застосування мікродобрив Вуксал Аскофол та Теріос спостерігалось збільшення показника  $F_V/F_{\max}$  порівняно з контролем на 12,2% та 10,6%, що свідчить про значне стимулювання фотосинтетичного апарату листя ріпаку під впливом мікродобрив. Також спостерігалось стимулювання проходження фотосинтезу у ріпаку озимого сорту Везувій за дії мікродобрив Вуксал Мікроплант та Аскофол, показник  $F_V/F_{\max}$  зріс відповідно на 10,3% та 11,76 %.

Як тестовий показник для ранньої діагностики рекомендується використовувати коефіцієнт  $K_{pl} = (F_{pl} - F_0) : (F_{\max} - F_0)$  під час визначення наявності вірусної інфекції у дослідних рослинах. Значення  $K_{pl} \geq 0,4, 0,5$  свідчить про наявність інфекції та суттєво збільшує вірогідність виявлення вірусних уражень порівняно з візуальним спостереженням [8]. У рослин ріпаку озимого сорту Везувій та Снігова королева показник  $K_{pl}$  знаходиться у межах 0,28-0,27, що говорить про здоровий стан рослин. У рослин, які вирощувались на мікродобривах показник  $K_{pl}$  спадав, що ще раз доводить позитивний вплив мікродобрив на фотосинтетичний апарат ріпаку озимого. Відзначимо також збільшення коефіцієнта індукції флуоресценції  $K_i = (F_{\max} - F_{st}) / F_{\max}$ , який характеризує ефективність перебігу темнових фотосинтетичних процесів і, передусім, активності рибульозобіфосфат карбоксилази основного ферменту циклу Кальвіна.

## Висновки

1. За допомогою методу індукції флуоресценції хлорофілу було охарактеризовано вплив мікродобрив на фотосинтетичні процеси ріпаку озимого.

2. Мікродобрива Вуксал Теріос, Аскофол та Мікроплант стимулювали проходження фотосинтетичних реакцій у озимого ріпаку сортів Везувій та Снігова Королева.

3. Більш інтенсивне зростання фонові флуорисценції спостерігалось у сорту Снігова Королева за дії мікродобрив Вуксал Мікроплант, Аскофол, Теріос. Цей показник зріс порівняно з контролем відповідно на 25,4%, 20,33%, 16,94%, тоді як у рослин ріпаку сорту Везувій за дії тих самих мікродобрив він зріс відповідно на 8,3%, 13,3%, 0,2 %.

4. У ріпаку озимого сорту Снігова Королева застосування мікродобрив Вуксал Аскофол та Теріос спостерігалось збільшення показника  $F_V/F_{max}$  порівняно з контролем на 12,2% та 10,6%, що свідчить про значне стимулювання фотосинтетичного апарату листя ріпаку під впливом мікродобрив. Також спостерігалось стимулювання проходження фотосинтезу у ріпаку озимого сорту Везувій за дії мікродобрив Вуксал Мікроплант та Аскофол. Показник  $F_V/F_{max}$  зріс відповідно на 10,3% та 11,76%.

5. У рослин ріпаку озимого сорту Везувій та Снігова королева показник  $KrI$  знаходиться у межах 0,28-0,27, що говорить про здоровий стан рослин.

## Список літератури

1. Брайон, О. В. Інструментальне вивчення фотосинтетичного апарату за допомогою індукції флуоресценції хлорофілу: Методичні вказівки для студентів біологічного факультету/ [О.В. Брайон, Д.Ю. Корнеєв, О.О. Снегур, О. І. Китаєв]. – Київ:Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2000 .– 15 с.

2. Современные методы биофизических исследований : практикум по биофизике / А. А. Булычев [и др.]; под ред. А. Б. Рубина. – Москва : Высшая школа, 1988. – 359 с.



3. 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.
4. Москвин, О. В. Индукция флуоресценции хлорофилла в листьях клевера, выращенного при различном азотном питании и различных интенсивностях света / О. В. Москвин, Н. С. Новичкова, Б. Н. Иванов // Физиология растений. – 1998. – Т. 45, №3. – С. 413-418.
5. Strasser, R. J. The fluorescence ransient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples /R. J. Strasser, A. Srivastava, M. Tsimilli-Michael// in Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation & Adaptation. Ed. Mohanty, Yunus and Parthre.–London: «Taylor & Francis», 1998. – P.1-59.
6. 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 Донецького Національного Університету. Сер. А: Природничі науки. – 2010.–№ 2. – С. 238-243.
7. Корнеев, Д. Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла /Д. Ю. Корнеев. — К.: «Альтерпрес», 2002. – 188 с.
8. Сарахан, Є. В. Особливості практичного застосування портативних біосенсорних приладів сімейства «флоратест» / Є. В. Сарахан // Комп'ютерні засоби, мережі та системи. – 2011. – № 10. – С. 94-103.

### References

1. Braion, O. V., Kornieiev, D. Iu., Sniehur, O. O., Kytaiev, O. I. (2000). Instrumentalne vyvchennia fotosyntetychnoho aparatu zadopomohoiu induktsii fluorestsentsi i khlorofilu: Metodychni vkazivky dlia studentiv biolohichnoho fakultetu [Instrumental study photosynthetic apparatus using chlorophyll fluorescence induction Guidance for students of biological faculty]. Kyiv, Ukraine: Publishing and printing center «Kyiv University», 15.
2. Rubin, A. B. ed. (1988). Sovremennye metody byofyzycheskykh yssledovanyi : praktykum po byofyzyke [Modern methods of biophysical research: Work shop on Biophysics]. Moscow: High school, 359.
3. Karapetian, N. V. (1986) Peremennaia fluorestsentsyia khlorofylla kak pokazatel fyzyolohycheskoho sostoianiya rastenyi [Variable chlorophyll fluorescence as an indicator of physiological state of plants]. Plant Physiology, V. 33, 5, 1013-1026.
4. Moskvyn, O. V. (1998) Ynduktsyia fluorestsentsyy khlorofylla v lystia khklevera, viurashchennoho pry razlychnom azotnom pytanyu y razlychnykh yntensyvnostiakh sveta [The induction of chlorophyll fluorescence in leaves of clover grown at different nitrogen nutrition and different light intensities]. Plant Physiology, V. 45, 3, 413-418.
5. Strasser, R. J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. (1998). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. London: «Taylor & Francis», 1-59.

6. Zuza, S.H., Pohromska, Ia. A., Zuza, V. O. (2010). Zastosuvannia metodu induktsii fluorestsentsii khlorofilu pry vyvchenni vplyvu nekorenevoho pidzhyvlennia kukurudzy karbamidom [Application of chlorophyll fluorescence induction at studying the effect of foliar feeding cornurea]. Bulletin of Donetsk National University. Series A: Natural Sciences, 2, 238-243.

7. Korneev, D. Y. (2002). Ynformatsyonnie vozmozhnomy metoda ynduktsyy fluorestsentsyy khlorofylla [Information possibilities of the method of chlorophyll fluorescence induction]. «Alterpres», 188.

8. Sarakhan, Ie. V. (2011). Osoblyvosti praktychnoho zastosuvannia portatyvnykh biosensornykh pryladiv simeistva «floratest» [Features practical application of a portable biosensor device family «Floratest»]. Computer means, networks and systems, 10, 94-103.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В РАСТЕНИЯХ РАПСА ОЗИМОГОВ ЗАВИСИМОСТИ ОТ МИКРОУДОБРЕНИЙ**

**Ю. М. Савчук, А. Ф. Антоненко**

***Аннотация.** Исследовано влияние микроудобрений на прохождение индукции флуоресценции хлорофилла в растениях рапса озимого сорта Снежная Королева и Везувий. Изменения в процессе прохождения фотосинтеза обуславливают изменения вида кривой Каутского, что позволяет охарактеризовать состояние фотосинтетического аппарата растений при воздействии микроудобрений. Установлено, что микроудобрения Вуксал Териос, Микроплант и Аскофол положительно влияют на прохождение фотосинтеза в растениях рапса озимого. Представлены различия между кривыми интенсивности флуоресценции хлорофилла листьев рапса озимого разных сортов по влиянию различных микроудобрений по сравнению с показателями ИФХ рапса озимого.*

***Ключевые слова:** озимый рапс, микроудобрения Вуксал, фотосинтетический аппарат, индукция флуоресценции хлорофилла, фотосистемы II, биосенсор, кривая Каутского*

## **INDUCTION OF FLUORESCENCE OF CHLOROPHYLL IN PLANTS WINTER RAPE, DEPENDING ON MICROFERTILIZERS**

**Y. M. Savchuk, O. F. Antonenko**

***Abstract.** The effect of micronutrients on the passage of chlorophyll fluorescence induction in plants of winter rape varieties Snihova Koroleva and Vezuvii. Changes in the process of passing of photosynthesis are responsible for changing the type of Kautsky curve that allows us to characterize the state of the photosynthetic apparatus of plants under the influence of micronutrients. It was found that micronutrient WuxalTerios, Mikroplant Askofol and positive effect on the*

*passage of photosynthesis in plants of winter rape. Presents the differences between the curves of leaf chlorophyll fluorescence intensity of winter rapeseed varieties on the effect of various different micronutrients as compared with the IPC winter rape.*

**Key words:** *winter rape, microfertilizer Wuxal, photosynthetic apparatus, the induction of chlorophyll fluorescence, photosystem II of, biosensor, Kautsky curve*