

Глава 6.

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК: 633.72:581.11

doi: 10.31360/2225-3068-2022-80-103-110

**УРОВЕНЬ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА
В РАСТЕНИЯХ МАНДАРИНА ПРИ НЕКОРНЕВЫХ
ОБРАБОТКАХ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА**

Василейко М.В. Белоус О.Г.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр
Российской академии наук»,
г. Сочи, Россия; e-mail: mvasileyko@gmail.com*

В статье представлены данные оценки стрессовой реакции растений мандарина по параметрам сигнала флуоресценции хлорофилла на фоне применения регуляторов роста. Показано, что потенциальная активность фотосинтеза (F_m/F_T) у растений на опытных участках находится на достаточном уровне в среднем от 1,87 (в ботаническом саду «Дерево дружбы») до 1,93 единиц (на плантации опытно-технологического отдела) при практически равных показателях фотосинтетической активности (K_f_T) – 0,41–0,47 единиц. Погодные условия и уровень агротехники влияет на состояние растений, так в посадках ботанического сада на фоне регулярного полива уровень жизнеспособности в течение вегетации был достаточно выровненным и к концу августа возрос в 1,5–1,9 раза. В то время, как на плантации опытно-технологического отдела уровень жизнеспособности ниже, чем у растений в ботаническом саду. Таким образом, некорневые обработки регуляторами роста можно использовать для оптимизации состояния растений и активацию их адаптивных реакций на гидротермический стресс.

Ключевые слова: мандарины, регуляторы роста, флуоресценция хлорофилла, уровень жизнеспособности, фотосинтетическая активность, устойчивость.

Как известно, структурные параметры листа являются основой, которая обеспечивает протекание физиологических процессов [9]. Ещё А.Т. Мокронос в своих работах [цит. по 3] показал, что изменение анатомической структуры листа является одним из путей регуляции фотосинтеза. В стрессовых условиях у растений наблюдается снижение фотосинтетических функций ассимиляционного аппарата, что вызывает не только ухудшение морфометрических характеристик растений (снижается число листьев, их площадь, толщина и масса), но и

нарушается синтез фотосинтетических (пластидных) пигментов [2, 7]. Это приводит к угнетению процесса фотосинтеза, нарушению функционального состояния растений, их продуктивности и качественных характеристик плодов [14].

В этой связи, надежным источником информации о состоянии растения является фотосинтетический аппарат и его реакция на стрессовое воздействие. Одним из наиболее информативных методов мониторинга, основанных на измерении биофизических характеристик растений, является анализ флуоресценции хлорофилла [1, 2, 5, 10]. Флуоресценция возбуждается в синей области спектра (470 нм), регистрируется кривая медленной индукции флуоресценции хлорофилла (МИФХ) и на её базе определяются параметры фотосинтетического преобразования световой энергии в растительной клетке [3, 11, 15]. Полученные показатели позволяют судить о функциональном состоянии фотосинтезирующих тканей и всего растения в целом.

Характер изменения первичных стадий фотосинтеза непосредственно отражается в изменении флуоресценции хлорофилла в фотосинтетических мембранах клеток. Исследования флуоресценции дают важную информацию, касающуюся характера активности фактора внешней среды по воздействию на параметры фотосинтеза, применимую не только для оценки устойчивости растений, но и для анализа применимости различных агромероприятий [2–4, 6, 8, 12, 13].

В связи с этим, **была поставлена цель** – изучить уровень флуоресценции хлорофилла *a* и фотосинтетическую активность листовых тканей на фоне применения регуляторов роста при культивировании мандарина в условиях влажных субтропиков России.

Объекты и методы исследований. Объектами исследования служили растения мандарина карликового сорта ‘Миагава-Васе’ посадки 1986 г., привитого на *Poncirus trifoliata*. Опыт заложен в неконтролируемых условиях (рекомендуемый агрофон, осуществление защитных мероприятий, но отсутствие регулярного полива) в 2019 г. на плантации мандарина опытно-технологического отдела (ОТО) и продублирован в контролируемых условиях (рекомендуемый агрофон, осуществление защитных мероприятий и наличие регулярного полива) на базе ботанического сада «Дерево Дружбы» в 2020 г.

В качестве регуляторов роста растений использованы следующие препараты: обстактин – эталон (5 мл/1 л воды); наноэлиситор (5 мл/1 л воды); силиплант (5 мл/1 л воды) и зеребра агро (5 мл/1 л воды). Норма расхода – 0,4 л/га; расход рабочего раствора – 1 000 л/га. Контроль (обработка растений водой).

Все выбранные препараты относятся к агрохимикатам с антистрессорным и протекторным действием:

Обстактин – относится к фитогормонам ауксинового типа; действующим веществом является альфа-нафтилуксусная кислота;

Силиплант – хелатное микроудобрение с высоким содержанием биоактивного кремния и комплексом микроэлементов в доступной хелатной форме;

Наноэлиситор – представляет собой экстракт активных метаболитов *Chaetomium curvum* CC3003 и нанохитозана (). Наноэлиситор зарегистрирован компанией «Нано-мокаби» BioAgriTech (Вьетнам) и предоставлен для проведения научных исследований Д-р Касемом Сойтонг (Таиланд) в рамках договора о сотрудничестве.

Зеребра Агро – регулятор роста с фунгицидным эффектом на основе коллоидного серебра.

Повторность полевого опыта – 3-кратная, за однократную повторность принято 3 дерева (на плантации ОТО), в ботаническом саду – 1 дерево. Повторность лабораторных анализов – четырёхкратная. Некорневые обработки проводили двукратно: первая – в начале вегетации после окончания массового цветения (вторая декада мая – первая декада июня); вторая – за 30 дней до созревания плодов. Обработки регуляторами роста проводятся на фоне внесения минеральных удобрений.

Оценку функционального состояния фотосинтетического аппарата вели по параметрам медленной индукции флуоресценции хлорофилла на портативном хлорофилл-флуориметре LPT-3CF/RT-Df (Россия) согласно методике, разработанной Будаговской О.Н. и Будаговским А.В. [2]. Экспериментальный материал (физиологически вызревший лист) собирали с 8.00 до 9.00 часов, 1 раз в 2 недели с июня по август, перед измерением проводили темновую адаптацию объектов, для чего листья помещали в условия низкой освещённости (менее 50 Лк) на 15–20 минут при температуре 20–25 °С.

Анализ метеоусловий вегетационного периода и периода исследований 2019–2020 гг. вели по данным www.pogodaklimat.ru.

Для оценки статистических величин проведён анализ с применением пакета ANOVA в STATGRAPHICS Centurion XV (версия 15.1.02, StatPoint Technologies) и MS Excel 2007. Статистический анализ включал одномерный дисперсионный анализ (метод сравнения средних с использованием дисперсионного анализа, t-критерий). Статистически значимой принята значимость различия между средними значениями при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Метод оценки функционального состояния фотосинтетического аппарата по измерению параметров медленной индукции флуоресценции хлорофилла даёт возможность быстро оценить реакцию фотосинтетического аппарата на действие факторов среды, в том числе на условия культивирования, в нашем случае – на применение регуляторов роста.

Мы оценивали основные параметры флуоресценции, как показателя, косвенно связанного с ассимиляционной деятельностью: уровень жизнеспособности (F_m/F_T), показатель фотосинтетической активности по алгоритму экстраполяции (K_f_T), показатель фотосинтетической активности, рассчитанный в каждый текущий момент измерений (K_f_n).

В таблицах 1 и 2 не только представлены основные диагностические параметры, но и уровень варибельности показателей в течение вегетации (V , %). Но так как коэффициент вариации показывает только изменчивость показателя внутри варианта, нами проведен расчёт изменчивости показателей с применением дельта-метода (Δ , %), что даёт возможность оценить быстроту реакции растений на тот или иной стресс и вектор её направления.

Таблица 1

**Функциональное состояние
фотосинтетического аппарата растений при обработках
регуляторами роста, 2019–2020 гг.,
Опытно-технологический отдел ФИЦ СЦ РАН**

Вариант	Параметры медленной индукции флуоресценции хлорофилла								
	F_m/F_T			K_f_T			K_f_n		
	ед.	V , %	Δ , %	ед.	V , %	Δ , %	ед.	V , %	Δ , %
Контроль	1,96 ±0,53	27	-65,1	0,45 ±0,12	28	-19,3	0,43 ±0,12	27	-18,8
Обстактин	1,89 ±0,53	28	13,9	0,43 ±0,12	27	5,10	0,41 ±0,11	27	3,9
Силиплант	1,91 ±0,66	34	6,60	0,42 ±0,12	29	2,6	0,40 ±0,11	28	2,8
Наноэлизитор	2,04 ±0,76	38	8,50	0,45 ±0,13	28	0,5	0,42 ±0,12	28	1,6
Зеребра-Агро	1,85 ±0,35	19	18,5	0,44 ±0,09	20	6,2	0,42 ±0,09	21	6,6

Как видно из данных, представленных в таблицах 1 и 2, потенциальная активность фотосинтеза (F_m/F_T – т. н. уровень жизнеспособности) у растений на обоих участках находится на достаточном уровне и колеблется в среднем от 1,87 (в ботаническом саду «Дерево дружбы») до 1,93 единиц (на плантации опытно-технологического отдела) при практически равных показателях фотосинтетической активности (K_f_T) – 0,41–0,47 единиц.

Таблица 2

**Функциональное состояние
фотосинтетического аппарата растений при обработках
регуляторами роста, 2020 г.,
Ботанический сад «Дерево Дружбы» ФИЦ СНЦ РАН**

Вариант	Параметры медленной индукции флуоресценции хлорофилла								
	Fm/F _T			Kf _T			Kf _n		
	ед.	V, %	Δ, %	ед.	V, %	Δ, %	ед.	V, %	Δ, %
Контроль	1,87 ±0,48	26	106,5	0,43 ±0,10	24	21,6	0,41 ±0,10	23	20,1
Обстактин	1,81 ±0,52	29	130,7	0,41 ±0,13	32	34,3	0,40 ±0,13	31	32,6
Силиплант	1,97 ±0,38	19	90,6	0,47 ±0,09	19	20,0	0,45 ±0,08	18	19,6
Нанозелистор	1,89 ±0,61	32	144,7	0,43 ±0,12	29	30,6	0,41 ±0,11	28	28,2
Зеребра-Агро	1,83 ±0,58	32	132,8	0,42 ±0,13	32	30,2	0,40 ±0,13	31	29,5

Коэффициент вариации у растений обоих участков на всех вариантах изменяется в пределах от 19 до 38 %.

Уровень жизнеспособности (Fm/F_T), который рассматривается как мера потенциальной активности фотосинтеза, может составлять около 2,5 единиц или выше, что указывает на высокую активность фотосинтеза, в то время как значения ниже 1,0 позволяют предположить, что процесс ассимиляции CO₂ подавлен [2, 3, 10].

В то же время, коэффициент фотосинтетической активности (Kf_n) ниже оптимального показателя, что свидетельствует о наличии некоторого стресса у опытных растений. Как известно, у растений в норме эффективность утилизации света при фотосинтезе (т. н. коэффициент фотосинтетической активности – Kf_n) составляет 0,6 единиц и выше, при стрессах различного происхождения снижается пропорционально ослаблению фотосинтетической функции. Не случайно нами применен дельта-метод, который позволяет адекватно проанализировать процессы, идущие в растении. Отрицательные значения коэффициента дельта (Δ, %) показывают, что на плантации мандарин, расположенной в ОТО (табл. 1) на контрольном варианте к августу, идёт снижение параметров медленной индукции флуоресценции хлорофилла, что может свидетельствовать о более угнетённом состоянии растений и снижении их жизнеспособности.

В посадках мандарин, расположенных в ботаническом саду, коэффициент дельта имеет положительный вектор (табл. 2), при этом наиболее высокие значения Δ на варианте с обработкой обстактином

указывают на более быструю реакцию растений в ответ на изменение условий выращивания.

Проведён анализ динамики интегрального показателя – потенциальной активности фотосинтеза (уровня жизнеспособности), который показал, что характер изменений тесно связан не только с погодными условиями (температура воздуха и количество осадков), но и с наличием/отсутствием полива на плантации. В данной статье на графике 1 для наглядности и возможности сравнения нами представлены результаты одного 2020 г. исследований (рис. 1).

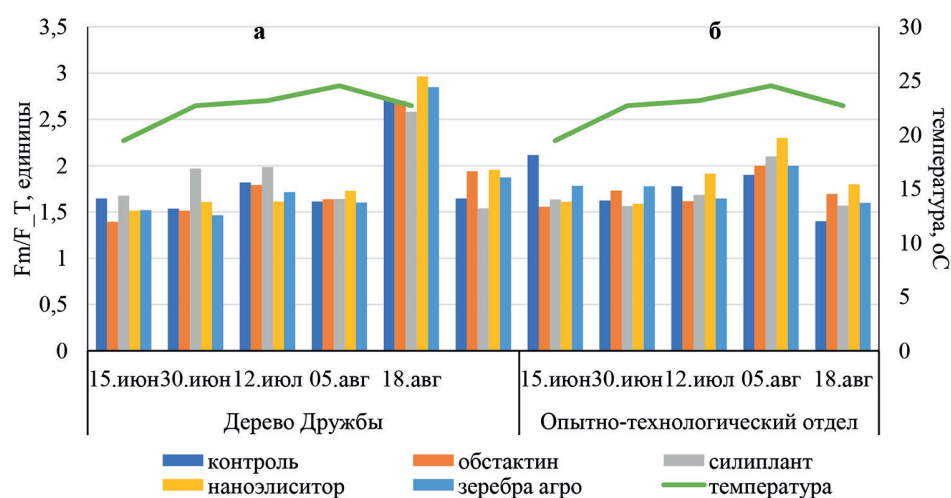


Рис. 1. Динамика потенциальной активности фотосинтеза (уровень жизнеспособности) растений мандарина в период вегетации 2020 г.

Температура с июня по август колебалась от 19,4 до 24,5 °С, при неравномерном распределении осадков. В период с 10 по 15 августа выпало всего 8 мм осадков, в то время как к 30 июня их количество увеличилось, составив в сумме 75 мм/месяц. В дальнейшем, с июля по вторую декаду августа, практически ежедневно выпадало от 1 до 2 мм, что суммарно составило 11–12 мм/месяц. Все это повлияло на фотосинтетический потенциал.

Как видно из представленного графика, в посадках ботанического сада (а) на фоне регулярного полива состояние растений было достаточно выровненным и к концу августа уровень жизнеспособности, характеризующий потенциальную активность фотосинтеза, возрос в 1,5–1,9 раза (рис. 1а), что предположительно связано с накопительным эффектом применяемых регуляторов роста. В то время, как на плантации опытно-технологического отдела (б) уровень жизнеспособности ниже, чем у растений в ботаническом саду (рис. 1б). И уже ко второй

декаде августа на фоне повышенных температур, длительного периода водного дефицита в условиях отсутствия полива и активных процессов плодообразования, наблюдается снижение фотосинтетической активности и резкое угнетение растений. На контрольном варианте этот процесс более выражен – 1,4 единицы при 2,1 единице в июне.

Заключение. Таким образом, нами определена динамика уровня флуоресценции хлорофилла в растениях мандарина при некорневых обработках регуляторами роста. Показано, что на протяжении всего периода наблюдений некорневые обработки обстактином и наноэлиситором показали себя более эффективными как на плантации опытно-технологического отдела, так и в посадках ботанического сада «Дерево Дружбы». Потенциальная активность фотосинтеза у растений мандарина находится на достаточном уровне (в среднем от 1,87 до 1,93 единиц). На варианте с обработкой обстактином высокие значения коэффициента дельта (Δ , %) у показателей фотосинтетической активности (Kf_n и Kf_T) указывают на более быструю реакцию растений в ответ на изменение условий выращивания. Таким образом, можно предположить, что некорневые обработки регуляторами роста влияют на состояние растений и их адаптивные реакции на гидротермический стресс.

*Публикация подготовлена в рамках реализации
ГЗ ФИЦ СЦ РАН № 0492-2021-0007*

Библиографический список

1. Будаговская О.Н. Новые оптические методы и приборы количественной оценки адаптивного потенциала садовых растений // Плодоводство и ягодоводство России. – 2001. – Т. 28. – С. 74-79. – ISSN 2073-4948.
2. Будаговская О.Н., Будаговский А.В., Будаговский И.А., Гончаров С.А. Комплексная диагностика функционального состояния растений // Научные основы эффективного садоводства: тр. ВНИИС им. И.В. Мичурина. – Воронеж: Кварта, 2006. – С. 101-110.
3. Гольцев В. Н., Каладжи М. Х., Кузманова М. А., Аллахвердиев С. И. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла *a* – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений. – М.-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2014. – 220 с. – ISBN 978-5-4344-0180-7.
4. Гунар Л.Э., Мякинков А.Г., Караваев В.А. Изменения флуоресцентных и физиологических показателей растений ячменя под действием эпина, циркона и гиббереллина // Вестн. Московского государственного университета леса (Лесной вестник). – 2004. – Т. 34. – С. 132-136.
5. Зульфугаров И.С., Пашаева А., Охлопкова Ж.М., Ли Ч.-Х. Практическое руководство по измерению уровня флуоресценции хлорофилла в растениях и расчёту основных параметров флуоресценции хлорофилла // Вестник СВФУ. – 2018. – № 2 (64). – С. 35-44. – <https://doi.org/10.25587/SVFU.2018.64.12129>.
6. Калмацкая О.А., Караваев В.А., Гунар Л.Э., Мякинков А.Г. Люминесцентные и физиологические показатели растений тритикале после обработки семян регуляторами роста // Биофизика. – 2015. – Т. 60. – № 1. – С. 169-172. – ISSN 0006-3029.
7. Лысенко В.С., Вардуни Т.В., Соьер В.Г., Краснов В.П. Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теоретические основы применения метода // Biological Sciences. – 2013. – № 4. – С. 112-120.

8. Москвин О.В., Новичкова Н.С., Иванов Б.Н. Индукция флуоресценции хлорофилла *a* в листьях клевера, выращенного при различном азотном питании и различных интенсивностях света // Физиология растений. – 1998. – Т. 45. – № 3. – С. 413-418.
9. Ничипорович А.А. Фотосинтетическая деятельность растений как основа их продуктивности в биосфере и земледелии // Фотосинтез и продукционный процесс. – М.: Наука, 1988. – С. 5-28. – ISSN 0015-3303.
10. Baake E., Schloder J. P. Modelling the fast fluorescence rise of photosynthesis // Bull Math Biol. – 1992. – Vol. 54. – P. 999-1021
11. Baker N.R. (2008) Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo* // Annu Rev Plant Biol. – 2008. – Vol. 59. – P. 659-668
12. Foyer C., Furbank R., Harbinson J., Horton P. The mechanisms contributing to photosynthetic control of electron transport by carbon assimilation in leaves // Photosynth. Res. – 1990. – Vol. 25. – P. 83-100.
13. Genty B., Briantais J. M. and Baker N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence // Biochim Biophys Acta. – 1989. – Vol. 990. – P. 87-92.
14. McCree K.J. The action spectrum, absorptance and quantum yield of photosynthesis in crop plants // Agric Meteorol. – 1972. – Vol. 9. – P. 191-216.
15. Stirbet A., Govindjee. Chlorophyll *a* fluorescence induction: a personal perspective of the thermal phase, the J-I-P rise // Photosynth Res. – 2012. – Vol. 113. – P. 15-61. – <https://doi.org/10.1007/s11120-012-9754-5>.

THE LEVEL OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE IN MANDARIN PLANTS DURING NON-ROOT TREATMENTS WITH GROWTH REGULATORS

Vasileyko M.V., Belous O.G.

*Federal Research Centre
the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences,
Sochi, Russia; e-mail: oksana191962@mail.ru*

The paper presents data on the assessment of mandarin plants' stress response by the parameters of the chlorophyll fluorescence signal against the background of growth regulators use. It is shown that the potential activity of photosynthesis (FM/F_T) in plants on experimental plots is at a sufficient level, on average from 1.87 (in the botanical garden «Friendship Tree») to 1.93 units (on the plantation of the experimental technology department) with almost equal indicators of photosynthetic activity (KF_T) – 0.41–0.47 units. Weather conditions and the level of agricultural technology affect the condition of plants, so in the plantings of the botanical garden against the background of regular watering, the level of viability during the growing season was sufficiently equalized and by the end of August it increased by 1.5–1.9 times. While on the plantation of the experimental and technological department, the level of viability was lower than that in plants grown at the botanical garden. Thus, non-root treatments with growth regulators can be used to optimize the condition of plants and activate their adaptive reactions to hydrothermal stress.

Key words: mandarins, growth regulators, chlorophyll fluorescence, viability level, photosynthetic activity, resistance.