

УДК: 581.1:581.5
DOI 10.37555/2707-3114.1.2021.247688

Діагностика функціонального стану фотосинтетичного апарату *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F. H. Wigg. методом індукції флуоресценції хлорофілу

Мазура М. Ю. к.б.н., Мірошник Н. В. к.б.н., Тесленко І. К.

ДУ «Інститут еволюційної екології НАН України», м. Київ, вул. академіка Лебедєва, 37, 03143,

e-mail: marinamazura1978@gmail.com, miroshnik_n_v@mail.ru, piterkozlevic@gmail.com

Diagnosis of the functional state of the photosynthetic apparatus *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F. H. Wigg. by the method of chlorophyll fluorescence induction

Mazura M. Y., PhD, Botany, Miroshnyk N. V., PhD, Ecology, Teslenko I. K.

Institute for Evolutionary Ecology, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, Ukraine, 03143, Kiev, 37 Lebedeva str.,

e-mail: marinamazura1978@gmail.com, miroshnik_n_v@mail.ru, piterkozlevic@gmail.com

Анотація. Встановлено інформативність методу індукції флуоресценції хлорофілу для біоіндикації в умовах антропогенного впливу на прикладі рослин *T. officinale*, за параметрами: F_0 , F_m , F_{st} , F_v , F_v/F_m та k_1 , k_2 . Основні параметри індукційної кривої можна використовувати як тестові показники для визначення стійкості рослин до впливу несприятливих чинників. Зміни цих показників характеризують процеси, пов'язані з впливом середовища на перебіг як світлових, так і темнових фаз фотосинтетичних процесів у хлоропластах. Фоточутливість листків *T. officinale*, яка свідчить про фізіологічний стан рослин, знижується з підвищенням несприятливих зовнішніх впливів. Встановлено, що максимальну інтенсивність фотосинтезу мають рослини *T. officinale*, які зростають в більш сприятливих екологічних умовах контролю. Отже, використання приладу «Флоратест» для визначення стану рослин за різного рівня антропогенного навантаження є перспективним і потребує проведення подальших досліджень.

Ключові слова: «Флоратест», антропогенне навантаження, пігментний комплекс, фітоіндикатор, фотосинтез, адаптація, листкова пластинка.

Abstract. The informativeness is established of the method of induction of chlorophyll fluorescence for bioindication in the conditions of anthropogenic influence on the example of *T. officinale* plants, by the parameters: F_0 , F_m , F_{st} , F_v , F_v/F_m та k_1 , k_2 . The main parameters of the induction curve can be used as test indicators to determine the resistance of plants to adverse factors. Changes in these indicators characterize the processes associated with the influence of the environment on the course of both light and dark phases of photosynthetic processes in chloroplasts. The photosensitivity of *T. officinale* leaves, which indicates the physiological state of plants, decreases with increasing adverse external influences. It is established that the plants of *T. officinale* have the maximum intensity of photosynthesis, which grow in more favorable ecological conditions control. Therefore, the use of the device «Floratest» to determine the condition of plants at different levels of anthropogenic load is promising and requires further research.

Keywords: «Floratest», anthropogenic load, pigment complex, phytoindicator, photosynthesis, adaptation, leaf blade.

Вступ. Зростання антропогенного пресингу в міських екосистемах супроводжується техногенним забрудненням навколишнього природного середовища, що негативно відбивається на рослинному та ґрунтовому покриві, здоров'ї людей. Одними з основних чинників антропогенної деградації міських екосистем є авто-транспортна інфраструктура та об'єкти паливно-енергетичного комплексу (Cuinica, Abreu, 2014; Біоіндикація техногенного забруднення м. Києва ..., 2016; Celebi, Gok, 2018; Mazura et al., 2020; Мірошник, 2018; Мазура, 2021; Лавров та ін., 2021). Тому важливого значення набуває екологічний моніторинг, експрес-аналіз існуючого стану довкілля, на основі визначення функціонального стану рослинних клітин і тканин. Ефективно

у біоіндикації застосовувати дослідження стану фотосинтетичного апарату, який є надзвичайно чутливим до змін довкілля (Шуплат, 2016; Манько та ін., 2016).

Аналіз параметрів флуоресценції хлорофілу є потужним інструментом вивчення впливу найрізноманітніших екологічних факторів на рослинні організми (Rohacek, Bartak, 2000; Брайон, 2000; Груша, 2015). Хімічні чинники та кліматичні умови, часто є інгібіторами і активаторами біоенергетичних процесів, що протікають в клітинах рослин та мають виражений вплив на параметри кінетики і спектральні особливості флуоресценції, а також на її стаціонарний рівень (Maxwell, Johnson, 2000; Груша, 2015). Метод індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) дає змогу продемонструвати адаптаційні зміни механізму фотосинтезу, які виникають у зв'язку із підвищенням рівня антропогенного навантаження (Нестеренко та ін., 2007; Заворуєва, Заворуєв, 2010; Манько та ін., 2016).

За допомогою портативного приладу «Флоратест» було вивчено функціональний стан пігментного комплексу листового апарату деревних рослин *Aesculus carnea* Hayne., *Tilia cordata* Mill., *Rhus typhina* L., культиварів *Acer plananoides* L. в різних урбоекотопах міста Києва, аналіз даних свідчить про залежність показників ІФХ від рівня техногенного навантаження (Євтушенко та ін., 2016; Манько та ін., 2016). З'ясовано особливості впливу транспортного забруднення на життєвість та функціонування пігментного фотосинтетичного апарату хвої *Juniperus sabina* "Blue Danube" у межах Львова (Шуплат, 2016). Вивчено залежність фотосинтезу плодкових рослин концентрації CO₂ зі змінами від факторів середовища (Тітаренко та ін., 2001). Російськими вченими на прикладі рослин *Cucumis sativus* L., *Acer negundo* L., *Betula pendula* Roth., *Populus balsamifera* L., *Tilia cordata* Mill., які зростали у різних за впливом забруднювачів умовах, методом ІФХ, визначені найбільш чутливі та толерантні фотосинтетичні апарати досліджених видів рослин до стресових факторів. Показана можливість використання якісних і кількісних закономірностей ІФХ листків для моніторингу стресового стану рослин у різних умовах вирощування (Нестеренко и др., 2007; Лукаткин и др., 2011). Методом флуорометрії досліджено функціональний стан трав'янистих рослин *Convallaria majalis* L., *Vaccinium vitis-idaea* L., *Arc-tostaphylos uva-ursi* (L) Spreng, обумовлений антропогенним тиском (Яковлева и др., 2005; Груша, 2015).

Мета досліджень — за допомогою приладу «Флоратест» вивчити особливості ІФХ у рослини-біоіндикатора *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F. H. Wigg. в умовах парку пам'ятки садово-паркового мистецтва «Феофанія» далі (ППСПМ «Феофанія»).

Матеріали та методи. Для отримання даних про вплив чинників на фотосинтетичний апарат *T. officinale* застосовували портативний флуорометр «Флоратест» його серія Україна, розроблений Інститутом кібернетики ім. В. М. Глушкова НАН України. Дослідження проводили на живому листі, адаптація до темряви — 5 хв., довжина хвилі опромінення — 470±15 нм; площа опроміненої плями — не менше 15 мм², освітленість в межах плями — 2,4 Вт/м². Спектральний діапазон вимірювання флуоресценції від 670 до 800 нм (Романов та ін., 2011). На кожному тест-полігоні здійснено 15 вимірювань. Для побудови кривих ІФХ використовували програму Excel 2016 пакету Microsoft Office. Індукційна крива показує залежність інтенсивності флуоресценції хлорофілу від часу після початку освітлення. Фізіологічно значимі дані отримують на основі аналізу таких кінетичних параметрів: (F_0) — початкове значення індукції флуоресценції після включення опромінення; (F_m) — максимальне значення індукції флуоресценції, стаціонарне значення індукції флуоресценції після світлової адаптації (F_{st}) — показник кількості хлорофілів, які не беруть участі у передачі енергії на реакційні центри (далі РЦ). Розраховували (варіабельну флуоресценцію (F_v)):

$$F_v = F_m - F_0,$$

Рівень варіабельної флуоресценції є індикатором фотохімічних окислювально-відновлювальних процесів F_v / F_m у фотосистемі 2 (ФС2) (Таран та ін., 2015; Манько та ін., 2016). Для оцінки стану апарату фотосинтезу рослин також використовували показники:

$k_1 = F_m / F_{st}$ — індикаторний показник впливу екзогенних чинників;

$k_2 = (F_m - F_{st}) / F_m$ — коефіцієнт індукції флуоресценції (індикаторний показник квантового виходу флуоресценції). Всі зазначені показники окремо або у комплексі використовують для оцінки впливів ушкоджуючих чинників на фотосинтетичний апарат нативного хлорофілу та рослин у цілому.

Індикатором було обрано Кульбабу лікарську (*Taraxacum officinale* Webb.), тому що у містах вона є поширеною, найбільш невибагливою придорожною рослиною і відповідає всім вимогам, поставленим до

рослини-індикатора, оскільки належить до другої групи стійкості та характеризується: відносною швидкістю проведення індикації; одержанням достатньо точних і відтворюваних результатів; наявністю особин, що використовуються з метою біоіндикації в значній кількості та з однорідними властивостями; діапазон похибок порівняно з іншими методами тестування не перевищує 20%; наявністю у рослини вираженої реакції на вплив забруднюючої речовини, тобто помітних ознак ушкодження, змін швидкості росту, морфологічних змін, порушень цвітіння, змін продуктивності; невибагливістю до умов вирощування; незначно піддається впливу шкідників (Бертиз, Эндерляйн, 1989; Кудрявська, Дичко, 2013).

Парк «Феофанія» знаходиться в Голосіївському районі, який розміщений на околиці міста Київ і межує з його «зеленим поясом» лісопарків, за екологічною ситуацією район характеризується, як дуже хороший (Мирошник, Тесленко, 2018) Ґрунтові умови: рН (сольове) — $6,21 \pm 0,15$, ступінь забезпеченості нейтральний (ДСТУ ISO 10390:2007 (ISO 10390:2005, IDT)), масова частка органічної речовини — $1,59 \pm 0,32\%$, ступінь забезпеченості — середній (ДСТУ 4289:2004) (протокол випробувань № 7800158). Відстань від ППСМ «Феофанія» до автодороги з інтенсивним рухом 5085,0 авто/ годину становить близько 1000 метрів, на малюнку траса позначена оранжевим кольором. У середині ППСМ «Феофанія» є паркова дорога, позначена на малюнку світло-жовтим кольором, навантаження автотранспортом становить близько 41,0 авто/годину. Тест-полігони для досліджень обирали за різного рівня антропогенного навантаження, враховували відстань до паркової дороги та ступінь витоптування полігону. Тест-полігон № 1 знаходиться у середині парку, найдалі від дороги — біля 89 м, та прогулянкових доріжок, рівень витоптування мінімальний, тому ця територія обрана контролем. Біля самої дороги на відстані до 1 м розташований тест-полігон № 2, тест-полігон № 3 знаходиться у яблуневому саду, де наявне сильне витоптування ґрунту, відстань до паркової дороги становить близько 57 м (рис. 1).



Рис. 1. Розміщення тест-полігонів на території ППСМ «Феофанія», де:

- оранжевим кольором зазначена автодорога з інтенсивним рухом 5085,0 авто/ годину;
- у червоному прямокутнику збільшена територія ППСМ «Феофанія»;
- блідо-жовтим виділена паркова дорога з навантаженням близько 41,0 авто/годину;
- червоними точками позначені тест-полігони.

Результати та обговорення. За різного рівня антропогенного навантаження у межах тест-полігонів ППСМ «Феофанія» на основі ІФХ спостерігали незначні зміни спектральних характеристик асиміляційного апарату листків *T. officinale* (рис. 2.).

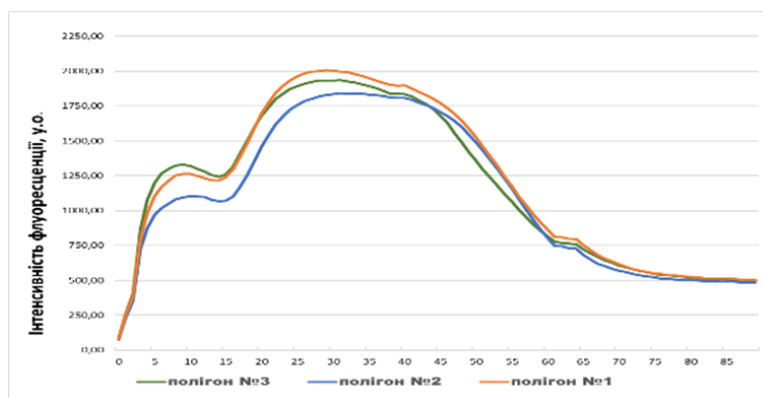


Рис. 2. Індукційні криві листків *T. officinale* за дії антропогенних факторів в умовах ППСПМ «Феофанія»

Крива індукції флуоресценції хлорофілу відображає фізіологічний стан усього ланцюга фотосинтезу і кінетику її різних частин. Показник F_0 , який залежить від втрати енергії збудження при її міграції по пігментній матриці світлозбиральних комплексів в умовах ППСПМ «Феофанія» має незначні відмінності. Найвищий його рівень зафіксовано у листках на тест-полігоні № 2 – 248,89 у.о., тобто, при зростанні рослин на узбіччі дороги у їх фотосинтетичному апараті відбуваються найбільші втрати енергії під час її міграції до РЦ, та зменшується кількість молекул хлорофілу порівняно з контролем ($F_0 = 229,33$ у.о.). Фоновий рівень флуоресценції у всіх досліджених рослин кульбаби лікарської має незначні зміни, це можна пояснити поступовою адаптацією їх до різних умов зростання.

Показник F_m вказує на максимальне значення флуоресценції хлорофілу «а», що реєструється у вигляді максимуму на індукційній кривій (рис. 2). У найменш сприятливих умовах на тест-полігоні № 2 зафіксовано зменшення цього показника у 1,1 рази порівняно з контролем (1843,56 у.о.), що, ймовірно, пов'язане з руйнуванням структури хлоропластів та зменшенням їх кількості під впливом зовнішнього середовища.

Стаціонарне значення індукції флуоресценції після світлової адаптації (F_{st}), показує кількість хлорофілів, які не беруть участь у передачі енергії на РЦ. В умовах парку цей показник стабільний і становить 485,33 у.о. (контроль) – 504,89 у.о. (тест-полігон № 2 біля дороги) (табл. 1).

Таблиця 1. Параметри флуоресценції хлорофілу у листках *T. officinale* за різного рівня антропогенного навантаження у ППСПМ «Феофанія»

Тест-полігони	Параметри						
	F_0	F_m	F_{st}	F_v	F_v / F_m	k_1	k_2
№ 1 контроль	229,33	2008,89	485,33	1778,67	0,89	4,00	0,75
№ 2	248,89	1843,56	504,89	1594,67	0,87	3,80	0,74
№ 3	246,00	1939,56	499,56	1693,56	0,87	3,94	0,74

Вважається, що чим вище показники інтенсивності фотохімічних реакцій, тим кращі умови для функціонування фотосинтетичного апарату (ФСА) рослин. У наших дослідженнях найвищий показник $F_v = 1778,67$ у.о. зафіксовано у найбільш сприятливих умовах (контроль), на тест-полігонах № 2, № 3 цей показник дещо менший і становить 1594,67 у.о. та 1693,56 у.о. відповідно.

Наукові дослідження доводять, що ефективність фотосинтезу, як і величина F_v / F_m змінюється за багатьма факторами: зміни температури повітря, засолення, дефіциті мінерального живлення, дії токсичних речовин, важких металів техногенних полутантів тощо (Олексійченко Н.О., Китеєв О.І. та ін., 2013). Інтенсивність фотохімічних реакцій у ФС2 *T. officinale* дещо знижені на тест-полігонах № 2, № 3 (0,87 у.о.), порівняно з контролем, де F_v / F_m становить 0,89 у.о., що може свідчити про вплив на ці показники антропогенного навантаження.

Виявлено, що індикаторний показник впливу екзогенних чинників (k_1) знижуються з підвищенням антропогенного впливу – найвищий показник ($k_1 = 4,00$ на контролі, найменший – 3,80 у рослин на тест-полігоні

№ 2 поблизу паркової дороги, що свідчить про погіршення функціонального стану рослин внаслідок негативного впливу людини.

Для даного приладу оптимальним значенням коефіцієнта індукції флуоресценції (k_2) є 0,70. Такий рівень характерний для листків рослин, що зростають у сприятливих умовах і знаходяться у гарному фізіологічному стані (Олексійченко Н. О., Китеєв О. І. та ін., 2013). Відповідно до отриманих даних, незалежно від умов зростання, ефективність фотосинтезу у листках *T. officinale* знаходиться в оптимальних межах і становить від 0,75 (контроль) до 0,74 (тест-полігон № 2).

Висновки. Встановлено інформативність методу індукції флуоресценції хлорофілу для біоіндикації в умовах антропогенного впливу на прикладі рослин *T. officinale*, за параметрами: F_0 , F_m , F_{st} , F_v , F_v/F_m та k_1 , k_2 . Основні параметри індукційної кривої можна використовувати як тестові показники для визначення стійкості рослин до впливу несприятливих чинників. Зміни цих показників характеризують процеси, пов'язані з впливом середовища на перебіг як світлових, так і темнових фаз фотосинтетичних процесів у хлоропластах.

Фоточутливість листків *T. officinale*, яка свідчить про фізіологічний стан рослин, знижується з підвищенням несприятливих зовнішніх впливів.

Встановлено, що максимальну інтенсивність фотосинтезу мають рослини *T. officinale*, які зростають в більш сприятливих екологічних умовах контролю. Отже, використання приладу «Флоратест» для визначення стану рослин за різного рівня антропогенного навантаження є перспективним і потребує проведення подальших досліджень.

Список використаних джерел

Cuínica, L.G., Abreu, I., Esteves, da Silva, J (2014). Effect of air pollutant NO_2 on *Betula pendula*, *Ostrya carpinifolia* and *Carpinus betulus* pollen fertility and human allergenicity. *Env Pollut.* pp. 50–55. DOI: 10.1080 / 09603123.2014.938031

Celebi H., Gok G. (2018). The Examination for Pollution of the Soils due to Highways and Traffic. *Pamukkale Univ Muh Bilim Derg.* 24(6): 1169–1178. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/599065>

Maxwell, K., Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence — a practical guide. *Journal of Experimental Botany.* Vol.51, № 345, pp. 659–668.

Mazura, M., Miroshnyk, N., Teslenko, I., Grabovska, T., Rozputnii, O., Mazur, T., Polishchuk, Z., Oleshko, O. (2020). Using of *Taraxacum officinale* (L.) pollens for the urban park bioindication. *Ukrainian Journal of Ecology.* V. 10(5). P. 49–53. DOI: 10.15421/2020_205

Rohacek, K., Bartak, M. (2000). Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications. *Photosynthetica.* 37, № 3. P. 339–363.

Бертиз, С., Эндерляйн, Х. Влияние загрязнений воздуха на растительность. М.: Наука. 1989. 258 с.

Біоіндикація техногенного забруднення м. Києва: методичні підходи (2016). [Автори: Г. А. Гродзинська, В. Б. Небесний, Г. Ю. Гончар, А. І. Самчук, С. М. Конякін, Н. В. Мірошник, О. М. Міхеєв, І. К. Тесленко, К. Ю. Цур]; під заг. ред. чл.-кор. НАН України О. П. Дмитрієва. К.: Наш формат. 120 с.

Брайон, С.В. (2000). Інструментальне вивчення фотосинтетичного апарату за допомогою індукції хлорофілу. Изд-во: НАУ ім. Т. Г. Шевченка, 25с.

Груша, В.М. (2015). Обробка результатів експериментальних досліджень, проведених з використанням портативного флуорометра «Флоратест». *Комп'ютерні засоби, мережі та системи.* № 14. С. 109–116.

Євтушенко, Ю.В., Ковалевський, С.Б., Китаєв, О.І. (2016). Діагностика функціонального стану фотосинтетичного апарату *Aesculus carnea* Наупе методом індукції флуоресценції хлорофілу. *Лісове і садово-паркове господарство.* № 10 <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Lis/article/view/8940>

Заворуєва, Е.Н., Заворуєв, В.В. (2010). Динамика флуоресценции и концентрации хлорофиллов листьев берез, растущих вблизи автомобильных дорог. *Вестник КрасГАУ.* Вип. 9. С. 129–133.

Кудрявська, Т.Б., Дичко, А. О. Оцінка забруднення урбоєкосистеми міста Києва за показником ушкодженості біоіндикатора. *Вісник КрНУ імені Михайла Остроградського.* 2013. Вип.6.(83). С. 140–144.

Лавров, В.В., Мірошник, Н.В., Шупова, Т.В., Тесленко, І.К., Гончар, Г.Ю. (2021). Наукові основи інтегрального оцінювання паркових лісових екосистем в умовах великого міста. Методичні рекомендації / під заг. редакцією д.с.-г.н. проф. В.В. Лаврова. Київ. 68 с. DOI: 10.13140 / RG.2.2.25365.86245

Лукаткин, А.С., Ревин, В.В., Башмаков, Д.И., Кренделева, Т.Е., Антал, Т.К., Рубин, А.Б. (2011). Экологическая оценка состояния древесных растений г. Саранска по флуоресценции хлорофилла. *Поволжский экологический журнал*. № 1. С. 87–92.

Мазура, М. Ю. (2021). Биоиндикация парковых экосистем г. Киев по реакции пыльцы *Taraxacum officinale* Wigg. *Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии*. Т. 30. С. 31–35. DOI: 10.24412/2073–1035–2021–10372

Манько, М.В., Олексійченко, Н.О., Китаєв, О.І. (2016). Особливості індукції флуоресценції хлорофілу в листках рослин культиварів *Acer Platanoides* L. в умовах міста Києва. *Науковий вісник НЛТУ України. Лісове та садово-паркове господарство*. Вип.26.5. С. 102–109.

Мирошник, Н.В. (2018). Оценка техногенной нагрузки в пределах мегаполиса с помощью комплекса методов биоиндикации на примере г. Киева. *Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем*. Том XXIX № 3. г. Москва. С. 107–129. DOI: 10.21513/0207–2564–2018–3–107–129.

Мирошник, Н.В., Тесленко, И.К. (2018). Экологическое зонирование территорий с учетом роли сохранившихся естественных экосистем (на примере г. Киева). *Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии*. Т. 27, № 4(2). С. 32–40. DOI: 10.24411/2073–1035–2018–10133

Нестеренко, Т.В., Тихомиров, А.А., Шихов, В.Н. (2007). Индукция флуоресценции хлорофилла и оценка устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям. *Журнал общей биологии*. Том 68. № 6. С. 444–458.

Олексійченко, Н.О., Китаєв, О.І., Совакова, М.О., Соваков, О.В., Борщевський, М.О. (2013). Особливості індукції флуоресценції хлорофілу в листках деревних рослин в умовах урбанізованого середовища. *Біоресурси і природокористування*. Том 5. № 5–6.

Романов, В.О., Артеменко, Д.М., Брайко, Ю.О. (2011). Сімейство портативних приладів «Флоратест»: підготовка до серійного виробництва. *Комп'ютерні засоби, мережі та системи*. № 10. С. 85–93.

Таран, М.В., Шаванова, К.Є., Марченко, О.А., Годлевська, О.О., Стародуб, М.Ф. (2015). Інструментальна експресна оцінка стану стійкості квасолі звичайної проти абіотичних стресових чинників. *Наукові доповіді НУБіП*. № 2. https://nd.nubip.edu.ua/2015_2/9.pdf

Титаренко, Т.Є., Кірізій, Д.А., Китаїв, О.І. (2001). Вплив затоплення ґрунту на CO₂-газообмін, транспірацію, вміст пластидних пігментів і флуоресценцію хлорофілу у плодівих рослин. *Физиология и биохимия культурных растений*. Том 33. № 3. С. 268–274.

Шуплат, Т. І. (2016). Застосування експрес-методу індукції флуоресценції хлорофілу в дослідженні життєвості ялівцю козацького (*Juniperus Sabina* L.) «Blue Danube» в урбогенних умовах міста Львова. *Науковий вісник НЛТУ України*. Вип. 26.3. С. 216–222.

Яковлева, О.В., Талипова, Е.В., Кукарских, Г.П., Кренделева, Т.Е., Рубин, А.Б. (2005). Изучение параметров флуоресценции хлорофилла в листьях травянистых растений, растущих в разных экологических условиях. *Биофизика*. Том 50. № 6. С. 1112–1119.