



УДК 504.064:581.5

© 2008

І. А. Чемерис

Фітоіндикація стану навколишнього природного середовища з використанням електрофізіологічних методів

(Представлено членом-кореспондентом НАН України А. П. Травлєєвим)

The questions of the variety of the biological potentials of plants, their origin, properties, and methods of measurement are considered. The dynamics of the electrophysiological data of wheat plants Myronivska-65 under the acidening of soils is investigated, and the correlation between the researched characteristics is determined. The calculated regression equation enables one to predict the expected levels of voltage and resistance for the determined data of soil acidity. The conclusions are made on the reliability of electrophysiological data and the possibility to use the method in the practice of ecology biomonitoring.

Фітоіндикаційні методи дослідження навколишнього природного середовища набувають великого значення у практиці екологічного біомоніторингу. Найпростішими є дослідження на організмовому (консорційному) рівні. Перспективи розвитку такого напрямку досліджень, як електрофітоіндикація змін стану довкілля під впливом антропогенних забруднювачів, спрямовані на вивчення біоелектричної активності з метою ведення селекційного процесу деревостану в лісівництві [1–5]. На сьогодні залишаються не вирішеними питання можливості застосування електрофізіологічних методів при діагностиці стану рослин в умовах аеротехногенного навантаження на екосистеми.

Основи електрофізіології, яка вивчає електричні прояви життєдіяльності клітин, тканин, органів для з'ясування їх природи і можливого фізіологічного значення, а також використання точних показників функціонування [1], були закладені Л. Гальвані у 1791 р. На Україні дослідженнями біоелектричної активності рослин з 1970 років займається Г. Т. Криницький [2–4]. Й. В. Гриб вивчав напругу в зоні впливу вищих водних рослин у непроточних водоймах [6]. Біологічно активні точки (БАТ) рослин описано В. В. Жуковим [7]. З дослідницькою метою можна вимірювати різницю потенціалів як на поверхні органу, так і в середині [8]. Але, виходячи з того що електричну активність рослин визначають з метою моніторингу, доцільніше, на нашу думку, проводити виміри на поверхні рослин.

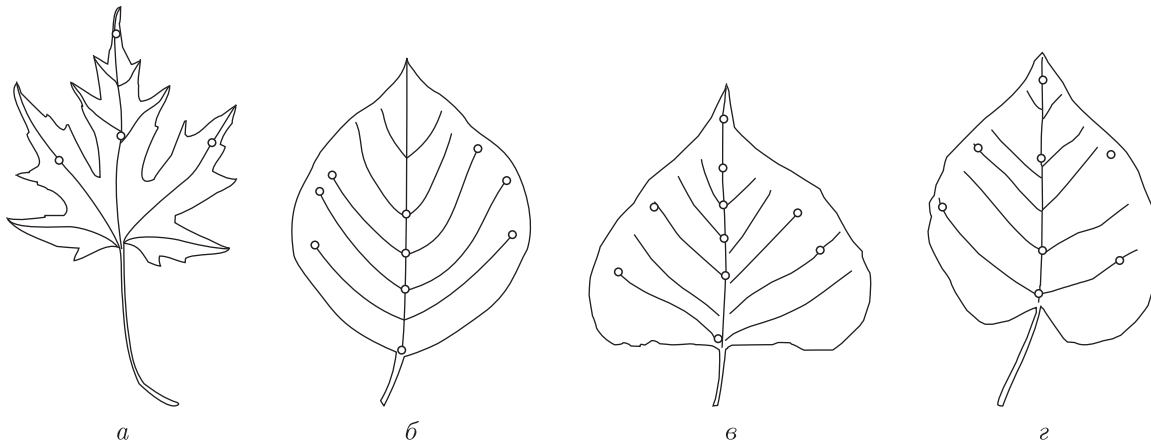


Рис. 1. Розподіл БАТ (○) на листках клену (а), горіха (б), тополі (в) та берези (г), за В. В. Жуковим [7]

Електрограма — часова залежність зміни у часі різниці потенціалів $\Delta\varphi(t)$. Тому вважаємо, що електрограму деревних рослин можна називати ЕДГ (електродендрограма). Відомо, що біоелектрична активність рослин свідчить про різноманітні фізіологічні процеси, які відбуваються у тканинах, біоелектричні потенціали є надійними, точними й універсальними показниками життєвості організмів [5, 9–12].

Біопотенціали, які утворюють живі організми, поділяються на потенціали спокою, які раніше називали потенціалами пошкодження (демаркаційними), та реактивні потенціали, які включають потенціали дії й градуальні.

Потенціали градієнта основного обміну, або метаболічні потенціали, генеруються в процесі основного обміну, тобто у стані спокою; зумовлюють перехід від одного рівня метаболічної активності до іншого; виникають між ділянками клітин з різним рівнем обміну речовин, електронегативною є ділянка з більш інтенсивним обміном. Потенціали дуже повільно змінюються. Прикладом таких потенціалів є їх різниця між освітленою та неосвітленою частинами листка [10, 11].

Таким чином, біопотенціали виникають не тільки за рахунок поляризації та деполіризації мембран, а й за рахунок складних біохімічних процесів у складових клітин; реалізуються на клітинній мембрані у вигляді сумарної електрорушійної сили; підсумком електрорушійних сил є потенціали тканин, органів, організмів [13, 14].

Методики вимірювання біологічних потенціалів. Відомі методи реєстрації біоелектричних потенціалів пов'язані з нанесенням ран до рівня камбію або фелодерми рослини; точками для дослідження є коренева шийка та вершина приросту дерева. Прилади, якими вимірюються біопотенціали, повинні мати високий вхідний опір (не менше 100 мОм). Найкращі результати дає застосування неполяризувальних електродів — хлоросрібних, каломельних. Вимірювати біопотенціали необхідно у сухі сонячні дні (період 12–13 та 17–18 год) зі східного або західного боку дерева [3, 15]. Але В. В. Жуков довів, що реєстрація біопотенціалів на поверхні листків можлива без пошкодження тканин рослини [7]. У попередніх дослідженнях використовували листя широколистяних дерев. На поверхні листків було виявлено локальні ділянки підвищеної електропровідності, які названо біологічно активними точками (рис. 1).

Матеріали та методи дослідження. Експериментально доведено можливості застосування в методиці електрофізіологічних досліджень вольтметра В7–38 з високим вхідним

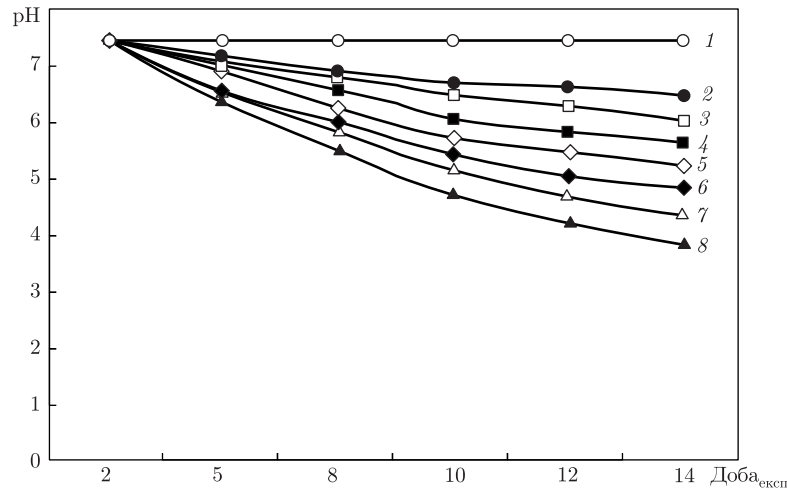


Рис. 2. Динаміка зміни кислотності ґрунту в експерименті з пшеницею: 1 — контроль; 2 — 0,01 М H_2SO_4 ; 3 — 0,05 М H_2SO_4 ; 4 — 0,1 М H_2SO_4 ; 5 — 0,15 М H_2SO_4 ; 6 — 0,2 М H_2SO_4 ; 7 — 0,25 М H_2SO_4 ; 8 — 0,3 М H_2SO_4

опором при вимірюванні біоелектричної активності рослин. Прилад є чутливим, має достатньо широкі можливості для вимірювання напруги та опору. В процесі досліджень ми використовували хлоросрібний електрод, закріплений на листку за допомогою штатива [2–4], з'ясували також можливості застосування електрофізіологічних методів у діагностиці стану рослин в умовах аеротехногенного навантаження.

Відомо, що одним з наслідків антропогенного забруднення атмосфери кислими газами є підвищення кислотності ґрунтів. Тому нами був поставлений лабораторний експеримент з метою вивчення розбіжності між показниками біоелектричних потенціалів рослин, які ростуть на ґрунтах, з різною кислотністю. За об'єкт дослідження було вибрано пшеницю (сорт Миронівська-65) як важливу сільськогосподарську рослину. Це озима м'яка пшениця. Сортова чистота рослини 98%, схожість 96%, енергія проростання 94%. Зони вирощування даного сорту — лісостеп та полісся. Сорт середньостиглий, посухостійкий, має середню стійкість при заморозках та середньостійкий до хвороб.

При досягненні насінням, яке пророщується, довжини колеоптилів 10 мм, проростки було розділено на фракції за довжиною та висаджено рослини однакових фракцій на субстрат. В якості субстрату використовували ґрунт, який мав різне значення рН. Різну кислотність ґрунтів досягли шляхом додавання у ґрунт розчинів сірчаної кислоти різної концентрації: 0,01 М; 0,05 М; 0,1 М; 0,15 М; 0,2 М; 0,25 М; 0,3 М. Таким чином, ми отримали сім варіантів дослідів, в кожному з яких ґрунт мав різну кислотність. Експеримент тривав чотирнадцять діб. Протягом всього експерименту досліджували динаміку зміни кислотності ґрунту (у водній витяжці) (рис. 2), через кожен день вимірювали напругу та опір рослини, вивчали динаміку росту рослин. На чотирнадцяту добу було визначено довжину та масу наземної та підземної частин рослини.

Результати та їх обговорення. Кислотність ґрунту протягом експерименту поступово збільшувалася, причому інтенсивніше цей процес проходив у варіантах з більш високими концентраціями кислот (див. рис. 2). У контрольному варіанті кислотність ґрунту не змінилася (рис. 2, 1), а у варіанті, де використовували 0,3 М H_2SO_4 , водневий показник ґрунту зменшився від 7,4 (початок експерименту) до 3,8 (остання доба експерименту).

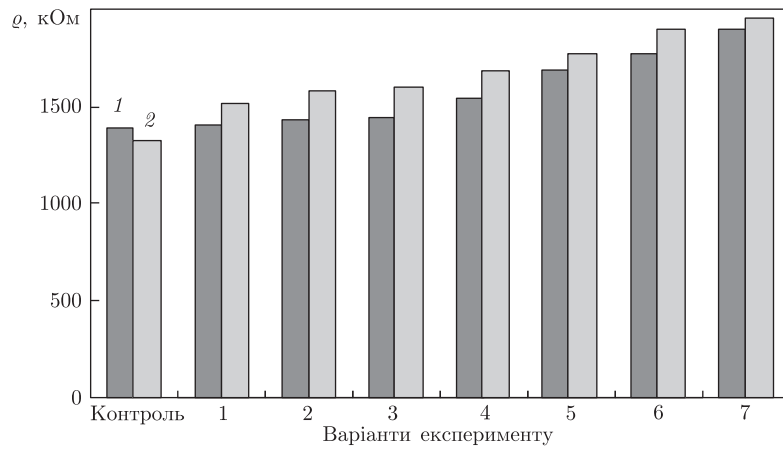


Рис. 3. Зміна опору тканин рослин пшениці сорту Миронівська-65 у дослідях з сірчаною кислотою: 1 — значення опору на другу добу експерименту; 2 — значення опору на чотирнадцяту добу експерименту

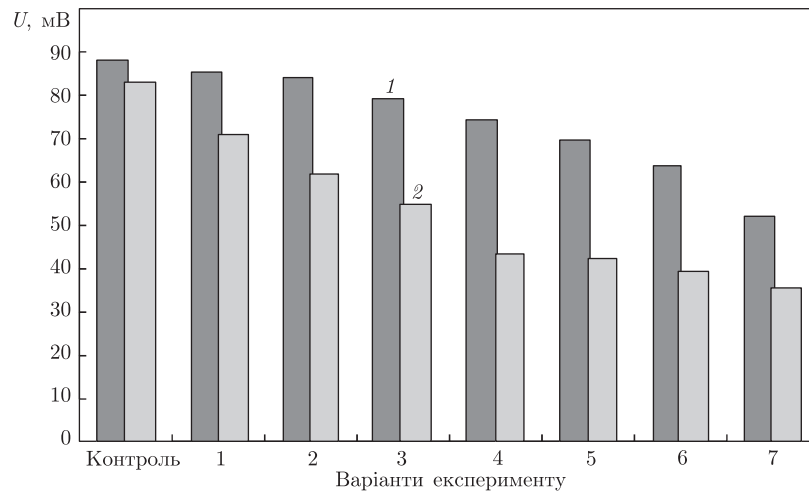


Рис. 4. Зміна напруги тканин рослин пшениці сорту Миронівська-65 у дослідях з сірчаною кислотою: 1 — значення напруги на другу добу експерименту; 2 — значення напруги на чотирнадцяту добу експерименту

Паралельно з дослідженням зміни рН ґрунту проводили вимірювання напруги та опору тканин рослин. Помітне збільшення опору рослин на другу та останню добу експерименту зі збільшенням концентрації кислот при закисленні ґрунтів ілюструє рис. 3. Вже на другу добу експерименту середнє значення опору у контрольному варіанті дорівнювало 1395 кОм, а у варіанті з 0,3 М розчином H_2SO_4 — 1890 кОм. У ході експерименту величина опору у дослідних варіантах зростала, оскільки поступово зменшувалася кислотність ґрунту. Наприклад, у варіанті з 0,01 М розчином H_2SO_4 — від 1402 до 1517 кОм, у варіанті з 0,15 М розчином H_2SO_4 — від 1536 до 1689 кОм, у варіанті з 0,3 М розчином H_2SO_4 — від 1890 до 1966 кОм.

Значення напруги рослин на другу та останню добу експерименту ілюструє рис. 4. Слід зазначити, що вже на другу добу експерименту помітна різниця в показниках напруги: якщо у контрольних варіантах середнє значення напруги дорівнювало 88 мВ, то у варіанті, де використовували 0,3 М розчин H_2SO_4 , — 52 мВ. Особлива велика різниця спостерігалася на

чотирнадцяту добу експерименту: у контролі — 83 мВ (рН ґрунту 7,4), а у варіанті з 0,3 М розчином H_2SO_4 (рН ґрунту 3,8) — 35 мВ. Таким чином, закислення ґрунтів спонукає зменшення величини біоелектричних потенціалів рослини, оскільки пригнічуються життєві функції рослини.

Таким чином, із зростанням кислотності ґрунту зростає опір тканин рослини. Це можна пояснити тим, що зі збільшенням забруднення ґрунту у клітинному соку рослини зростає концентрація іонів (у даному випадку іонів водню та сульфат-іонів), посилюються міжіонні зв'язки, зменшується активність іонів, що утруднює протікання струму, тобто збільшується опір тканин.

При дослідженні кореляції (r) між показниками кислотності ґрунту та значеннями напруги (U) й опору (ρ) тканин рослин пшениці відзначено високу силу зв'язку між змінними:

$$U : \quad r = 0,98, \quad t_{\Phi} = 13,85;$$

$$\rho : \quad r = -0,99, \quad t_{\Phi} = 19,80 \quad \text{при} \quad t_{0,05} = 2,26, \quad n = 10.$$

Для визначення залежності між електрофізіологічними показниками (кореляційний зв'язок) та рН (кислотність ґрунту) склали такі рівняння регресії:

$$y_1 = 14,10x - 23,31,$$

$$y_2 = 2599,50 - 187,98x,$$

де x — факторна ознака (кислотність ґрунту); y — результативна ознака, де y_1 — напруга, мВ; y_2 — опір, кОм.

Для y_1 теоретичні значення такі: 81,24, 68,34, 61,29, 57,06, 50,01, 44,37, 37,32, 30,27; практичні — 83,00, 71,00, 62,00, 55,00, 43,00, 42,00, 39,00, 35,00.

Для y_2 теоретичні значення такі: 1208,45, 1337,63, 1471,62, 1528,01, 1622,00, 1697,2, 1791,19, 1885,18; практичні — 1334,00, 1517,00, 1575,00, 1597,00, 1689,00, 1768,00, 1891,00, 1953,00.

Одночасно з вищевказаними вимірюваннями проводилось дослідження динаміки росту рослин. В останній день експерименту були визначені довжина та маса стебла та кореня. Як і очікувалося, з підвищенням кислотності ґрунту спостерігалось пригнічення розвитку рослин: якщо в контрольному варіанті середня довжина та маса стебла становили відповідно 25,12 см й 0,132 г, то у варіанті з 0,3 М розчином H_2SO_4 — 16,84 см й 0,10 г (усереднені дані). Також у дослідних рослин зі збільшенням водневого показника ґрунту розвивалися хлорози та некрози, процеси в'янення.

Таким чином, електрофізіологічні показники є універсальними, надійними та точними. Електричні прояви життєдіяльності рослин свідчать про їх фізіологічний стан, який може змінюватися під впливом антропогенного навантаження, тому реєструючи ці прояви (напругу та опір тканини), можна проводити фітомоніторинг стану навколишнього середовища. При збільшенні забруднення навколишнього природного середовища життєві процеси рослин змінюються, що виражається у зменшенні напруги та збільшенні опору тканин. Вольтметр В7-38 реагує на біоелектричну активність рослин і може бути використаний для вимірювання напруги та опору тканин рослин. Індикація за інтенсивністю енергетичної активності рослин є інноваційною методикою фітомоніторингу і потребує розвитку подальших досліджень у польових умовах. Необхідна розробка методів, які не пошкоджують рослину, не потребують складного обладнання і є надійними та універсальними.

Автор висловлює щирю подяку д-ру біол. наук, пров. співробітнику Ін-ту гідробіології НАН України, проф. кафедри водних біоресурсів Нац. ун-ту водного господарства та природокористування *Й. В. Грибу* за консультації та цінні поради.

1. *Квятковський Г.* Ліс – джерело життєвої енергії // Екологічна географія: історія, теорія, методи і практика: Матеріали. II Міжнар. конф., 15–17 січ. 2004 р., Тернопіль. – Тернопіль, 2004. – С. 151–152.
2. *Кривицький Г. Т.* Исследование связи метаболических электропотенциалов с жизненностью подроста древесных растений: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / Львов. лесотех. ин-т. – Львов, 1976. – 36 с.
3. *Кривицький Г. Т.* Морфологічні основи селекції деревних рослин: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук / Україн. держ. аграр. ун-т. – Київ, 1993. – 46 с.
4. *Кривицький Г. Т.* Про методику використання електрофізіологічних показників для визначення життєздатності деревних рослин // Лісове господарство, лісова, паперова і деревообробна промисловість. – Львів: Світ, 1992. – Вип. 23. – С. 3–10.
5. *Рутковський И. В.* Электрофизиологические методы в селекции древесных растений // Лесная генетика, селекция и физиология древесных растений: (Материалы Междунар. симп.), Москва, 19–21 апр. 1989. – Москва: Б. и., 1989. – С. 163–165.
6. *Гриб Й. В., Клименко М. О., Сондак В. В.* Відновна гідроекологія порушених річкових та озерних систем (гідрохімія, гідробіологія, гідрологія, управління): Навчальний посібник. Т. 1. – Рівне: Волин. обереги, 1999. – 348 с.
7. *Жуков В. В.* БАТ как энергетическая структура растения // К основам физического взаимодействия: Материалы V Междунар. науч.-практ. конф., 20–23 апр. 2005 г., Днепропетровск. – Днепропетровск: Б. и., 2005. – С. 122–127.
8. *Антонов В. Ф., Черныш А. М., Пасечник В. И.* Биофизика. – Москва: ВЛАДОС, 1999. – 288 с.
9. *Буреш Я., Патрань М., Захар И.* Электрофизиологические методы исследования. – Москва: Изд-во иностр. лит., 1962. – 456 с.
10. *Изаков В. Я., Рыбин И. А.* Биоэлектрические явления у животных и растений: Основы электробиологии. Ч. 1. – Свердловск: Б. и., 1973. – 178 с.
11. *Коган А. Б.* Электрофизиология. – Москва: Высш. шк., 1969. – 368 с.
12. *Электрическая система регуляции процессов жизнедеятельности /* Под. ред. Г. Н. Зацепиной. – Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1992. – 186 с.
13. *Костюк П. Г., Гродзинский Д. М., Зима В. Л.* Биофизика. – Киев: Выща шк., 1988. – 504 с.
14. *Оприлов В. А., Пятыгин С. С., Ретивин В. Г.* Биоэлектrogenез у высших растений. – Москва: Наука, 1991. – 214 с.
15. *Коловский Р. А.* Биоэлектрические потенциалы древесных растений. – Новосибирск: Наука, 1980. – 176 с.

Черкаський державний технологічний університет

Надійшло до редакції 08.05.2007