

# КОМП'ЮТЕРНІ ЗАСОБИ, МЕРЕЖІ ТА СИСТЕМИ

Ye. Sarakhan

## THE FEATURES OF APPLICATIONS OF PORTABLE BIOSENSOR DEVICES OF "FLORATEST" FAMILY

*The features of practical applications of portable biosensor devices of «Floratest» family are considered in the article.*

*Key words: «Floratest», chlorophyll fluorescence induction, fluorometer.*

*Рассмотрены особенности практического использования портативных биосенсорных приборов семейства «Флоратест».*

*Ключевые слова: «Флоратест», флуориметр, индукция флуоресценции хлорофилла.*

*Розглянуті особливості практичного застосування портативних біосенсорних приладів сімейства «Флоратест».*

*Ключові слова: «Флоратест», флуориметр, індукція флуоресценції хлорофілу.*

© Є.В. Сарахан, 2011

УДК: 681.518.3

Є.В. САРАХАН

## ОСОБЛИВОСТІ ПРАКТИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ПОРТАТИВНИХ БІОСЕНСОРНИХ ПРИЛАДІВ СІМЕЙСТВА «ФЛОРАТЕСТ»

**Вступ.** Експресне визначення стану рослин за допомогою вимірів індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) викладено в багатьох працях, наприклад, [1–3]. На жаль, на сьогодні є багато розбіжностей у тлумаченні ефекту ІФХ, що заважає широкому його використанню на практиці. Дослідне застосування приладів сімейства «Флоратест», на нашу думку, дасть можливість з'ясувати окремі особливості апарата ІФХ і напрацювати промислові методики щодо використання цього ефекту в сучасному землеробстві. Такі дослідження проводилися нами в ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства імені В.Є. Таїрова», Інституті садівництва, Національному університеті біоресурсів і природокористування України на рослинах перспективних сортів винограду, суниці, чорної смородини, вівса і ячменю.

**Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листя виноградної рослини.** Розробка методики і програми випробувань приладу «Флоратест» на тестових культурах виконувалась на базі лабораторії фізіології відділу розмноження винограду ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В.Є. Таїрова». Досліди згідно програми випробувань та відповідних попередньо розроблених схем, проводились в умовах лабораторно-тепличного комплексу інституту (теплиці і вегетаційні бокси, див. рис. 1), лабораторії фізіології (камера для вирощування рослин) і на виноградниках державного підприємства Дослідне Господарство «Таїровське».

Програма випробувань містить терміни проведення окремих етапів з урахуванням особливостей самої культури винограду [4–7], необхідні матеріальні та технічні засоби реєстрації впливових факторів на виноградну рослину, чисельні та графічні значення досліджуваних сортів рослин винограду, лабораторні виміри за класичними схемами [8], отримання та обробку даних, створення методики використання приладу при вирощуванні рослин винограду.



РИС. 1. Тепличний комплекс на краплинному зрошенні

**Розробка методичного забезпечення.** Для оптимальних чи близьких до оптимальних концентрацій і способів обробки проводили рекогносцирувальні досліді на чубуках підщепних сортів з різним ступенем регенерації у лабораторних умовах.

Досліди проводились на виноградниках державного підприємства Дослідне Господарство «Гаїровське» (рис. 2). Формування кущів – двоштамбовий кордон, схема садіння –  $2,5 \times 1,5 \text{ м}^2$ . Культура винограду – неукривна. Тип ґрунту – південні чорноземи, на буровато польовому лесі, характеризуються високою родючістю. Вміст гумусу коливається в межах 4–5 %.

При розробці схеми та програми випробувань приладу «Флоратест» на промислових виноградниках досліді проводились за наступними напрямками.

1. Регуляція процесів росту і розвитку кущів винограду, підвищення фотосинтетичної активності з метою нарощення вегетативної маси, як показника про-

дуктивності, а також потенційної стійкості рослин до посухи.

2. Вивчення впливу агробіологічних препаратів, окремих мікроелементів та сполук на показники ІФХ з метою активації та пригнічення життєдіяльності рослин.

3. Вимірювання ІФХ на технологічних етапах виробництва саджанців винограду з використанням регуляторів росту та поживних речовин для можливого поліпшення стимулювання процесів відновлення і корнесутворення щеп винограду, оптимізації росту та розвитку щепи в шкільці для отримання високого виходу саджанців у польових умовах.



РИС. 2. Машина для зрошення виноградників ДП ДГ «Таїровське»

4. Математична обробка вимірів з метою прогнозів щодо режимів зрошення виноградників з використанням приладу сімейства «Флоратест».

5. Порівняння інформативності флуориметра «FluorPen FP 100» (Photon Systems Instruments, Чехія) та приладів сімейства «Флоратест», розроблених в Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України.

6. Створення базової методики для роботи з приладом «Флоратест» у польових умовах для оптимізації режимів зрошення та контролю внесення добрив.

У досліді включені перспективні сорти селекції інституту:

1) Добриня, підщепний сорт винограду (рис. 3). Сорт отриманий шляхом схрещування сортів Каберне Совіньон × Рупестрис дю Ло;

2) пізньостиглий столовий сорт винограду Комета (рис. 4). Сорт створено в результаті схрещування сортів Таір х Буревеснік.



РИС. 3. Підщепний сорт винограду Добриня



РИС. 4. Пізньостиглий столовий сорт винограду Комета

Розміщування варіантів – рендомізоване. Для кожного варіанта відбирали по 20 облікових кущів.

Кущі обприскували розчинами біологічно-активних препаратів трьох різних концентрацій (див. табл. 1).

ТАБЛИЦЯ 1. Схема дослідів

Номер досліду	Варіанти дослідів	Концентрація розчину, %	Терміни обробок	Кількість обробок
1.1 1.2 1.3	Мікроелементи та окремі сполуки (у розчині)	0,5 1,1 1,5	До цвітіння	1
2.1 2.2 2.3	Теж саме	0,5 1,1 1,5	До цвітіння + після цвітіння	2
3.1 3.2 3.3	Теж саме	0,5 1,1 1,5	До цвітіння + після цвітіння + перед досяганням ягід	3
4	Контроль	Без обробки		

**Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листя чорної смородини.** За допомогою лабораторного мікроспектрофлуориметра визначали наступні показники фото- та термоіндукції флуоресценції листя:  $F_{\max}$  – інтенсивність у максимумі фотоіндукції флуоресценції хлорофілу (680 нм);  $F_{st}$  – інтенсивність на стаціонарному рівні індукції флуоресценції хлорофілу;  $\tau_{0,5}$  – час напівспаду інтенсивностей флуоресценції хлорофілу від максимального до стаціонарного рівня;  $K_i = (F_{\max} - F_{st})/F_{st}$  – коефіцієнт індукції флуоресценції;  $K_s = I_{680}/I_{740}$  – спектральний параметр що характеризує ступінь окисності переносників електрон-транспортного ланцюга між фотосистемами хлоропластів;  $F_{\alpha}$  – інтенсивність першої хвилі термоіндукції флуоресценції (діапазон температури 20–35 °С, індекс посухостійкості);  $F_{\beta}$  – інтенсивність флуоресценції другої  $\beta$ -хвилі (спостерігається в діапазоні температур 35 – 45°C);  $t_{\beta-\gamma}$  – час між хвилями термоіндукції ( $\beta$  та  $\gamma$  відповідно);  $F_{\gamma}$  – третя хвиля термоіндукції флуоресценції опосередкована відторгненням від реакційних центрів основної маси хлорофілів;  $F_{\beta}/F_{\gamma}$  – співвідношення інтенсивностей хвиль термоіндукції флуоресценції (індекс стабільності хлоропластних комплексів);  $K_f = (F_{\beta}/F_{\gamma}) * F_{\max}/100$  – коефіцієнт фотоенергетичної продуктивності, з урахуванням впливу освітленості;  $F_{st}^{530}$  інтенсивність жовто-зеленої флуоресценції, яку пов'язують з накопиченням окислених форм ліпідів мембран хлоропластів.

Основними показниками [9] ІФХ є:  $F_o$  – фоновий рівень флуоресценції;  $F_{pl}$  – рівень її на час досягнення тимчасового сповільнення зростання її сигналу, так зване “плато”;  $F_p$  – максимальне значення флуоресценції;  $F_t$  – стаціонарний рівень її через 3 хвилини після початку освітлення (рис. 5). Всі показники індукційної кривої представлено у відносних одиницях еталона флуоресценції (світлофільтр ОС14) з емісією у тому ж спектральному діапазоні, що і флуоресценція хлорофілу листа.

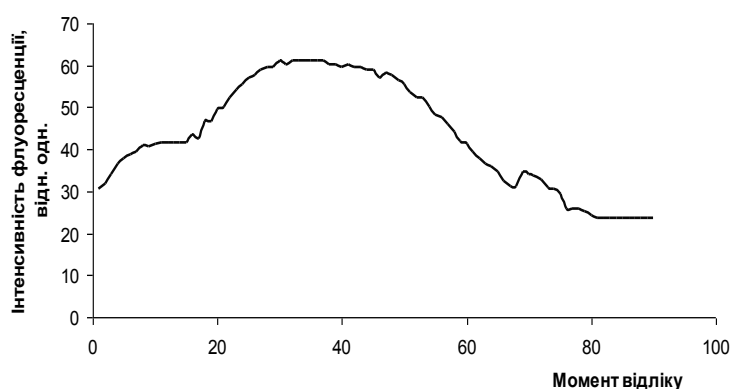


РИС. 5. Типова індукційна крива листя смородини чорної

Окремо перевіряли рослини на наявність бактеріальних токсикозів. Для цього аналізували зміни флуоресценції хлорофілу листа після нагріву до 50 – 66 °С, після чого робили мікрофотографії у світлі люмінесценції.

**Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листа сортів та гібридів суниці.** Методами фото- та термоіндукції флуоресценції хлорофілу проведено мікроспектральні дослідження структурно-функціональних змін фотосинтетичного апарата (ФСА) листя та оцінка ефективності їх функціонування для 27 сортів та гібридів суниці, для цих же об’єктів вимірювали фотоіндукцію флуоресценції за допомогою прототипу портативного приладу «Флоратест».

В результаті проведених досліджень за показником фотоенергетичної ефективності виділилися перспективні гібриди суниці 99-35-45, 02-7-8, 98-3-129 та 99-9-24 (табл. 2).

Серед сортів найвищою ефективністю функціонування листового апарата відрізнявся сорт Ольвія з показником  $K_f = 2,38$  та Фестивальна ромашка. Відмітимо, що за досліджуваний період більш ніж у двічі зріс час напівспаду флуоресценції хлорофілу (показник  $\tau_{0,5}$ ), останнє свідчить про гальмування потоку електронів до реакційних центрів у циклі Кальвіна. Збільшення значень цього показника, на нашу думку, спричинено вірусною інфекцією.

ТАБЛИЦЯ 2. Показники функціональної активності листя суниці за спектральними характеристиками їх флуоресценції

Сорт	$F_{\max}^{680}$ в.од.	$K_i$	$K_s^*$	$F_{\text{ф}}$ в.од.	$i_{\beta-\gamma}^0$ С*	$F_{\text{тг}} / F_{\text{тф}}$	$K_f$	$\tau_{0,5}$ , сек*	$F_{st}^{530}$ в.од.	$F_{\text{та}}$ в.од.
Розана Київська	191,4	0,71	1,21	26,25	52,00	1,60	3,05	20,00	13,05	8,93
<b>Ольвія</b>	265,2	0,73	1,19	63,64	50,00	1,50	<b>3,96</b>	22,00	24,62	19,70
<b>Фестиваль- на ромашка</b>	302,9	0,79	1,27	72,46	52,00	1,30	<b>3,86</b>	12,00	18,12	18,84
Ельвіра	227,6	0,72	1,25	51,72	46,00	1,01	2,23	32,00	14,37	10,34
Полка	232,2	0,75	1,26	70,11	36,00	1,10	2,51	30,00	17,24	8,05
Зенга										
Зенгана	215,7	0,79	1,32	46,97	52,00	1,53	3,33	14,00	18,17	14,76
Презент	256,1	0,75	1,26	66,67	60,00	1,27	3,24	20,00	18,94	19,70
<b>99-35-45</b>	245,8	0,80	1,29	38,89	58,00	2,04	<b>4,92</b>	8,00	15,63	11,11
90-13-111	231,8	0,78	1,19	56,86	62,00	1,09	2,46	20,00	17,05	11,42
98-3-129	281,3	0,81	1,27	75,17	50,00	1,12	3,17	10,00	18,61	17,46
98-3-150	249,3	0,74	1,26	60,87	50,00	1,42	3,48	24,00	21,74	18,84
<b>99-9-13</b>	260,6	0,68	1,37	59,09	60,00	1,73	<b>4,35</b>	20,00	22,73	18,18
99-9-20	334,6	0,79	1,25	74,11	32,00	1,14	3,75	16,00	15,35	16,44
99-9-24	246,4	0,73	1,31	52,11	46,00	1,21	2,91	18,00	17,05	10,23
99-44-33	287,9	0,77	1,19	65,15	46,00	1,21	3,41	12,00	11,36	16,67
02-6-8	237,0	0,68	1,29	91,36	50,00	1,03	2,44	30,00	20,06	14,81
02-6-91	246,3	0,75	1,22	61,11	60,00	0,82	2,03	18,00	23,15	12,96
02-6-14	269,8	0,65	1,66	64,31	42,00	0,63	1,68	26,00	26,80	15,70
02-7-8	203,3	0,73	1,25	46,67	60,00	1,29	2,61	22,00	18,06	11,11
02-9-16	265,4	0,71	1,23	62,96	52,00	1,10	2,71	32,00	16,98	14,81
02-9-20	262,6	0,72	1,23	57,55	66,00	1,21	3,14	26,00	21,84	11,25
02-9-22	251,2	0,73	1,48	67,86	48,00	1,06	2,57	28,00	14,88	10,71

За допомогою приладу «Флоратест» проведено паралельне визначення фаз швидкої флуоресценції у листі сортів та гібридів суниці (рис. 6–8).

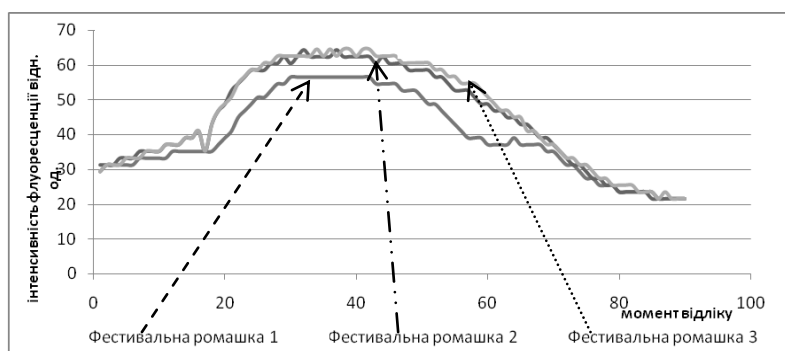


РИС. 6. Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листя суниці Фестивальна ромашка

Відмітимо вищу інтенсивність флуоресценції на рівні плато у сортів суниці порівняно з гібридними формами, а також більшу амплітуду змінної флуоресценції  $F_v$ , більш чіткий перехід від  $F_{pl}$  до  $F_p$  і менший показник  $dF_{pl}/F_v$  (в межах

0,3 – 0,35). Останнє, на нашу думку, пов'язано з достатньо високою чистотою нових репродуктивних форм у порівнянні з сортами, що розмножують вегетативно навіть за умов достатньої просторової ізоляції.

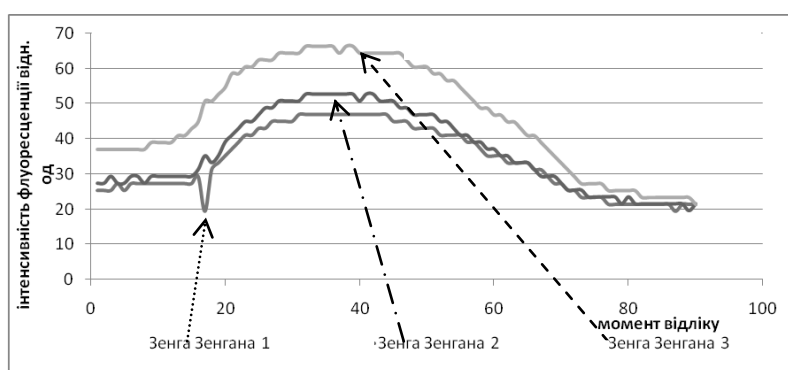


РИС. 7. Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листя суниці Зенга Зенгана

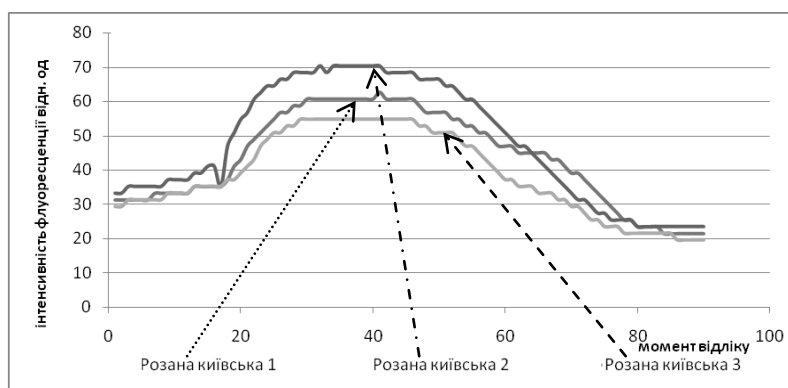


РИС. 8. Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листя суниці Розана київська

**Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листків вівса та ячменю.** У спеціально проведених модельних дослідках на вегетуючих рослинах приладом «Флоратест» визначені показники фотоіндукції флуоресценції листя ячменю та вівса уражених вірусом жовтої карликовості ячменю (вірус ЖКЯ) (рис. 9, 10) [10–13].

У листях рослин, уражених вірусною інфекцією, та контрольних зразках визначали вміст зелених пігментів загальноприйнятими методами. Хлорофіли з листя рослин екстрагували 96 % етиловим спиртом. У подальшому витяжку зелених пігментів аналізували на спектроколориметрі КФК-3. Вміст пігментів розраховували за методикою, опублікованою в [14].

Визначено, що під впливом вірусу ЖКЯ величина співвідношення  $dF_{pi}/F_v$



порівняно з контрольними зразками як для ячменю, так і для вівса перевищувала значення 0,5.

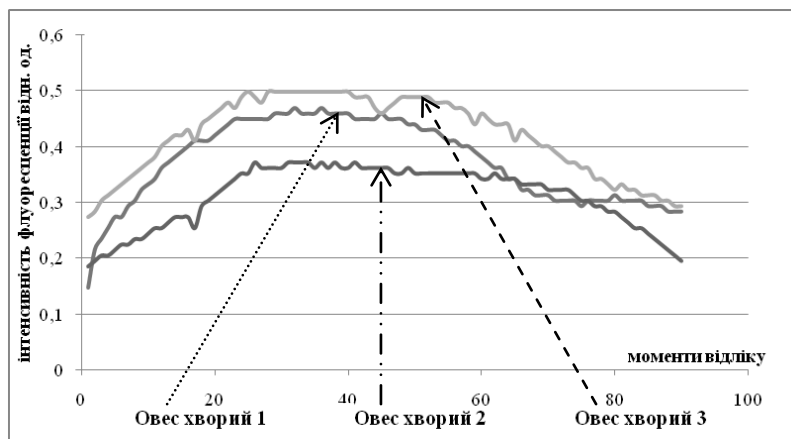


РИС. 9. Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листя вівса

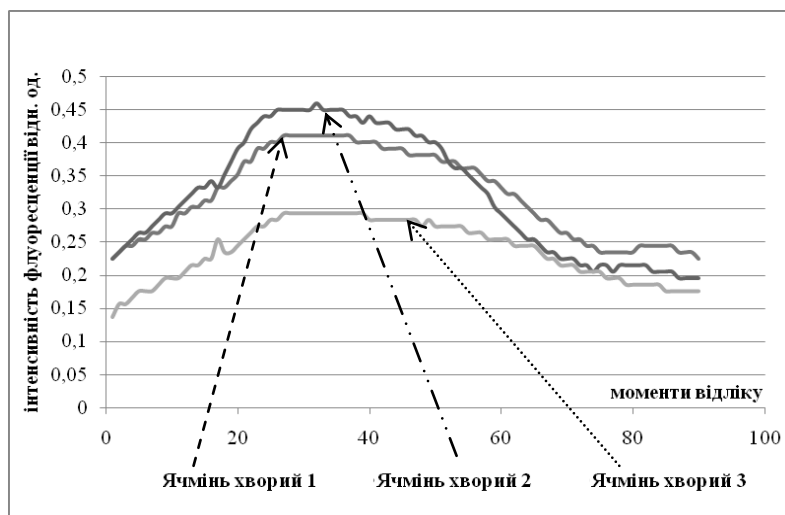


РИС. 10. Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листя ячменю

**Висновки.** Розглянуто особливості практичного застосування портативних біосенсорних приладів, що дозволило зробити наступні висновки.

1. Розроблено програму випробувань, яка включає числові інтервали проведення окремих етапів, необхідні матеріальні та технічні засоби реєстрації впливових факторів на тестову рослину, чисельні та графічні значення досліджуваних сортів рослин, лабораторні виміри за класичними схемами, методи отри-

мання та обробки даних, методики застосування приладу «Флоратест» для експрес-діагностики стану рослин.

2. Як тестовий показник для ранньої діагностики рекомендується використовувати коефіцієнт  $K_{pl} = (F_{pl} - F_o) : (F_p - F_o)$  при визначенні 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 у порівнянні з візуальним спостереженням. Портативний прилад «Флоратест» забезпечує швидке визначення всіх показників індукції флуоресценції хлорофілу для діагностики вірусних інфекцій рослин.

3. Робота виконана в рамках проекту № 5219 за фінансової підтримки Науково-технологічного центру в Україні.

1. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. – Киев: Альтерпрес, 2002. – 188 с.
2. Рубин А.Б. Биофизические методы в экологическом мониторинге // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Том 6, № 4. – С. 7–13.
3. Зеленианська Н.М. Застосування флуоресцентних методів досліджень у виноградному розсадництві Криму // Науковий вісник Національного аграрного університету. – 2008. – Вип. 26. – С. 157–162.
4. Бейбулатов М.Р., Игнатов А.П. Влияние нагрузки куста и длины обрезки плодовых лоз на силу роста, урожай и качество винограда // Виноградарство и виноделие НИВиВ „Магарач”. – Ялта, 2010. – Т. XL. – С. 35 – 36.
5. Власов В.В. Екологічні основи формування ампелоландшафтів: автореф. дис. ... д-ра сільськогосп. наук. – Одеса, 2009. – 36 с.
6. Дикань А.П. Особенности плодоношения винограда и использование их в Крыму. – Симферополь: Бизнес-Информ, 2005. – 240 с.
7. Кисиль М.Ф., Владов П.Г. Формирование продуктивного потенциала винограда в зависимости от экологических условий // Виноделие и виноградарство. – 2010. – № 1. – С. 30 – 31.
8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
9. Пат. 91452 Україна, МПК (2009) G 01 N 21/64, A 01 G 7/00/ Спосіб виявлення вірусних уражень рослин / Д.М. Артеменко, С.О. Васюта, І.Д. Войтович, О.І. Китаєв, П.С. Ключан, Ю.С. Колесник, Л.Т. Міщенко, В.О. Романов, В.А. Скрыга, Ю.М. Таранухо, В.С. Федак; заявник і патентовласник Інститут кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України. – Опубл. 26.07. 2010, Бюл. № 14. – С. 1–10.
10. Володарский Е.Т., Малиновский Б.Н., Туз Ю.М. Планирование и организация измерительного эксперимента. – Киев: Вища школа, 1987. – 280 с.
11. Чернюк С.О., Бойко А.Л., Корнеев Д.Ю. та ін. Вплив вірусу смугастої мозаїки пшениці на параметри індукованої флуоресценції рослин *Triticum aestivum* // Биополимеры и клетка. – 1999. – Т. 15, № 5. – С. 445–448.
12. Міщенко Л.Т. Вірусні хвороби озимої пшениці. – К., 2009. – 352 с.
13. Mishchenko L.T., Kitaev O.I., Mishchenko I.A., Yanishevskaya G.S. Clinostation influence on microspectral parameters of fluorescence in Healthy and virus infected Apogee wheat variety leaves // J. Gravitational Physiology. – 2003. – Vol.10 (1). – P. 31–32.
14. Мельничук М.Д., Посудін Ю.І., Годлевська О.О. та ін. Флуоресцентний аналіз рослин протягом розвитку та в стресових умовах // Агробіологія. – Біла Церква, 2009. – Вип. 1 (64). – С. 1–8.

Отримано 29.09.2011