

АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ КАЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ

Карповский А.Ю., аспирант; Кузнецов Д.Н., доц., к.т.н., доц.

(ГОУ ВПО «Донецкий национальный технический университет», г. Донецк, ДНР)

Территория Донецкой области известна своим сельским хозяйством. Здесь активно развивается выращивание растений в условиях открытого и защищенного грунта. Существуют, как минимум, два перспективных направления выращивания растений.

Первое направление представлено в виде потребительского выращивания высококачественной продукции. Вторым выступает выращивание растений для научно-исследовательской деятельности.

Современное выращивание, для любого из направлений, не обходится без методов и устройств оценки состояния растений. Вопрос о данных методах, хотя и кажется элементарным, всё же является достаточно сложным. Можно просто задуматься о том, как измерить степень процветания или угнетения организма – виталитет. Для оценки виталитета человека необходимы: измерение температуры, давления, состояния крови, кардиограмма, энцефалограмма и т.п. Однако, ни один из этих методов не может гарантировать точность определения состояния человека. При этом человек – один единственный вид, да еще и самый исследованный на планете. В случае с растениями, мы имеем дело с большим количеством, иногда очень отдаленных, видов. Хотя внешне они могут не особо отличаться, но на уровне физиологии и биохимии разные виды отличаются не меньше чем человек и, скажем, мышь полевка. Отсюда и проблемы в однозначности, информативности и точности определения состояния растений. Исходя из этих соображений, важно определить актуальный метод оценки, наиболее подходящий для конкретных условий выращивания. Далее рассмотрены наиболее актуальные методы оценки выращиваемых культур.

Измерение продуктивности растений. Наиболее очевидный метод, основанный на том, что наиболее жизнеспособные растения обладают максимальной производительностью. Под продуктивностью понимается средняя урожайность одного растения.

Наиболее широко распространенным методом сравнения темпов роста среди видов и генотипов является определение относительной скорости роста растения.

$$RGR = \frac{\log(M_2 / M_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

где M_i – масса растения в момент времени t_i .

Согласно формуле (1) можно оценить прирост биомассы на единицу времени на единицу ранее накопленной биомассы, однако необходимо предусмотреть стандартизацию по размеру растений. Можно выделить следующие достоинства метода:

- простота метода;
- надежность и объективность результатов;
- довольно простой математический аппарат обработки измерений биомассы видов;

Однако в данной методике присутствуют следующие недостатки:

- методы требуют долговременных наблюдений
- не подходят для оперативной оценки
- зачастую являются деструктивными, т.е. требуют уничтожения растения при взвешивании и т.п. процедурам.

Кондуктометрический (оценка электропроводности тканей). В основе метода лежит оценка состояния растения по электропроводности межклеточного или внутриклеточного раствора.

Проницаемость клеточных мембран является ранним показателем изменения физиологических функций растительного организма, поэтому ее изменение может служить критерием оценки устойчивости тканей растений к абиотическим стрессорам[1].

Схема исследования кондуктометрическим методом приведена ниже (рис. 1):



Рисунок 1 – Этапы кондуктометрического метода

Исключив стадии выращивания и анализа результатов, рассмотрим основные этапы оценки кондуктометрическим методом. На этапе 1 осуществляется сбор высечек листьев для последующего анализа образцов. На этапе 2 происходит промывка высечек дистиллированной водой, обсушка и деление на части (1 см). Далее части помещаются в емкость и заливаются дистиллированной водой. На этапе 3 происходит экстракция раствора в течение некоторого времени, после чего первый раз измеряется электропроводность раствора. Далее, на этапе 4 раствор нагревается до температуры кипения и охлаждается до комнатной температуры. После этого добавляется вода, дополняющая объем до исходной величины. На этапе 6 второй раз измеряется электропроводность раствора. По данным разности показаний электропроводностей можно оценить устойчивость тканей растений к абиотическим стрессам.

К достоинствам метода можно отнести:

- высокая чувствительность и малая погрешность измерений;
- простота измерения;
- доступность инструментария.

К недостаткам метода относятся следующие:

- величина проводимости не имеет четкой интерпретации в рамках вопросов состояния растений;
- сильная зависимость от геометрии органов, расположения электродов;
- влияние на показания последствий окисления платиновых (или иных) частей электродов кондуктометров.

Определение содержания стресс белков. Стресс белки (либо белки теплового шока) – вид белков, синтезируемых растением в процессе формирования стрессовой реакции.

Ранее полагалось, что одно из общих свойств клеток всех типов живых организмов состоит в том, что в ответ на увеличение температуры они включают синтез специфического

набора белков, которые помогают клетке выжить в условиях температурного стресса и вернуться после его прекращения к нормальной жизни, поэтому их также называют белками теплового шока. Однако современные исследования показали, что основные стрессы, такие как засуха, чрезмерная соленость, воздействия химических веществ и др. стрессы взаимосвязаны в своем влиянии на растения, и также вызывают производство белков теплового шока (Hsps).

Классическая схема определения стресс белков, представленная в источнике[2], основывается на проведении вестерн-блотт анализа.

Вестерн-блотт анализ применяется в биологии, генетике и др. дисциплинах. Классическая схема проведения анализа состоит из следующих этапов (рис. 2):

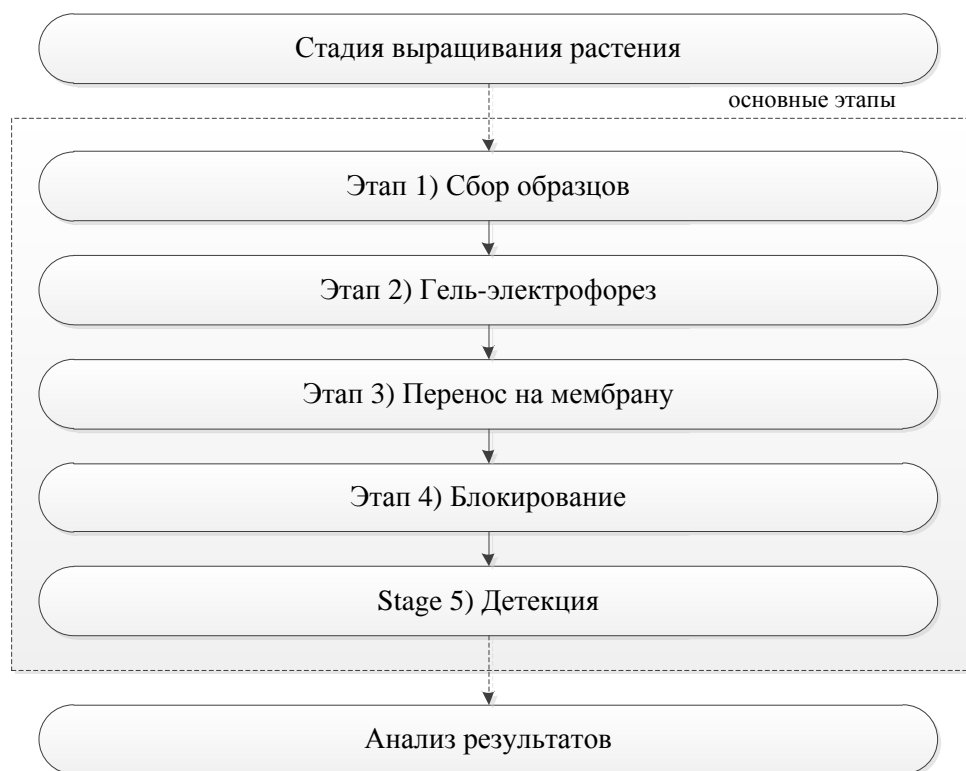


Рисунок 2 – Этапы вестерн-блотт анализа

Необходимым условием проведения тестов такого рода является наличие биохимической лаборатории.

К достоинствам метода можно отнести тот факт, что метод несет высокую информативность. В случае, когда для исследуемого вида или сорта известна норма содержания стресс белков, то превышение их уровня будет явным признаком формирования стресса.

Недостатки метода заключаются в следующем:

- трудоемкость метода;
- присутствует вероятность испортить результаты анализа при несоблюдении технологии подготовки образцов;
- высокая стоимость биохимического анализа;
- деструктивность метода, требующая разрушения всего растения или его части.

Измерение интенсивности фотосинтеза флуориметрическими методами.

Фотосинтез – основной источник органических веществ у подавляющего числа растений. Все стрессовые факторы, действующие на какую-либо часть растения, в конечном итоге прямо или косвенно влияют на фотосинтез[3]. Поэтому из наиболее важных показателей состояния растений является активность их фотосинтетического аппарата на уровне листа. Для качественной оценки прохождения фотосинтеза применяется биофизический метод – индукции флуоресценции хлорофилла.

Для оценки прохождения фотосинтеза применяются приборы – флуориметры. Согласно [4, 5] данный тип приборов широко набирает популярность.

Классическая методика проведения исследования методом индукции флуоресценции хлорофилла имеет следующий вид: фотосинтезирующий объект (чаще всего – лист растения) адаптируют к темноте в течение времени, затем объект освещается светом. При включении света фотоприемник флуориметра фиксирует свет, отражаемый от поверхности листа растения. Данный свет соответствует длинам волн 680.. 760 нм. Фиксируемая кривая индукции, при последующем математическом анализе показывает качество прохождения фотосинтеза растения. Наиболее важными параметрами выступают: начальная флуоресценция, максимальная флуоресценция, переменная флуоресценция, время достижения максимальной флуоресценции и др.

Преимуществом флуориметрических методов является:

- измерения могут проводиться в полевых условиях, теплицах, лабораториях;
- не оказывается разрушающее воздействие на структуру объекта;
- возможность проведения исследования на листьях и других частях растений (ограничивается только конструктивным исполнением флуориметра);
- сравнительно короткая продолжительность измерения (несколько минут);
- относительно низкая стоимость флуориметров и широкий выбор приборов;
- высокая информативность метода.

Однако следует отметить, что полученные значения параметров не в полной мере отображают эффективность процесса фотосинтеза. В целом, результаты должны быть проанализированы в совокупности с другими данными, такими как измерения скорости выделения кислорода или скорости ассимиляции углекислого газа.

Выводы. Каждый из рассмотренных методов имеет свои достоинства и недостатки. В нашем случае, когда необходимо проводить оперативные, высокоточные исследования, не разрушающие структуру растения, наиболее подходящим методом для дальнейшего исследования является измерение фотосинтеза флуориметрическими методами. Исследование явления флуоресценции хлорофилла методом флуориметрии позволит проводить оперативную высокоточную оценку состояния растений. Данные, полученные при оценке протекания фотосинтеза, позволят изучить тему влияния стресс факторов на состояние растения, а также предотвратить гибель растения на ранней стадии реакции на стресс. Поскольку классические методы измерения интенсивности фотосинтеза требуют существенных доработок, необходимость в разработке аппаратно-аналитического метода исследования физиологического состояния растений, основанного на явлении флуоресценции хлорофилла крайне высока.

Перечень ссылок

1. Гришенкова, Н. Н. Определение устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода / Н. Н. Гришенкова // Поволжский экологический журнал. - 2005. - № 1. - С. 3 – 11.
2. Козенко, Л. Е. Количественные изменения белков теплового шока Hsp70 и Hsp90 в реакции проростков гороха на кратковременное действие гипергравитации /Л. Е. Козенко // Доклады национальной академии наук Украины. - 2009. - № 1. - С. 140-143.
3. Нестеренко, Т. В. Индукция флуоресценции хлорофилла и оценка устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям / Т. В. Нестеренко // Журнал общей биологии. – 2007. – С. 444-458.
4. Романов, В. А. Портативный флуориметр Флоратест и особенности его применения Сенсорная электроника и микросистемные технологии / В. А. Романов. – 2010. – Т. 1(7). - № 3. – С. 39-44.
5. Артеменко, Д. М. Хлорофил-сенсоры полевых приборов / Д. М. Артеменко // Биосенсори. – Институт кибернетики имени В.М. Глушкова НАН Украины – 2012 - С. 43-49.