

**ОЦІНКА ЗВ'ЯЗКУ МІЖ ФАКТОРАМИ
НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ТА ДЕЯКИМИ
ПАРАМЕТРАМИ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ХЛОРОФІЛУ
РОСЛИН ЗАКРИТОГО ҐРУНТУ МЕТОДОМ ГОЛОВНИХ
КОМПОНЕНТ**

**Герц А.І.¹, Підліснюк В.В.², Голуб Ю.І.¹, Татарин Н.О.¹,
Герц Н.В.¹**

¹Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

²Purkyne University in Usti nad Labem, Czech Republic

E-mail: herts@chem-bio.com.ua

Вивчення функціональних характеристик фотосинтетичного апарату (ФА) рослин, вирощених за змінних умов середовища, може забезпечити більш глибоке розуміння закономірностей регуляції фотосинтетичної діяльності рослин та пояснення їх адаптаційного потенціалу. Фотосинтетичні процеси активно проявляються у різних індукційних явищах і, зокрема, в явищі флуоресценції хлорофілу (ФХ), яке дозволяє отримувати інформацію про фізико-хімічний і функціональний стан фотосинтетичного апарату (ФСА). В залежності від потенційних можливостей ФСА та зовнішніх умов, шляхи реалізації енергії квантів світла змінюватимуться [2]. Кожний поглинутий пігментами квант світла може: або індукувати первинне розділення зарядів у реакційних центрах (РЦ) фотосистем, або дисипувати в тепло чи висвітитися у вигляді кванта флуоресценції.

Існує кілька методів вимірювання флуоресценції і низка флуориметрів для цього. Найбільш практичними і часто використовуваними методами вимірювання є пряма реєстрація флуоресценції і модуляція флуоресценції. На сьогодні, метод індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) дає можливість оцінити загальний біоенергетичний статус рослини [1, 2]. Враховуючи, що випромінювання флуоресценції прямо або опосередковано відображають всі етапи світлової фази фотосинтезу: фотоліз води, перенесення електронів, генерація електрохімічного, рН

Фундаментальні та прикладні проблеми природничих наук

градієнтів на мембранах тилакоїдів, синтез АТФ тощо, стало можливо інтактно оцінити електронтранспортний ланцюг (ЕТЛ) хлоропласта загалом [1, 3].

Аналізуючи форми кривих індукційних переходів флуоресценції хлорофілу, абсолютні, нормалізовані значення вимірних сигналів, можна, дослідивши певні ділянки фотосинтетичного електронтранспортного ланцюга, ідентифікувати вплив стресу на них. Власне інформація про тип стресу прихована та міститься у вигляді низки взаємопов'язаних параметрів флуоресценції чи, у випадку прямої реєстрації флуоресценції хлорофілу, у формі кривої Каутського [1].

Виявлення подібних видів прихованої інформації можливе за допомогою додаткової, вторинної обробки даних. Для цього використовують методи машинного навчання, що дозволяють проводити аналіз великих наборів даних, точність та складність яких не можуть бути ефективно проаналізовані статистичними методами. Поряд з цим, існують інші підходи, які на відмінну методів штучного інтелекту, не вимагають спеціальних знань від дослідника. Зокрема, метод головних компонент (МГК), що відноситься до групи методів багатофакторного аналізу. Основне його завдання - зменшення розмірності даних [2].

У роботі, параметри флуоресценції хлорофілу отримували за допомогою РАМ- флуорометрів MultispeQ V1.0 (США) та PAR-FluorPen FP 110 (Чеська Республіка). Об'єктами дослідження виступали рослини міскантуса гігантського (*Miscanthus × giganteus*), що вирощувались в умовах закритого ґрунту.

Отримані дані, що характеризували низку параметрів флуоресценції хлорофілу, використовували для подальшого аналізу. Серед ключових показників флуорометра MultispeQ, які описували первинні процеси фотосинтезу, було виокремлено: F_{PSII} – квантова ефективність ФСІІ; NPQ_t – нефотохімічне гасіння, оцінене без темної адаптації; ϕNPQ – квантовий вихід NPQ ; ϕNO – частка світлової енергії, що поглинається ФСІІ та втрачається через нерегульовані процеси; qL – частка відкритих реакційних центрів ФСІІ; LEF – лінійний електронний транспорт, як найбільш інформативні [4]. Іншу групу, формували кількісні характеристики ОЛІР-теста, зокрема, Q_y , Mo , Sm , Ss , N , ϕPo , ϕEo ,

Фундаментальні та прикладні проблеми природничих наук

ϕDo , ϕP_{av} , ABS/RC, Tro/RC, Eto/RC, Dio/RC [1], які отримували за допомогою PAR-FluorPen FP. Останні, базуються на теорії потоків енергії в мембранах тилакоїдів [1, 2].

З метою виявлення скритих, об'єктивно існуючих та обумовлених дією зовнішніх чинників на фотосинтетичний апарат, зв'язків між вищезгаданими параметрами використовували середовище R та бібліотеку – FactoMineR (<https://cran.r-project.org/web/packages/FactoMineR/index.html>). Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез становив $p > 0,05$. Застосувавши багатофакторний аналіз, зокрема метод головних компонент (МГК) [5], було зменшено набір змінних флуоресценції хлорофілу до кількох найбільш інформативних. Отримані нами дві головні компоненти (ГК) вміщали у компактній формі вимірюваний показник та мали стохастичний зв'язок з останніми.

До першої ГК, яка відображає напрям, вздовж якого масив спостережень має найбільшу дисперсію, ввійшли близько 55% усіх параметрів флуоресценції хлорофілу a : M_o , ABS/RC, ϕP_{av} , Dio/RC, Tro/RC, Ss, ϕE_o , ϕP_o , N, ϕDo та NPQt, ϕNPQ . Інші флуорисцентні параметри, які також були розраховані на основі отриманих даних: Sm, Eto/RC, Qy та Φ_{PSII} , ϕNO , мали незначний вклад у формування першої ГК.

Для кращого розуміння того, які процеси та структури фотосинтетичного апарату, відповідно до умов вирощування, зазнали впливу, корисним є застосування графічного підходу. Доцільним в цьому випадку є використання біплоту або подвійного графіку, який описує координати точок, що відображають стан досліджуваних зразків і одночасно показує вектори, що містять спостережувані змінні. Ці вектори дають нам інформацію щодо відносного «внеску» кожної змінної у формування основних компонент (ГК1 та ГК2). Напрямок та величина вектора є показником цього. Таким чином, ми можемо отримати інформацію, спрогнозувати вплив досліджуваних факторів на ріст та розвиток рослин.

Використавши два різних підходи вимірювання флуоресценції хлорофілу, після темної адаптації та без темної адаптації рослин, ми виокремили параметри, які можна використати як маркери при оцінці стану фотосинтетичного

Фундаментальні та прикладні проблеми природничих наук

апарату рослин. Одними з таких, які не залежали від вибраного нами методу, приладної бази дослідження були показник NPQ_t, фNPQ, фDo, Dio/RC. Два перших, оцінюють нефотохімічне гасіння хлорофілу та використовуються РАМ-флуориметром MultispeQ. Інші два, характеризують загальну кількість енергії, що розсіюється одним реакційним центром (РЦ) у вигляді тепла та квантову ефективність розсіювання енергії відповідно, і були отримані за допомогою PAR-FluorPen FP 110. Досліджувані флуоресцентні параметри, які характеризували розсіювання енергії квантів світла у вигляді тепла ФСП, були представлені у скорельованому вигляді та проектувались на одну і ту ж площину координат. Негативно скорельовані змінні позиціонуються на протилежній стороні.

Список літератури

1. Гольцев В.Н. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений / В.Н. Гольцев, Х.М. Каладжи, М. Паунов, В. Баба, Т. Хорачек, Я. Мойски, Х. Коцел, С.И. Аллахвердиев // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 6. – С.881–907.
2. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel / Kalaji HM et al. *Photosynth Res.* 2017. Vol. 132, №1. P. 13-66.
3. Lichtenthaler H.K., Rinderle U. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 1988. Vol. 19. P. 29–85.
4. Maxwell K., Johnson G.N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *J. Exp. Bot.* 2000. Vol. 51. P. 659– 668.
5. Principal Component Analysis, Second Edition URL: [http://cda.psych.uiuc.edu/statistical_learning_course/Jolliffe%20I.%20Principal%20Component%20Analysis%20\(2ed.,%20Springer,%202002\)\(518s\)_MVsa_.pdf](http://cda.psych.uiuc.edu/statistical_learning_course/Jolliffe%20I.%20Principal%20Component%20Analysis%20(2ed.,%20Springer,%202002)(518s)_MVsa_.pdf) (Last accessed: 19.03.2020).