

FLUORIMETRIK USULDA O'SIMLIK NAVLARINING VILTGA CHIDAMLILIGINI ANIQLASH

Ernazarov Shamsiddin Norchayevich

Toshkent kimyo-texnologiya instituti, dotsent v.b.

email: sh.ernazarov@list.ru

tel: +998946056203

Annotatsiya: Paxta o'simligi navlari ustida o'tkazilgan tajribalar asosida o'simlikning morfologik ko'rsatgichlari bilan barglarning fluoressent nurlanishi o'rtasidagi bog'liqlik aniqlangan. Sun'iy ravishda vilt zamburug'i bilan kasallantirilgan va mineral ozuqa yetishmochiligida yetishtirilgan o'simlik barglarida indutsirlangan-lazer fluoressensiyasi spektrlari shaklidagi sezilarli o'zgarishlar kuzatilgan. Spektral o'zgarishlar kasallanishning tashqi belgilari paydo bo'lmasdan ancha oldin qayd qilinishi ushbu usul o'simliklardagi stress holatlarni erta aniqlash imkonini yaratishi mumkinligi ko'rsatilgan.

Kalit so'zlar: lazer, fluoressensiya, spektr, paxta o'simligi, fotosintetik apparat, xlorofill.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИЛТО-УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ МЕТОДОМ ФЛУОРЕМЕТРИИ

Эрназаров Шамсиддин Норчаевич

Ташкентский химико-технологический институт, и.о.доцента

email: sh.ernazarov@list.ru

тел: +998946056203

Аннотация: На основании экспериментов, проведённых на сортах хлопчатника, установлена связь между морфологическими характеристиками растения и флуоресцентным излучением листьев. Значительные изменения в

характере спектров индуцированной лазерной флуоресценции наблюдались в листьях растений, искусственно заражённых грибом вилта и выращенных в условиях дефицита минеральных элементов питания. Показано, что данный метод позволяет на ранних стадиях выявлять стрессовые состояния растений, поскольку спектральные изменения можно обнаружить задолго до появления внешних признаков заболевания.

Ключевые слова: лазер, флуоресценция, спектр, хлопчатник, фотосинтетический аппарат, хлорофилл.

DETERMINATION OF WILTO RESISTANCE OF PLANTS BY FLUOREMETRY

Shamsiddin Ernazarov

Tashkent Institute of Chemical Technology, prof. assistant

email: sh.ernazarov@list.ru

тел: +998946056203

Abstract: Based on experiments conducted on cotton varieties, a relationship was established between the morphological characteristics of the plant and the fluorescent radiation of the leaves. Significant changes in the nature of the spectra of induced laser fluorescence were observed in the leaves of plants artificially infected with the wilt fungus and grown under conditions of deficiency of mineral nutrients. It was shown that this method allows for the early detection of stress conditions in plants, since spectral changes can be detected long before the appearance of external signs of the disease.

Key words: laser, fluorescence, spectrum, cotton plant, photosynthetic apparatus, chlorophyll.

Kirish. Hozirgi kunda lazer texnikasi yutuqlari hamda sezgir o'lchov uskunalari birgalikda qo'llash, o'simliklarning fotosintetik apparatida sodir

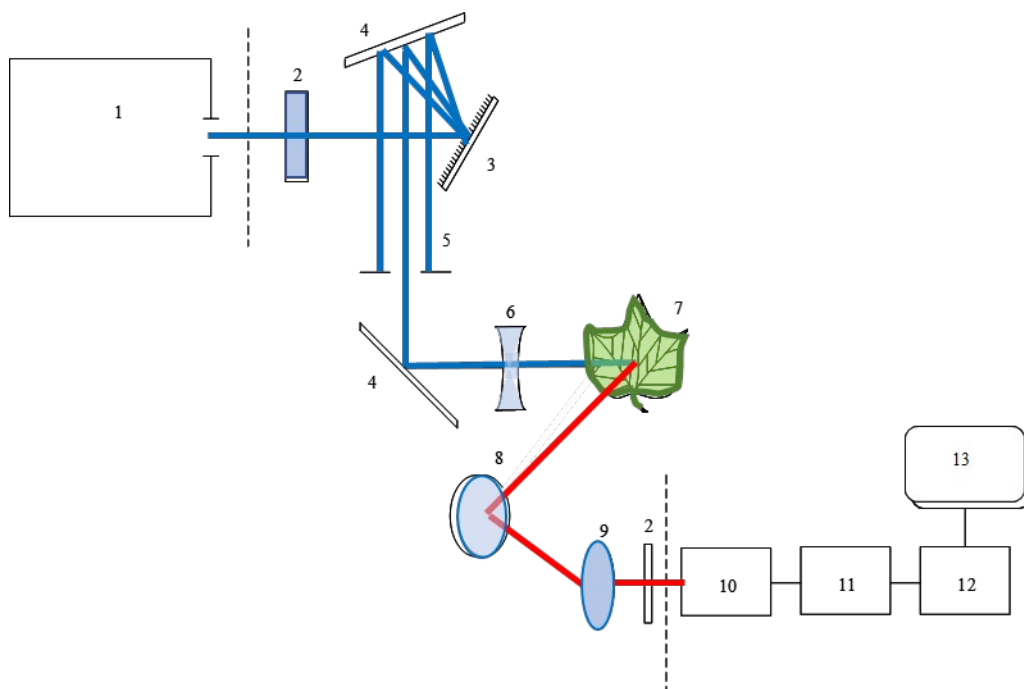
bo'ladigan birlamchi jarayonlarni o'rganish uchun noyob imkoniyatlarni yaratmoqda. Bu esa, o'z navbatida, lazer spektroskopiyasi yordamida o'simliklarning fiziologik holatini tashhis qilishning noyob usuli sifatida foydalanish imkonini beradi. Atrof-muhitdagi ekologik vaziyatni nazorat qilish va o'simliklar dunyosi holatini monitoring o'tkazishda turli uchish vositalarida o'rnatilgan optik qurilmalar yordamida masofadan zondlash eng istiqbolli va tez rivojlanayotgan yo'nalishlardan biri bo'lib qolmoqda [1]. Lazer nurining yuqori darajadagi monoxromatliligi, o'rganilayotgan ob'ektga aniq yo'naltirilishi mumkinligi, hamda ob'ekt atomlarini selektiv qo'zg'atilishi orqali ayni unga tegishli bo'lgan ma'lumotlarnigina qayd qilish imkonini berishi, bu usulning passiv zondlash, ya'ni quyosh nurlari sochilishini qayd etuvchi fotometriya usullariga qaraganda bir qator afzalikka ega ekanligini ko'rsatdi [2].

Bizning mamlakatimiz uchun paxta va boshqa o'simliklar holatini masofadan turib ekspress diagnostikalash, ularning biomassasini, fiziologik holatini aniqlash, hosildorligini bashorat qilish, mineral oziqlantirish, turli kasallanishlarning oldini olish, suv resurslaridan samarali foydalanish kabi ilmiy-amaliy masalalarni hal qilish dolzarb vazifa hisoblanadi. Bu borada lazer nurlari ta'sirida o'simlik bargidan chiqariladigan ikkilamchi nurlanish spektrlaridan qayd qilish asosida o'simliklarning holatini aniqlash va ularning fotosintetik apparatining ishlash mexanizmlarini tahlil qilish alohida qiziqish uyg'otadi. Bu tadqiqotlar uyg'ongan xlorofill molekulalaridan fluoressent nurlanish tarzida chiqayotgan energiya bilan elektronlarning xujayra tilakoidlaridagi zanjir bo'ylab ko'chishi va energiya uzatilishi bilan bog'liq fizik jarayonlarni chuqurroq tushunish uchun asos bo'ladi [3]. Fluoressent nurlanishning spektral shakli va fotosintetik apparatning ishlashi o'rtasida mavjud bog'liqlikni aniqlash masofaviy o'lchov natijalarini to'g'ri talqin qilish uchun ham zarurdir.

Tajriba natijalari

Laboratoriya tajribalari 1-rasmda keltirilgan «OSA-WP-4» rusumidagi ko'p kanalli optik spektroanalizator yordamida amalga oshirildi. Nurlanishni uyg'otish

manbasi sifatida takrorlanish chastotasi $50 \div 100$ Gs., impulsning davomiyligi 6-8 ns bo'lgan LGI-505 ($\lambda = 337$ nm) rusumidagi azot lazeridan foydalanildi.



1-rasm. Spektral qurilmaning tuzilishi

1-lazer LGI-505 ($\lambda = 337$ nm), 2-svetofiltr, 3-difraksion panjara, 4-ko'zgu,

5-diafragma, 6-sochuvchi linza, 7-o'simlik bargi, 8-sferik ko'zgu, 9-linza,

10-polixromator VM-25/25, 11-kamera ISIT-500, 12-kompyuter, 13-displey.

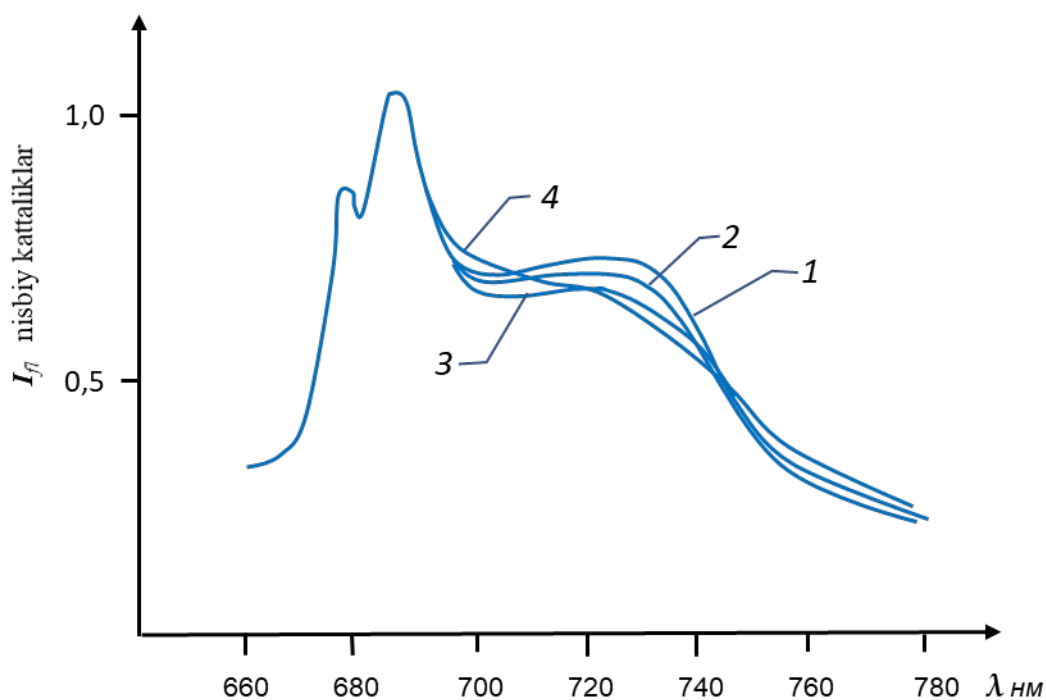
Laboratoriya sharoitida yetishtirilgan paxta navlari ustida o'tkazilgan tajribalar spektral parametr (K) bilan ko'chatlarning morfologik ko'rsatgichlari o'rtasida chambarchas bog'liqlik mavjudligini ko'rsatdi (1-jadval).

1-jadval

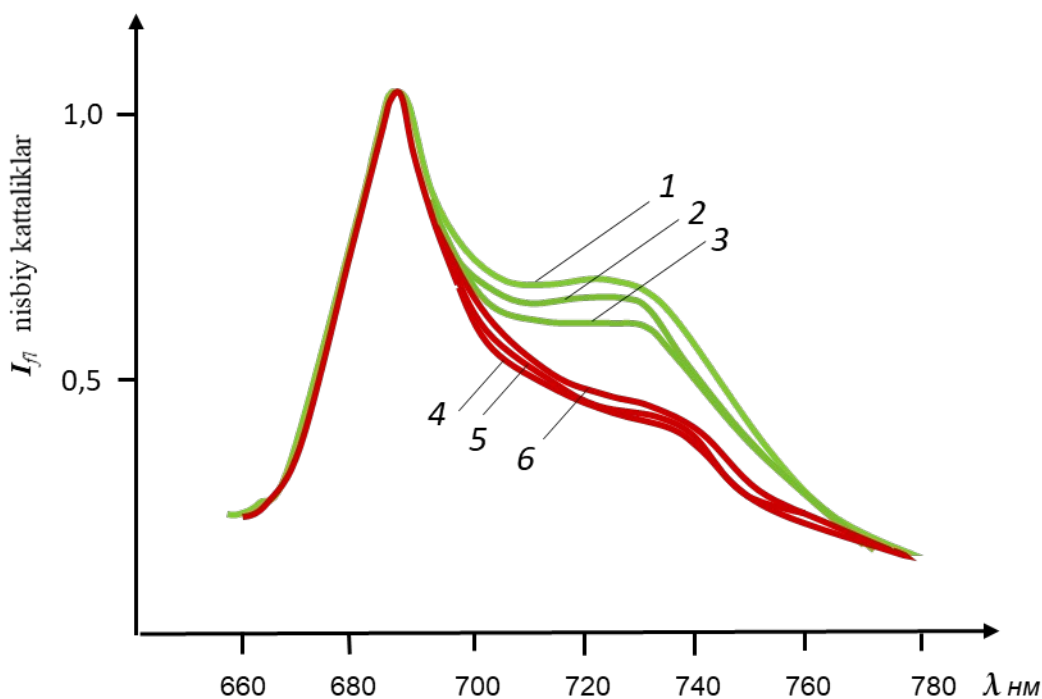
O'simlik holati	Tajriba №	Xlorofill miqdori (mkg)			O'sim. o'rtacha bo'yi (sm)	1 o'sim. barglar soni (dona)	K
		1 g. xom vaznda (mkg/g)	1 dm ² barg yuzasida mkg/dm ²	Bitta o'simlikda			
Mineral ozuqa yetishmagan	1	2743	3562	5703	13,1	3,5	0,534
	2	2898	3664	6025			0,717
	3	2854	3706	5933			0,561
Normal sharoitdagi	1	3323	4482	9282	16,4	4,1	0,478
	2	3451	4316	9640			0,469

	3	3385	4396	9153			0,461
--	---	------	------	------	--	--	-------

Sun'iy ravishda vilt *Veticillium dahliae* (v.d) zamburug'i bilan bilan kasallantirilgan paxta o'simligi barglarida indutsirlangan-lazer fluoressensiyasi spektrlarni o'lchash shuni ko'rsatdiki, dastlabki 2 kun davomida sog'lom va zararlangan o'simliklar barglarining flouretsent spektrlarining shakli va intensivligida sezilarli farqlar qayd etilmaydi (2-rasm). Flouretsent spektrlarida birinchi sezilarli farqlar 3- kunda (infeksiyadan 60 soat keyin) kuzatila boshlandi. O'zgarishlar to'lqin uzunligining 735 nm sohasidagi maksimumining nisbiy intensivligining pasayishi va keyingi kunlarda muntazam pasayib borishi tarzida namoyon bo'ldi va 685 nm dagi asosiy maksimum qiymati o'zgarishsiz saqlandi. Shunisi diqqatga sazovorki, kasallikning yashirin davrining ushbu bosqichida zararlantirilgan o'simliklarning tashqi belgilari sog'lom o'simlikdan farq qilmaydi. Kasallikning sezilarli darajadagi vizual belgilari vilt infeksiyasi yuqtirilgandan keyin faqat beshinchi kuni namoyon bo'la boshladi. Ular xlorozda va barg to'qimalarini qirralari bo'ylab va tomirlar orasida kichik orolchalar shaklida sarg'aygan dog'lar yuzaga kelishi tarzida kuzatildi. O'simlik infeksiyasidan 9-10 kun o'tgach, sarg'aygan joylarning nekrozi va qurishi sodir bo'ldi. Paxta o'simligi kasalligining ushbu vizual belgilari, mikrobiologik tahlil ma'lumotlariga ham to'g'ri kelishi aniqlandi.



2-rasm. Paxta o'simligi bargining fiziologik holatini indutsirlangan-lazer fluorescent spektrlari (uyg'otuvchi to'liqin uzunligi $\lambda = 337 \text{ nm}$), 1-sog'lom barg, 2,3-vilt bilan sun'iy zararlanirilgandan 48 soat o'tgach, 4-zararlanishdan 60 soat o'tgach .



3-rasm. Fluorescent nurlanish spektrining o'simlik holatigi bog'liqligi. 1,2,3-egri chiziqlar sog'lom barglar, 4,5,6-egri chiziqlar kasallikning tashqi belgilari paydo bo'lgan holat

Yuqorida ta'kidlab o'tilganidek, tajriba davrida sog'lom o'simliklardagi maksimumlarning shakli va nisbiy intensivligi o'zgarmagan holda, kasallikning vizual belgilari paydo bo'lgan o'simliklarda spektrning formasida keskin o'zgarishi kuzatildi (3-rasm). Bunda 760 nm to'lqin uzunligida kuzatilayotgan maksimumi dastlab sog'lom o'simliklar uchun 1,2,3 -egri chiziqlar ko'rinishda bo'lib, kasallikning rivojlanishi bilan u muntazam pasayib, keyinchalik monoton ravishda kamayib boruvchi egri chiziqni hosil qiladi (3-rasm, 4,5,6-egri chiziqlar).

Natijalar tahlili

Ma'lumki, yashil o'simlik barglarida kuzatilayotgan qizil va uzoq qizil diapazonlaridagi fluoressent nurlanishga xlorofill *a* asosiy hissa qo'shadi. Xona haroratida bu spektr ikkita-asosiy 680 ÷ 690 nm (qizil) va 730 ÷ 740 nm (uzoq qizil) diapazonda joylashgan intensivligi nisbatan kamroq maksimumlarga ega. II fotosistema (FS II) fluoressent spektrining qizil diapazondagi deyarli barcha nurlanishni va uzoq qizil diapazondagi nurlanishning katta qismini tashkil qiladi. Fluoressent nurlanishining uzoq-qizil sohasidagi (710-715 nm) emissiyaning faqat kichik bir qismi I fotosistema (FS I) ga tegishli bo'lishi mumkin [4].

FS I hissasining bunday kichik bo'lishi sabablaridan biri quyidagi omillarga bog'liq ekanligi deb taxmin qilinadi: FS I ning reaksiya markazi FS II ga nisbatan chuqurroq energiya "o'rasiga" to'g'ri keladi, shuning uchun antenna kompleksidan P700 pigmentiga uzatilgan elektronlar deyarli qaytmaydi, natijada yorug'lik yig'uvchi pigmentlarning qo'zg'alish energiyasi fluoressent kvantlariga sarflanishi mumkin emas [5]. Ikkinchi omil sifatida, FS II ning to'g'ridan-to'g'ri elektron qabul qiluvchi reaksiya markazi (RM) xlorofill *a* ning fluoressensiyasini deyarli to'liq o'chiradi deb taxmin qilishimiz mumkin, chunki zanjir bo'ylab elektronlarni keyingi o'tishiga to'sqinlik qilmaydi. Bundan shuni kutish kerakki, FS II ning faolligi o'zgarganda, uzoq qizil sohadagi fluoressensiya intensivligi o'zgarishi hisobiga $K=I_{740}/I_{690}$ nisbat ham o'zgaradi. Shunday qilib, *K* parametrdan o'simliklarning stress holatini aks ettiruvchi fiziologik ko'rsatkich sifatida

foydalanish mumkin [6,7]. Biroq, K ning o'lchash natijalarini baholashda FS I va FS II fotosistemalari tomonidan qizil sohadagi (680-690 nm) fluoressensiyasining reabsorbsiyasini va uzoq qizil diapazonda (730-740 nm) fluoressensiyaning reemissiyasini ham hisobga olish kerak. O'simlik barglaridagi xlorofill konsentratsiyasi qanchalik yuqori va barg qanchalik qalin bo'lsa, reemissiya darajasi kamayib, K (I_{740}/I_{690}) nisbat shunchalik yuqori bo'lishi aniqlangan. K nisbatning baholash barglardagi xlorofill miqdorini aniqlash uchun ham noinvaziv usul sifatida ishlatish mumkin degan xulosaga kelingan [8].

Lekin mazkur tajribalarda, ya'ni mineral oziqa yetishmasligi xlorofill konsentratsiyasi kamayishiga olib kelsada, K (I_{740}/I_{690}) nisbatning qiymati aksincha ortishini kuzatildi (1-jadval). Bu natijani mineral stress sharoitida $P700$ da to'plangan energiyaning reaksiya markaziga RM uzatilishi qiyinlashib, 740 nm sohasida reemissiya darajasi ortishi bilan izohlash mumkin.

Ikkinchi holatda, ya'ni vertitsillyoz so'lish holatida, kasallanish rivojlanishi mobaynida spektrning uzoq qizil (740 nm) sohasiga tegishli nurlanishning pasayishi kuzatildi. Bu qonuniyatni vilt kasalligi ta'sirida fotosintezning samaradorligi susayishi va buning oqibatida yutilgan energiyaning asosiy qismi reemissiyaga sarflanib, asosiy maksimum (680 nm) dagi fluoressent nurlanishning nisbiy ulushi ortishi bilan izohlash mumkin.

Xulosa

Tajribalar natijasida sog'lom va kasal o'simliklarga mos keladigan fluoressent spektrlarning shaklida aniq farqlar mavjudligi aniqlandi. Shuni ta'kidlash kerakki, o'simliklarning patologik holati kasallikning vizual belgilari kuzatilmasa ham, yashirin kechayotgan o'zgarishlar fluoressent spektrlarda yaqqol namoyon bo'lishi kuzatildi.

Olingan natijalar tashqi omillar ta'sirida K parametri yoki spektrdagi siljishlarni faqat xlorofill molekulalari konsentratsiyasining siljishlarini hisobga olgan holda talqin qilishning o'zi yetarli emasligini ko'rsatdi. Spektral o'zgarishlar o'simlikning fotosintetik apparatida tashqi ta'sirlar tufayli yuzaga keladigan

konformatsion siljishlar tufayli oqsil va xromofom o'rtasidagi nozik munosabatlarni o'zgarishi [9] natijasi bo'lishi mumkinligini e'tiborga olsak, har bir stress holat uchun alohida izlanishlar olib borish kerakligini e'tirof etish lozim.

Shu bilan birga, olingan dastlabki natijalar fluoressent spektroskopiya usuli vositasida o'simliklarda turli salbiy omillar ta'sirida yuzaga keladigan patologik o'zgarishlarni erta aniqlash imkonini ko'rsatadi. Bu esa tegishli agrotexnik tadbirlarni o'z vaqtida qo'llash imkonini yaratadi va xususan, viltga chidamli paxta navlari seleksiyasida tanlov muddatlarini keskin qisqartirishga erishilishni ta'minlaydi.

Foydalanilgan adabyotlar

- 1.Федотов Ю.В., Булло О.А., Белов М.Л., Городничев В.А. Дистанционный лазерный флуориметр для обнаружения стрессовых состояний растительности // Радиооптика, МГТУ им. Н.Э.Баумана. Электрон.журн. 2017. « 01. С. 1-13.
2. Маслов Д.В., Фадеев В.В., Литвинов П.Н. Трёхпараметрическая модель формирования флуоресцентного отклика фотосинтезирующих организмов при импульсным лазерном возбуждении // Вестн. МГУ. Сер. 3. 2002. № 1. С.34-37.
3. Erkin Zakhidov, Sherzod Nematov, Vakhobjon Kuvondikov. Monitoring of the drought tolerance of various cotton genotypes using chlorophyll fluorescence. Applied Photosynthesis: New Progress. - 2016. 91-110.
4. Henriques F.S. Leaf Chlorophyll Fluorescence: Background and Fundamentals for Plant Biologists // Bot. Rev. –2009. – Vol. 75. – P. 249–270.
5. Govindjee. Sixty-three years since Kautsky: Chlorophyll fluorescence // Aust. J. Plant. Physiol. – 1995. – Vol. 22. – P. 131–160.
6. Agati G., Cerovic Z.G., Moya I. The Effect of Decreasing Temperature up to Chilling Values on the in vivo F685/F735 Chlorophyll Fluorescence Ratio in Phaseolus vulgaris and Pisumsativum: The Role of the Photosystem I Contribution to the 735 nm Fluorescence Band // Photochemistry and Photobiology. –2000.– Vol. 72. – P. 75–84.
7. Lichtenthaller H.K., Rinderle U. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants // Analyt. Chem. – 1988. – Vol. 19 (Supplement). – P. 29–85.
8. Buschmann C. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves // Photosynth. Res. – 2007. – Vol.92. – P. 261–271.
9. A. Massacci, S.M. Nabiev, L. Pietrosanti, S.K. Nematov, T.N. Chernikova, K. Thor, J. Leipner. Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. Plant Physiology and Biochemistry, - 2008, - Vol. 46 (2). - P. 189-195.