



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **100642** (13) **C2**
(51) МПК

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 21/63 (2006.01)

G01N 21/33 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

| | |
|--|--|
| <p>(21) Номер заявки: а 2011 15063</p> <p>(22) Дата подання заявки: 19.12.2011</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.01.2013</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 25.04.2012, Бюл.№ 8</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.01.2013, Бюл.№ 1</p> <p>(72) Винахідник(и): Кондратов Владислав Тимофійович (UA), Романов Володимир Олександрович (UA), Брайко Юрій Олексійович (UA), Мільченко Анастасія Володимирівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ІНСТИТУТ КІБЕРНЕТИКИ ІМ. В.М. ГЛУШКОВА НАН УКРАЇНИ, пр. Академіка Глушкова, 40, м. Київ-187, 03187 (UA)</p> | <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 83752 C2, 11.08.2008. UA 85524 C2, 26.01.2009. Pavel Pospisil, Jiri Skotnica, Jan Naus. Low and high temperature dependence of minimum F0 and maximum Fm chlorophyll fluorescence in vivo // BBA-Bioenergetics, 1998. V. 1363, N2, P. 95 – 99. H. Kautsky, A. Hirsch Neue Versuche zur Kohlensäureassimilation. Naturwissenschaften, 27. November 1931, Volume 19, Issue 48, p 964. P. Ilík et al. Chlorophyll fluorescence temperature curves of spruce needles from different whorls of the tree. Photosynthetica, 34(3), P. 477-480. R. Kouril et al. High-temperature induced chlorophyll fluorescence rise in plants at 40-500C: experimental and theoretical approach. Photosynthesis research, 2004, 81: 49-66. Murata N., Fork D.C. Temperature Dependence of Chlorophyll Fluorescence in Relation to the Physical Phase of Membrane Lipids in Algae and Higher Plants. Plant Physiol. 1975, 56, P.791-796. Amarendra Narayan Misra, Meena Misra, Ranjeet Singh Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology, Biophysics, InTech, Published online 21, March, 2012. http://cdn.intechopen.com/pdfs/33300/InTech-Chlorophyll_fluorescence_in_plant_biology.pdf Ковирьова О.В.. Моделі фотосинтезу та комп'ютерна оцінка стану рослин. / Комп'ютерні засоби, мережі та системи. - К.: ІК НАНУ. - № 9 - 2010. - С.72-81. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. - К.: Альтерпрес. - 2002. - 190 с. http://www.oocities.org/photosynthesis_kiev/Kornyeyev_book.pdf Гаевский Н.А., Сорокина Г.Л., Гольд В.М., Ладыгин В.Г., Гехман А.В., Изучение природы термоиндуцированных изменений флуоресценции хлорофилла с использованием мутантов Chlamidomonas Reinhardtii // Физиология растений, 1985. - Т. 32. - № 4. - С. 678-680. Гаевский Н.А., Ладыгин В.Г., Гольд В.М. Новые данные о природе высокотемпературного подъема флуоресценции хлорофилла // Физиология растений, 1989. - Т. 36. - С. 374-277.</p> |
|--|--|

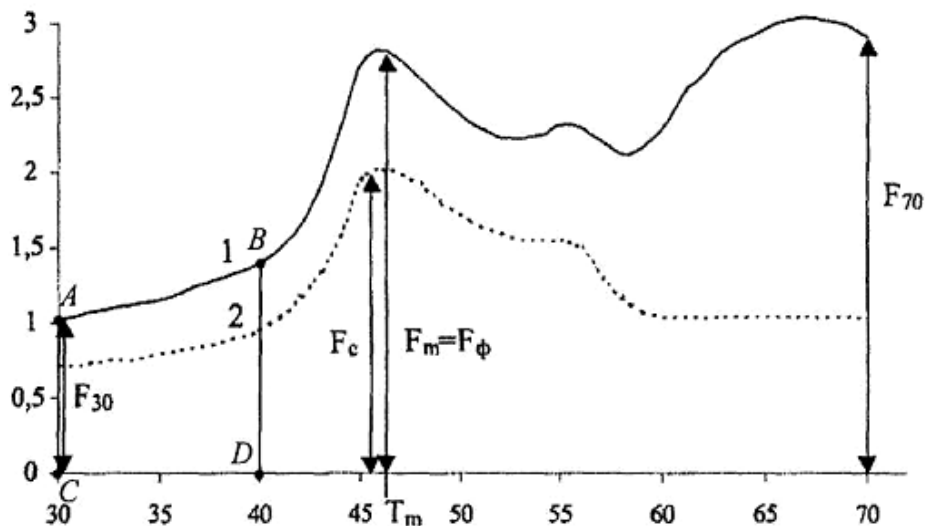
(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ЯВИЩА ФОТОСИНТЕЗУ ХЛОРОФІЛУ У ЛИСТЯХ РОСЛИН (КРИВОЇ КАУТСЬКОГО)

(57) Реферат:

Винахід належить до області вимірювальної техніки і може бути використаний при створенні високоточних вимірювачів параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листях рослин. Спосіб визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листях рослин (кривої Каутського) передбачає витримання листка рослини у темряві протягом апріорі визначеного інтервалу часу для листка того чи іншого виду рослини, формування ультрафіолетового потоку оптичного випромінювання заданої інтенсивності (потужності), довжини хвилі, ширини

UA 100642 C2

спектральної смуги пропускання та нерівномірності спектральної характеристики, освітлювання листка рослини сформованим ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання протягом заданого інтервалу часу, індукування флуоресценції хлорофілу у листку рослини, виділення потоку оптичного випромінювання (флуоресценції) у заданому діапазоні довжин хвиль, підсилення його інтенсивності (потужності) і перетворення у змінну за часом напругу, підсилення її, перетворення миттєвих значень отриманої напруги у коди чисел вибірок, запам'ятовування їх значень з наступною обробкою кодів чисел вибірок, в тому числі й статистичною, визначення характерних точок кривої Каутського та параметрів цієї кривої за відомими рівняннями вимірювань з наступною візуалізацією отриманих даних разом з кривою Каутського. При цьому до освітлювання листка рослини ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання, з наперед заданою швидкістю і протягом заданого інтервалу часу, який не перевищує час тримання листка рослини у темряві, змінюють температуру листка рослини до апіорі заданого оптимального значення $T_{опт}$, що залежить від сорту та виду рослини і знаходиться у встановлених межах Δt , стабілізують встановлене оптимальне значення температури $T_{опт}$, при якій має місце мінімальна чутливість явища фотосинтезу хлорофілу до зміни температури хлоропластів листка рослини і яке не перевищує нижню допустиму границю порогу виникнення термоіндукції, при цьому температуру стабілізують з похибкою Δt , що не перевищує $\pm 0,1$ °C, витримують встановлене значення температури протягом часу визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листку рослини.



Загальний вигляд кривої термоіндукції флуоресценції хлорофілу

Фіг.4

Винахід належить до галузі вимірювальної техніки і може бути використаний при створенні засобів вимірювання параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин різних видів.

Відомий спосіб визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин (кривої Каутського) (див. наприклад, І.Б. Полякова. Общая биология. <http://bio.1september.ru/2002/34/5.htm>. Фотосинтез и его регуляция), оснований на витримуванні листка рослини у темряві протягом апріорі визначеного інтервалу часу для листка того чи іншого виду рослини, формуванні ультрафіолетового потоку оптичного випромінювання заданої інтенсивності (потужності), довжини хвилі, ширини спектральної смуги перепускання та нерівномірності спектральної характеристики, освітлюванні листка рослини сформованим ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання протягом заданого інтервалу часу, індукуванні флуоресценції хлорофілу у листку рослини, виділенні потоку оптичного випромінювання (флуоресценції) у новому діапазоні довжин хвиль, підсиленні його інтенсивності (потужності) і перетворенні у змінну за часом напругу, підсиленні її, перетворенні миттєвих значень отриманої напруги у коди чисел вибірок, запам'ятовуванні їх значень з наступною, обробкою кодів чисел вибірок, в тому числі й статистичною, визначенні характерних точок кривої Каутського та параметрів цієї кривої за відомими рівняннями вимірювань з наступною візуалізацією отриманих даних разом з кривої Каутського.

Відомому способу притаманна недостатня точність вимірювання параметрів явища фотосинтезу хлорофілу (кривої Каутського) у листі рослин. Це обумовлено впливом температури на процес фотосинтезу і, як правило, зменшення його інтенсивності при підвищенні температури.

Підвищення температури приводить до появи термоіндукції хлорофілу при певних значеннях температури. Відомий спосіб не призначений для визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин при апріорі заданих значеннях температур для листків рослин того чи іншого типів і тому має невисоку точність визначення цих параметрів.

Відомий спосіб визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин (кривої Каутського) (див., наприклад, Н.В. Байрак, В.А. Зуза, Я.А. Погромская. Применение метода индукции флуоресценции хлорофилла для изучения неоднородности системы фотосинтеза растений. http://www.nbuv.gov.ua/portal/natural/vkhnu/Biol/2008_814/pdf/181.pdf), оснований на витримуванні листка рослини у темряві протягом апріорі визначеного інтервалу часу для листка того чи іншого виду рослини, формуванні ультрафіолетового потоку оптичного випромінювання заданої інтенсивності (потужності), довжини хвилі, ширини спектральної смуги перепускання та нерівномірності спектральної характеристики, освітлюванні листка рослини сформованим ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання протягом заданого інтервалу часу, індукуванні флуоресценції хлорофілу у листку рослини, виділенні потоку оптичного випромінювання (флуоресценції) у новому діапазоні довжин хвиль, підсиленні його інтенсивності (потужності) і перетворенні у змінну за часом напругу, підсиленні її, перетворенні миттєвих значень отриманої напруги у коди чисел вибірок, запам'ятовуванні їх значень з наступною, обробкою кодів чисел вибірок, в тому числі й статистичною, визначенні характерних точок кривої Каутського та параметрів цієї кривої за відомими рівняннями вимірювань з наступною візуалізацією отриманих даних разом з кривої Каутського.

Відомому способу притаманна недостатня точність визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу (кривої Каутського) у листках рослин. Це обумовлено тим, що температура оточуючого середовища впливає на процес фотосинтезу і, як правило, приводить до зменшення його інтенсивності при підвищенні температури.

Відомий спосіб визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листі рослин (кривої Каутського) (див., наприклад, О.В. Ковирьова. Моделі фотосинтезу та комп'ютерна оцінка стану рослин. / Комп'ютерні засоби, мережі та системи. - Київ, ІК НАНУ. - № 9, 2010. - с. 78, 79), оснований на витримуванні листка рослини у темряві протягом апріорі визначеного інтервалу часу для листка того чи іншого виду рослини, формуванні ультрафіолетового потоку оптичного випромінювання заданої довжини хвилі, ширини спектральної смуги перепускання, нерівномірності спектральної характеристики та потужності, освітлюванні листка рослини сформованим ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання протягом заданого інтервалу часу, індукуванні флуоресценції хлорофілу у листку рослини, виділенні потоку оптичного випромінювання (флуоресценції) у новому діапазоні довжин хвиль, підсиленні його і перетворенні у змінну за часом напругу, підсиленні її, перетворенні миттєвих значень отриманої напруги у коди чисел вибірок, запам'ятовуванні їх значень з наступною, обробкою кодів чисел вибірок, в тому числі й статистичною, визначенні характерних точок кривої Каутського та параметрів цієї кривої за відомими рівняннями вимірювань з наступною візуалізацією отриманих даних разом з кривої Каутського.

Відомому способу притаманна недостатня точність визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин. Це обумовлено впливом температури на процес фотосинтезу і, як правило, зменшення його інтенсивності при підвищенні температури.

Відомо [див. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. - Киев, Альтерпрес.-2002.-190 с.], що існують три основних шляхів реалізації енергії квантів світла поглинених молекулами хлорофілу - фотохімічні реакції, теплова дисипація і флуоресценція. Усі три процеси є конкурентними, внаслідок чого зміна ефективності одного з них веде до протилежно направленої зміни двох інших. Тому інтенсивність флуоресценції чутлива до змін інтенсивності фотохімічних процесів та теплової дисипації.

Підвищення температури призводить до появи термоіндукції хлорофілу при певних значеннях температури. Відомий спосіб не забезпечує вимірювання параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин при апіорі заданих значень температур для листів рослин того чи іншого типів і тому має невисоку точність визначення цих параметрів.

Поставлена технічна задача створити такий спосіб визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листі рослин (кривої Каутського), який би забезпечив незалежність результатів вимірювання від температури листка рослини, що призводить до появи термоіндукції хлорофілу при певних значеннях температури і до підвищення точності.

Вирішення поставленої задачі досягається тим, що спосіб визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин (кривої Каутського), заснований на витримуванні листка рослини у темряві протягом апіорі визначеного інтервалу часу для листка того чи іншого виду рослини, формуванні ультрафіолетового потоку оптичного випромінювання заданої інтенсивності (потужності), довжини хвилі, ширини спектральної смуги перепускання та нерівномірності спектральної характеристики, освітлюванні листка рослини сформованим ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання протягом заданого інтервалу часу, індукуванні флуоресценції хлорофілу у листку рослини, виділенні потоку оптичного випромінювання (флуоресценції) у новому діапазоні довжин хвиль, підсиленні його інтенсивності (потужності) і перетворенні у змінну за часом напругу, підсиленні її, перетворенні миттєвих значень отриманої напруги у коди чисел вибірок, запам'ятовуванні їх значень з наступною, обробкою кодів чисел вибірок, в тому числі й статистичною, визначенні характерних точок кривої Каутського та параметрів цієї кривої за відомими рівняннями вимірювань з наступною візуалізацією отриманих даних разом з кривої Каутського. Від відомих способів відрізняється тим, що, до освітлювання листка рослини ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання, з наперед заданою швидкістю і протягом заданого інтервалу часу, який не перевищує час тримання листка рослини у темряві, змінюють температуру листка рослини до апіорі заданого оптимального значення $T_{опт}$, що залежить від сорту та виду рослини і знаходиться у встановлених межах Δt , стабілізують встановлене оптимальне значення температури $T_{опт}$, при якій має місце мінімальна чутливість явища фотосинтезу хлорофілу до зміни температури хлоропластів листка рослини і яке не перевищує нижню допустиму границю порогу виникнення термоіндукції, причому температуру стабілізують з похибкою Δt , що не перевищує $\pm 0,1^\circ\text{C}$, витримують встановлене значення температури протягом часу визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листку рослини.

На Фіг. 1 наведений графік (кривої Каутського), що відображає явище (процес) фотосинтезу хлорофілу у часі після дії потоку ультрафіолетового випромінювання; на Фіг. 2 наведені криві термоіндукції флуоресценції хлорофілу для листків боба на різних стадіях розвитку; на Фіг. 3 наведені криві термоіндукції флуоресценції хлорофілу зрілих листків сосни та ялини в різні сезони року; на Фіг. 4 наведено загальний вид кривої термоіндукції флуоресценції хлорофілу; на Фіг. 5 наведена функціональна схема пристрою для визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листі рослин (кривої Каутського), де 1 - термостат, 2 - нагрівний елемент; 3 - об'єкт дослідження (листок рослини); 4 - сенсор температури; 5 - оптичний фільтр; 6 - джерело ультрафіолетового оптичного випромінювання; 7 - фотоприймач; 8 - вимірювач на сигнальному процесорі.

Слід зазначити, що само явище флуоресценції характеризується зміною у часі процесу флуоресценції хлорофілу, який виникає після попереднього опромінення листка рослини протягом заданого інтервалу часу потоком ультрафіолетового оптичного випромінювання заданої довжини хвилі.

Сам перехідний процес при флуоресценції зв'язаний зі зміною її інтенсивності за час опромінювання адаптованих до темряві листків рослин, називається ефектом Каутського (Kautzky). Відомо, що процес фотосинтезу хлорофілу у часі відображається кривою Каутського (див. Фіг. 1).

Суть запропонованого способу полягає у наступному.

Відомо, що процес фотосинтезу характеризується зміною у часі інтенсивності флуоресценції хлорофілу і залежить від багатьох факторів: від потужності потоку оптичного випромінювання Φ_0 , що освітлює листя; від довжини хвилі Ω_0 , на якій має місце максимальне поглинання енергії світла; від часу ΔT_0 , протягом якого листя знаходяться у темряві; від часу дії потоку оптичного випромінювання ΔT_1 ; від температури t_c навколишнього середовища (та листка); від вологості W_c середовища; від атмосферного тиску P_c , від інтервалу часу вимірювання ΔT_2 тощо, тобто описується функцією часу $\Phi_x(t, \Phi_0, \Omega_0, \Delta T_0, \Delta T_1, \Delta T_2, t_c, W_c, P_c, \dots)$ з багатьма змінними (Фіг. 1).

Як було сказано вище, інтенсивність флуоресценції чутлива до змін інтенсивності фотохімічних процесів та теплової дисипації [див. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. - Киев, Альтерпрес.-2002.-190 с.].

Графік зміни флуоресценції від моменту початку освітлювання до досягнення стаціонарного рівня (Фіг. 1) несе інформацію про стан фотосинтезуючого апарата листа рослини.

Зміни O-I-D-P називають першою хвилею, або швидкою індукцією флуоресценції. Вона протікає за 1-3 с в залежності від інтенсивності світла та інших факторів і спостерігається як у живих об'єктах, так й в ізольованих хлоропластах. Більш повільні зміни P-S-M-T відомі як друга хвиля, або повільна індукція флуоресценції (Фіг. 1). Ці зміни протікають за час від декілька десятків секунд до декілька хвилин в залежності від об'єкта та умов експерименту.

У початковий момент часу всі канали фотосинтетичного переносу електронів відкриті й максимум енергії збудження електронів йде на фотосинтетичний процес. У цей період флуоресценція хлорофілу мінімальна і її інтенсивність на кривій Каутського позначають буквою F з індексом "0", тобто F_0 .

Перехід F_1-F_0 пов'язаний зі зменшенням транспорту електронів. Він характеризує період теплової адаптації листка. При малому значенні періоду адаптації перехід має більшу крутизну, а при великих значеннях він більш повільний (див. Фіг. 1 та криві 1-4 на Фіг. 2 (для листків боба на різних стадіях розвитку) і Фіг. 3 (для зрілих листків сосни та ялини в різні сезони року)). Фіг. 2 і 3 взяті за результатами досліджень [див. Pavel Pospisil, Jiri Skotnica, Jan Naus. Low and high temperature dependence of minimum F_0 and maximum F_m chlorophyll fluorescence in vivi // BBA-Bioenergetics, 1998. V. 1363, N2, P. 95-99].

Всю ділянку F_1-F_p називають швидкою фазою флуоресценції. Повільна фаза індукції флуоресценції хлорофілу являє собою всі індукційні переходи після досягнення максимального значення (піку) P.

Співвідношення $(F_p-F_s)/F_s$ (див. Фіг. 1) називають індексом життєздатності рослини, де F_p - максимальний рівень флуоресценції, а F_s - стаціонарний рівень.

Встановлено, що підвищення температури навколишнього середовища щодо оптимальної для даного виду рослин призводить до зменшення різниці $F_v=F_p-F_0$. Причиною є зниження активності електронно-транспортного ланцюжка або світлової стадії фотосинтезу. При підвищенні температури до рівня руйнування ($45^\circ\text{C} \dots 50^\circ\text{C}$) помітно зростає рівень інтенсивності F_0 (див. Фіг. 2 і Фіг. 3). У селекційному процесі за цими показниками швидко відбирали сорти рослин, які стійкі до впливів високих температур.

Зниження температури навколишнього середовища до оптимальної для даного виду рослини також приводить до зменшення величини $F_v=F_p-F_0$, причиною чого є пригнічення фотохімічної активності фотосистеми II. Зростає відношення $(F_1-F_0)/F_v$. За цими ознаками можна відбирати холодостійкі рослини.

Водний дефіцит приводить до зменшення різниці F_p-F_0 пропорційно зменшенню водного потенціалу листка. За цим показником можна відбирати за сухостійкі екземпляри рослин.

Одна з проблем способу порівняння параметрів кривої Каутського для рослин як одного, так й різного виду, полягає в тому, що зазначені вище інтервали часу можуть суттєво розрізнятися для різних видів рослин і також для різних листків однієї рослини, які мають різний вік чи адаптувалися до різних умов освітлення (наприклад, ростуть біля корнів чи на кроні, на старих вітках чи на молодих паростках, добре освітлені чи весь час затемнені).

У міру підсилення дії стресового фактора показники явища флуоресценції, такі як "індекс життєздатності", а також інтенсивність фотосинтезу, як правило, знижуються.

Можливість оцінки стану рослин за зміною форми кривої Каутського підтверджена експериментально. Обмеження, що мають місце, обумовлені тим, що на сьогодні відсутні зразки кривої Каутського для різного виду рослин при нормальних умовах їх існування та для різного віку. Тобто відсутня "міра" з якою можливо порівнювати криві Каутського при інших умовах існування рослин.

Запропонований спосіб визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листі рослин (кривої Каутського) заснований на витримуванні листка рослини у темряві протягом апіорі визначеного інтервалу часу.

При цьому інтервали часу встановлюють однаковими для листків конкретного виду рослини.

5 Для рослин різного виду вони відрізняються між собою.

Для визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин формують ультрафіолетовий потік оптичного випромінювання заданої довжини хвилі Ω_0 , заданої ширини спектральної смуги перепускання $2\Delta\Omega_0$, нерівномірності спектральної характеристики $\Delta\Phi_x(\Omega)$ та потужності Φ_0 .

10 Після витримування листка рослини у темряві протягом апіорі визначеного інтервалу часу освітлюють листок рослини сформованим ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання протягом заданого інтервалу часу ΔT_1 . В результаті здійснюється індукування (збудження) флуоресценції хлорофілу у листку рослини, але на довжині хвилі $\Omega_x \pm \Delta\Omega_{01}$, що відмінна від довжини хвилі $\Omega_0 \pm \Delta\Omega_0$ ультрафіолетового потоку оптичного випромінювання.

15 Флуоресценція хлорофілу описується функцією часу $\Phi_x(t, \Phi_0=\text{const}, \Omega_x=\text{const}, \Delta T_0=\text{const}, \Delta T_1=\text{const}, \Delta T_2, t_c, W_c, P_c, \dots)$ з меншою кількістю змінних.

Виділяють потік індукованого (збудженого) оптичного випромінювання (флуоресценцію) у заданому діапазоні довжин хвиль $\Omega_x \pm \Delta\Omega_{01}$. Отриманий потік оптичного випромінювання підсилюють і перетворюють у змінну за часом напругу, яку також підсилюють. В результаті

20 отримують напругу $u_x(t)=S_n(\Phi_x)+\Delta U$.

Миттєві значення отриманої напруги $u_x(t)$ перетворюють у коди чисел i -х вибірок $N_{xi}=S_a u(t_i)$. Запам'ятовують значення вибірок N_{xi} протягом заданого інтервалу часу $\Delta T_2 > \Delta T_1$ та здійснюють обробку кодів чисел вибірок, в тому числі й статистичну за відомими рівняннями вимірювань.

Визначають характерні точки кривої Каутського. За характерними точками визначають

25 параметри кривої Каутського за відомими рівняннями вимірювань і разом з кривої Каутського візуалізують на екрані графічно-цифрового дисплею. Флуоресценція хлорофілу у листку рослини, вже опишеться функцією часу $\Phi_x(t, \Phi_0=\text{const}, \Omega_x=\text{const}, \Delta T_0=\text{const}, \Delta T_1=\text{const}, \Delta T_2=\text{const}, t_c, W_c, P_c, \dots)$ з обмеженою кількістю змінних параметрів. При цьому бажано додатково з вимірюванням параметрів кривої Каутського вимірювати ще температуру, вологість і атмосферний тиск. Тоді можливо коректне порівняння кривих різного виду рослин. У

30 переносних вимірювачах, які обмежені габаритами та вагою, вимірювання вологості та атмосферного тиску є проблематичною задачею. Легше всього визначити температуру. Значення вологості та атмосферного тиску можуть бути одержаними, наприклад, від метеорологічних станцій через лінії зв'язку (супутникової чи телефонної).

35 З метою підвищення достовірності даних про параметри кривої Каутського і, як наслідок, підвищення точності вимірювання, нами запропонований спосіб визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин (кривої Каутського), від відомих відрізняється наступним.

До освітлювання листка рослини ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання, з наперед заданою швидкістю (від $0,02^\circ\text{C}/\text{с}$ до $2^\circ\text{C}/\text{с}$) і протягом заданого інтервалу часу

40 $\Delta T_n \leq \Delta T_0$, який не перевищує час ΔT_0 тримання листка рослини у темряві, змінюють температуру листка рослини до апіорі заданого оптимального значення $T_{\text{опт}}$. Останнє залежить від сорту та виду рослини і знаходиться у встановлених межах $\Delta t = 35^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ (див. Фіг. 4).

На Фіг. 4 наведені результати досліджень кривої термоіндукції флуоресценції хлорофілу для двох випадків [див. Гаевский Н.А., Сорокина Г.А., Гольд В.М., Ладыгин В.Г., Гехман А.В., Изучение природы термоиндуцированных изменений флуоресценции хлорофилла с использованием мутантов *Chlamidomonas Reinhardtii* // Физиология растений, 1985. Т. 32, № 4, С. 678-680; Гаевский Н.А., Ладыгин В.Г., Гольд В.М. Новые данные о природе высокотемпературного подъема флуоресценции хлорофилла // Физиология растений, 1989. Т. 36, С. 374-277; Pavel Pospisil, Jiri Skotnica, Jan Naus. Low and high temperature dependence of minimum F_0 and maximum F_m chlorophyll fluorescence in vivi // BBA-Bioenergetics, 1998. V. 1363, N2, P. 95-99];

50

1) при збудженні листка рослини світлом з $\lambda_{\text{max}}=390$ нм (поглинання хлорофілом а);

2) при збудженні листка рослини світлом з $\lambda_{\text{max}}=490$ нм (поглинання хлорофілом в та каротином). Діапазон температур обмежений прямими AC і BD при $t_1=30^\circ\text{C}$ і при $t_2=40^\circ\text{C}$.

55 При цьому діапазоні температур швидкість зміни інтенсивності флуоресценції при зміні температури на $\Delta t=10^\circ\text{C}$ є найменшою і складає менше ніж $0,042$ од./ $^\circ\text{C}$ (див. Фіг. 2, Фіг. 3, Фіг. 4).

Згідно з запропонованим способом, стабілізують встановлене оптимальне значення температури, наприклад, $t_{\text{опт}}=30^\circ\text{C}$ (для i -ї рослини), при якій має місце мінімальна чутливість

явища фотосинтезу хлорофілу до зміни температури хлоропластів листка рослини і яка не перевищує допустиму границю $t_2=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ порогу виникнення термоіндукції. При цьому температуру стабілізують з похибкою Δ_t , що не перевищує $\Delta_t=\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, тобто має місце температура $t_{\text{опт}}=30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5 Витримують встановлене оптимальне значення температури $t_{\text{опт}}\pm\Delta_t$ протягом часу ΔT_2 визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листку рослини.

При цьому визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин (кривої Каутського) проводять аналогічно відомому способу (описаному вище). Визначають параметри характерних точок кривої Каутського та швидкості зміни її інформативних ділянок за відомими рівняннями вимірювань. Отримані значення разом з кривої Каутського візуалізують на екрані графічно-цифрового дисплею. Флуоресценція хлорофілу у листку рослини вже опишеться функцією $\Phi_x(t, \Phi_0=\text{const}, \Omega_x=\text{const}, \Delta T_0=\text{const}, \Delta T_1=\text{const}, \Delta T_2=\text{const}, t_c=\text{const}, W_c, P_c, \dots)$, яка залежить тільки від вологості та атмосферного тиску, тобто має обмежену кількість змінних і невідомих параметрів. Значення вологості та атмосферного тиску можуть бути одержаними від метеорологічних станцій через лінії зв'язку (супутникової чи телефонної).

15 Пояснимо суть запропонованого способу визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин (кривої Каутського) на прикладі роботи пристрою для визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин.

В термостат 1, що має дві кришки, встановлюють нагрівний елемент 2, об'єкт дослідження (листок рослини) 3, сенсор температури 4, оптичний фільтр 5, джерело ультрафіолетового потоку оптичного випромінювання 6 та фотоприймач 7 оптичного випромінювання розташовані певним чином. Закривають кришки термостату. У початковий момент часу об'єкт дослідження (листок рослини) знаходиться у темряві. За командою з сигнального процесору вимірювача 8 на нагрівний елемент 2 надходить за заданим законом, напруга, при якій температура в термостаті змінюється по наперед заданому закону протягом інтервалу часу $\Delta T_{\text{н}}\leq\Delta T_0$, який не перевищує час ΔT_0 тримання листка рослини у темряві. Причому нагрівання здійснюється з наперед заданою швидкістю - від $0,02\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{с}$ до $2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{с}$, в залежності від виду рослини та пори року (температури оточуючого середовища) за програмою, записаною у сигнальний процесор вимірювача 6.

30 Контроль моменту часу виходу температури на задане оптимальне значення, наприклад, $t_{\text{опт}}=30\text{ }^{\circ}\text{C}$, здійснюється за допомогою сенсора температури 4. Сигнал від сенсора температури 4 надходить на один з аналогових входів вимірювача 6. Цей сигнал використовують для вимірювання температури та її автоматичної стабілізації з похибкою Δ_t , що не перевищує $\Delta_t=\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($t_{\text{опт}}=30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$), завдяки зворотному зв'язку.

35 На другий аналоговий вхід вимірювача 8 поступає вихідний сигнал з фотоприймача 7. У проміжок часу ΔT_0 можна вимірити тільки "темнову" напругу, тобто дрейф нуля вимірювального каналу.

Після закінчення проміжку часу ΔT_0 за допомогою джерела оптичного випромінювання 6 формують ультрафіолетовий потік оптичного випромінювання заданої інтенсивності (потужності) Φ_0 , довжини хвилі Ω_x , ширини спектральної смуги перепускання $\pm\Delta\Omega_{01}$, нерівномірності спектральної характеристики. Його параметри встановлюються апіорі за командою з сигнального процесора пристрою 8.

Потім, за новою командою, здійснюється опромінення листка рослини ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання, сформованим джерелом 6 оптичного випромінювання. Опромінення здійснюється протягом заданого інтервалу часу ΔT_1 , при якому з'являється індукована флуоресценція хлорофілу у листку рослини.

За допомогою оптичного фільтру 5 виділяють потік оптичного випромінювання (флуоресценції) у заданому діапазоні довжин хвиль $\Omega_x\pm\Delta\Omega_{01}$. Отриманий потік оптичного випромінювання надходить на фотоприймач 7 і перетворюється у змінну за часом напругу. Електричну напругу підсилюють у вимірювальному каналі вимірювача 8. В результаті отримують напругу $u_x(t)=S_n(\Phi_x)+\Delta U$.

Миттєві значення отриманої напруги $u_x(t)$ за допомогою вбудованого у сигнальний процесор вимірювача 8 аналого-цифрового перетворювача перетворюють у коди чисел і-ті вибірки $N_{xi}=S_a u(t_i)$, де S_a - крутість аналого-цифрового перетворення. У оперативній пам'яті вимірювача 8 запам'ятовують значення вибірок N_{xi} протягом заданого інтервалу часу $\Delta T_2>\Delta T_1$ і здійснюють обробку кодів чисел вибірок, в тому числі й статистичну, визначають характеристичні точки кривої Каутського та значення параметрів цієї кривої за відомими рівняннями вимірювань.

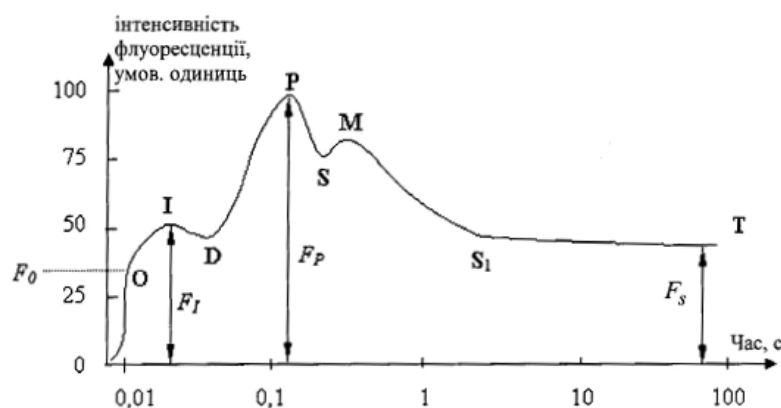
Визначені параметри кривої Каутського разом з самою кривою візуалізують на екрані графічно-цифрового дисплея вимірювача 8. Флуоресценція хлорофілу у листку рослини, вже

описеться функцією часу $\Phi_x(t, \Phi_0=\text{const}, \Omega_0=\text{const}, \Delta T_0=\text{const}, \Delta T_1=\text{const}, \Delta T_2=\text{const}, t_c=\text{const}, W_c, P_c, \dots)$ з обмеженою кількістю змінних параметрів. При цьому бажано, додатково з вимірюванням параметрів кривої Каутського при заданій температурі, вимірювати ще вологість і атмосферний тиск. Тоді можливо досягнути найбільш точного вимірювання параметрів кривої Каутського й коректного порівняння кривих різного виду рослин.

Таким чином, вирішена технічна задача створення такого способу визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин (кривої Каутського), який забезпечує незалежність результатів вимірювання від температури листка рослини і підвищення точності визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин.

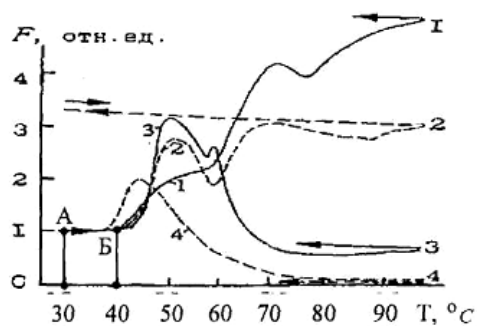
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб визначення параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листі рослин (кривої Каутського) передбачає витримування листка рослини у темряві протягом апріорі визначеного інтервалу часу для листка того чи іншого виду рослини, формування ультрафіолетового потоку оптичного випромінювання заданої інтенсивності (потужності), довжини хвилі, ширини спектральної смуги перепускання та нерівномірності спектральної характеристики, освітлювання листка рослини сформованим ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання протягом заданого інтервалу часу, індукування флуоресценції хлорофілу у листку рослини, виділення потоку оптичного випромінювання (флуоресценції) у новому діапазоні довжин хвиль, підсилення його інтенсивності (потужності) і перетворення у змінну за часом напругу, підсилення її, перетворення миттєвих значень отриманої напруги у коди чисел вибірок, запам'ятовування їх значень з наступною, обробкою кодів чисел вибірок, в тому числі й статистичною, визначення характерних точок кривої Каутського та параметрів цієї кривої за відомими рівняннями вимірювань з наступною візуалізацією отриманих даних разом з кривої Каутського, який відрізняється тим, що до освітлювання листка рослини ультрафіолетовим потоком оптичного випромінювання, з наперед заданою швидкістю і протягом заданого інтервалу часу, який не перевищує час витримування листка рослини у темряві, змінюють температуру листка рослини до апріорі заданого оптимального значення $T_{\text{опт}}$, що залежить від сорту та виду рослини і знаходиться у встановлених межах Δt , стабілізують встановлене оптимальне значення температури $T_{\text{опт}}$, при якій має місце мінімальна чутливість явища фотосинтезу хлорофілу до зміни температури хлоропластів листка рослини і яке не перевищує нижню допустиму границю порогу виникнення термоіндукції, причому температуру стабілізують з похибкою Δt , що не перевищує $\pm 0,1^\circ \text{C}$, витримують встановлене значення температури протягом часу визначення явища фотосинтезу хлорофілу у листку рослини.



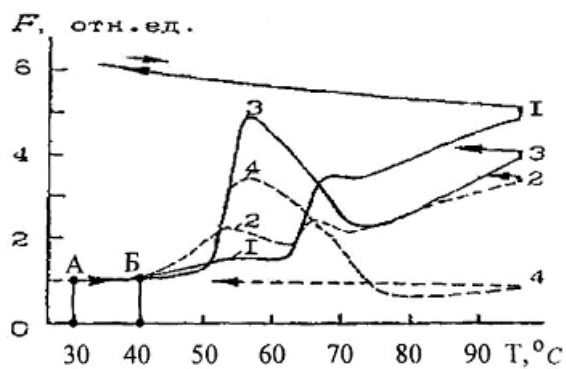
Графік (крива Каутського), що відображає процес фотосинтезу хлорофілу у часі після дії потоку ультрафіолетового випромінювання

Fig.1



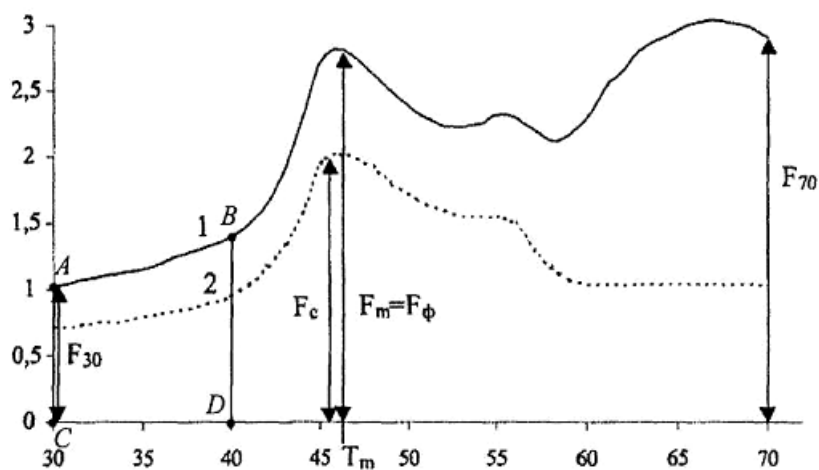
Криві термоіндукції флуорисценції хлорофілу для листків бобу на різних стадіях розвитку: 1 - початковий лист довжиною 5 мм; 2 - молодий листок, 6 мм; 3 - зрілий, 34 мм; 4 - хлоропласти зрілих листків бобу

Фіг.2



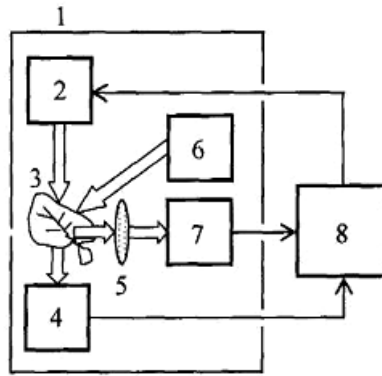
Криві термоіндукції флуорисценції хлорофілу зрілих листків сосни та ялини в різні сезони року: 1 - сосна, січень; 2 - ялина, березень; 3 - сосна, серпень; 4 - сосна з теплиці, січень

Фіг.3



Загальний вигляд кривої термоіндукції флуоресценції хлорофілу

Фіг.4



Структурна схема пристрою для вимірювання параметрів явища фотосинтезу хлорофілу у листках рослин

Fig.5