

УДК 581.131:632.954

## ІНТЕНСИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕЗУ ТА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ ЛИСТКІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ЗА РІЗНИХ УМОВ МІНЕРАЛЬНОГО ЖИВЛЕННЯ

О.Г. СОКОЛОВСЬКА-СЕРГІЄНКО, Д.А. КІРІЗІЙ

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України  
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17  
e-mail: monitor@ifrg.kiev.ua*

Рослини озимої пшениці трьох сортів (Фаворитка, Смуглянка, Миронівська 808) вирощували у вегетаційному досліді на двох фонах мінерального живлення:  $N_{160}P_{160}K_{160}$  і  $N_{32}P_{32}K_{32}$  мг/кг ґрунту. У фазу молочної стиглості визначали вміст хлорофілу, інтенсивність вуглекислотного газообміну та активність антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази (СОД) і аскорбатпероксидази (АПО) хлоропластів прапорцевих листків. Показано, що за нестачі мінерального живлення знижується інтенсивність фотосинтезу листків озимої пшениці, підвищується активність СОД і АПО у розрахунку на вміст хлорофілу, що можна розглядати як складову захисної реакції рослин на дію негативного чинника. Нові високоінтенсивні сорти пшениці Фаворитка і Смуглянка характеризувались вищою активністю асиміляції  $CO_2$ , антиоксидантних ферментів, більшою зерновою продуктивністю за умов як оптимального, так і зниженого фону мінерального живлення порівняно із сортом Миронівська 808.

*Ключові слова:* *Triticum aestivum* L., озима пшениця, фотосинтез, антиоксидантні ферменти, мінеральне живлення.

Реалізація генетичного потенціалу продуктивності рослин залежить від їх забезпеченості пластичними та енергетичними ресурсами, серед яких чільне місце посідають елементи живлення, вода, вуглекислий газ і світло [1]. Більш як 90 % сухої речовини рослинного організму утворюється завдяки фотосинтезу, але формування та функціонування фотосинтетичних структур неможливе без відповідного забезпечення елементами живлення, насамперед азотом і фосфором [6, 15]. Зниження рівня мінерального живлення призводить до пригнічення асиміляційної діяльності рослини і, в кінцевому підсумку, до зменшення її як біологічної, так і господарської продуктивності [3, 4]. Нестача елементів живлення також обмежує можливості захисних систем рослин реагувати на дію стресорів і пом'якшувати їх негативний вплив, тобто сама по собі є своєрідним стресовим чинником.

Різні сорти культурних рослин, навіть такі, що належать до одного виду, різняться за рівнем стійкості до несприятливих чинників навколишнього середовища, в тім числі й нестачі мінерального живлення. Серед культурних рослин пшениця за своєю харчовою цінністю та екологічною пластичністю є неперевершеною і становить основу продовольчого раціону людства [2, 3]. Питанням стійкості цієї культури

до дії різноманітних стресових чинників присвячено багато досліджень, але вплив умов мінерального живлення на захисні механізми фотосинтетичного апарату в зв'язку з генотипними особливостями вивчено значно менше.

Дія стресових чинників, як правило, супроводжується утворенням у клітинах і органелах надмірної кількості активних форм кисню (АФК), що може призводити до пошкодження макромолекулярних структур, порушення фізіологічних процесів [13]. Захисні системи клітини реагують на це підвищенням активності антиоксидантних ферментів, щоб якомога повніше елімінувати надлишок АФК. Головними ферментами антиоксидантного захисту фотосинтетичного апарату від АФК є хлоропластні супероксиддисмутаза (СОД) та аскорбатпероксидаза (АПО). У певній кількості АФК утворюються в процесі функціонування фотосинтетичного апарату за нормальних умов і контролюються антиоксидантними системами, але за стресових умов роль антиоксидантних ферментів для виживання клітини істотно зростає [8, 11].

Відомо, що нові високоінтенсивні сорти озимої пшениці для реалізації свого генетичного потенціалу продуктивності потребують внесення великих доз мінеральних добрив, зокрема азотних [3]. Проте за реальних умов виробництва доступність елементів мінерального живлення для рослин та ефективність їх засвоєння можуть обмежуватись різними несприятливими чинниками, а також причинами соціально-економічного характеру [6, 15]. Тому з'ясування особливостей впливу на складові продукційного процесу пшениці варіацій рівня мінерального живлення є актуальним, особливо у зв'язку з проблемою подальшого поліпшення корисних фізіологічних ознак цієї культури генетичним шляхом [2, 4].

Метою нашої роботи було дослідження генотипних особливостей реакції нових високоінтенсивних сортів озимої пшениці на нестачу мінерального живлення за фізіологічними показниками асиміляційної активності фотосинтетичного апарату та антиоксидантної системи його захисту.

### Методика

Рослини трьох сортів озимої м'якої пшениці — Фаворитка, Смуглянка (селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України), Миронівська 808 — після перезимівлі у природних умовах пересадили навесні у фазу кушіння у вегетаційні посудини на 10 кг ґрунту (по 20 рослин у кожному). Хімічним аналізом ґрунту, взятого для набивання посудин, виявлено такий вихідний вміст у ньому макроелементів: азот нітратний — 0,4 мг/кг, азот лужногідролізований — 1,3 мг/100 г, рухомий фосфор за Чиріковим ( $P_2O_5$ ) — 17,9 мг/100 г, обмінний калій ( $K_2O$ ) — 6,6 мг/100 г, рН сольовий — 6,1.

Рослини вирощували за двох фонів мінерального живлення: високого і низького. У першому випадку в посудини при набиванні вносили нітроамофоску в розрахунку  $N_{80}P_{80}K_{80}$  мг/кг ґрунту. У фазу виходу в трубку рослини в цих посудинах додатково підживили такою самою кількістю нітроамофоски так, що загальна доза внесених макроелементів становила  $N_{160}P_{160}K_{160}$  мг/кг ґрунту. У посудини з низьким фоном мінерального живлення при набиванні вносили нітроамофоску в розрахунку  $N_{32}P_{32}K_{32}$  мг/кг ґрунту і додатково рослини не підживлювали. Отже, доза внесених добрив за низького фону мінерального живлення була в 5

разів меншою за високий фон. Посудини розміщували на стелажі вегетаційного майданчика за природного освітлення, вологість ґрунту підтримували на рівні 60—70 % повної вологоємності.

У фазу молочної стиглості визначали інтенсивність вуглекислотного газообміну прапорцевих листків, вміст хлорофілу та активність антиоксидантних ферментів хлоропластів. Наприкінці вегетації визначали складові зернової продуктивності головного пагона (масу зерна з колоса, кількість зерен у колосі, масу 1000 зернин,  $K_{\text{госп}}$ ).

Інтенсивність фотосинтезу реєстрували за контрольованих умов на установці, змонтованій на базі оптико-акустичного інфрачервоного газоаналізатора ГІАМ-5М, увімкненого за диференційною схемою. Невідокремлені від рослин листки розміщували у термостатованій (+25 °С) камері й освітлювали лампою розжарювання КГ-2000 крізь водяний фільтр для усунення надлишку інфрачервоної радіації у спектрі випромінювання. Густина променевого потоку на рівні листка становила 400 Вт/м<sup>2</sup> ФАР. Крізь камеру продували атмосферне повітря зі швидкістю 1 л/хв. Інтенсивність фотодихання оцінювали за величиною викиду CO<sub>2</sub> з листка протягом 1 хв після вимкнення світла. Показники газообміну розраховували за стандартними методиками [5].

Хлоропласти для визначення активності антиоксидантних ферментів виділяли механічним способом за температури 0—4 °С. Середню наважку (2 г) прапорцевих листків пшениці гомогенізували в семикратному об'ємі буферного розчину такого складу: 0,33 М сорбітол, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,1 % БСА, 4 мМ аскорбінова кислота, 50 мМ *трис*-НСІ (рН 7,5). Гомогенат фільтрували крізь 2 шари капронової тканини й центрифугували на центрифугі К-24D за 80 g і температури 0—4 °С протягом 5 хв для осадження важких часточок. Надосадову рідину зливали в інші попередньо охолоджені центрифужні пробірки й центрифугували за 2000 g 10 хв для отримання фракції хлоропластів. Осад хлоропластів ресуспендували в ізотонічному середовищі з 4 мМ аскорбінової кислоти, 50 мМ *трис*-НСІ (рН 7,5) об'ємом 2 мл і в подальшому використовували для вимірювання активності СОД та АПО.

Активність СОД визначали спектрофотометрично за допомогою нітротетразолієвого блакитного за довжини хвилі 560 нм [12]. Активність АПО вимірювали в ультрафіолетовій ділянці спектра за 290 нм за методом Чена й Асади [9]. Вміст хлорофілу в суспензії хлоропластів визначали за методом Арнона [7].

Біохімічні аналізи проводили у триразовій повторності, вимірювання інтенсивності фотосинтезу — у чотириразовій. Отримані результати оброблено статистично.

## Результати та обговорення

Рослини нових високоінтенсивних сортів озимої пшениці за вмістом хлорофілу та інтенсивністю вуглекислотного газообміну прапорцевих листків на світлі вірогідно перевищували сорт Миронівська 808 у разі їх вирощування як за високого, так і низького фонів мінерального живлення (табл. 1). Зниження забезпеченості рослин головними макроелементами призвело до зменшення вмісту хлорофілу в листках рослин сорту Фаворитка на 50, Смуглянка — на 54, Миронівська 808 — на 58 %, інтенсивності грос-фотосинтезу — відповідно на 44, 40 і 47 %. За високого фону мінерального живлення інтенсивність фотодихання листків

ИНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА

ТАБЛИЦЯ 1. Вміст хлорофілу та інтенсивність вуглекислотного газообміну на світлі прапорцевих листків озимої пшениці у фазу молочної стиглості за різних умов мінерального живлення

Сорт, варіант живлення	Вміст суми хлорофілів, мг/г	Інтенсивність газообміну, мг CO <sub>2</sub> /(дм <sup>2</sup> · год)	
		грос-фотосинтезу	фотодихання
Фаворитка, N <sub>160</sub> P <sub>160</sub> K <sub>160</sub>	3,76±0,18	34,6±1,7	3,8±0,2
Фаворитка, N <sub>32</sub> P <sub>32</sub> K <sub>32</sub>	1,88±0,08	22,9±1,2	2,5±0,1
Смуглянка, N <sub>160</sub> P <sub>160</sub> K <sub>160</sub>	4,05±0,20	27,8±1,4	4,1±0,2
Смуглянка, N <sub>32</sub> P <sub>32</sub> K <sub>32</sub>	1,89±0,08	16,8±0,7	2,6±0,1
Миронівська 808, N <sub>160</sub> P <sub>160</sub> K <sub>160</sub>	3,34±0,17	21,9±1,1	3,1±0,1
Миронівська 808, N <sub>32</sub> P <sub>32</sub> K <sub>32</sub>	1,39±0,07	11,6±0,6	2,4±0,1

рослин сортів Фаворитка і Смуглянка була вищою, ніж сорту Миронівська 808, але зменшення забезпеченості елементами живлення знівелювало міжсортів відмінності за цим показником.

Активність хлоропластних СОД та АПО у розрахунку на одиницю маси сирої речовини листка у сортів Фаворитка і Смуглянка за високого фону мінерального живлення також була вищою, ніж у сорту Миронівська 808 (табл. 2). Зниження фону мінерального живлення призвело до зменшення активності антиоксидантних ферментів у листковій тканині, але високоінтенсивні сорти все одно перевищували за цим показником сорт старої селекції. Як бачимо, отримані дані цілком збігаються з результатами вимірювань інтенсивності фотосинтезу і свідчать про наявність тісного зв'язку між асиміляцією CO<sub>2</sub> та функціонуванням антиоксидантної системи на рівні цілого листка.

Разом з тим розрахунками активності СОД та АПО відносно кількості хлорофілу виявлено дещо інші закономірності. Так, за високого фону мінерального живлення ці показники у рослин сортів Фаворитка і Смуглянка, як і при розрахунку на одиницю маси сирої речовини,

ТАБЛИЦЯ 2. Активність антиоксидантних ферментів хлоропластів прапорцевих листків озимої пшениці у фазу молочної стиглості за різних умов мінерального живлення

Сорт, варіант живлення	СОД		АПО	
	відн. од/ (г · год)	відн. од/ (мг хл · год)	мкмоль АК/ (г · год)	мкмоль АК/ (мг хл · год)
Фаворитка, N <sub>160</sub> P <sub>160</sub> K <sub>160</sub>	1102±44	293±13	1583±73	421±19
Фаворитка, N <sub>32</sub> P <sub>32</sub> K <sub>32</sub>	903±36	480±19	1078±47	574±28
Смуглянка, N <sub>160</sub> P <sub>160</sub> K <sub>160</sub>	1065±42	263±13	1863±89	460±22
Смуглянка, N <sub>32</sub> P <sub>32</sub> K <sub>32</sub>	783±32	414±20	1054±50	558±27
Миронівська 808, N <sub>160</sub> P <sub>160</sub> K <sub>160</sub>	703±28	211±11	1366±66	409±19
Миронівська 808, N <sub>32</sub> P <sub>32</sub> K <sub>32</sub>	464±23	334±15	706±34	508±25

були вищими, ніж у сорту Миронівська 808, а за низького фону мінерального живлення спостерігалось їх істотне підвищення порівняно з високим фоном. Під час обговорення цих результатів слід брати до уваги, що такий спосіб розрахунку активності ферментів дає точніше уявлення про особливості їх функціонування саме на хлоропластному рівні. Логічно припустити, що за нестачі елементів мінерального живлення порушується спряженість функціонування у хлоропластах електронтранспортного ланцюга (ЕТЛ) і циклу Кальвіна. Так, за змінних світлових і температурних умов навколишнього середовища, за яких перебували дослідні рослини (фактично у вегетаційному досліді контролювали лише умови мінерального живлення та водозабезпеченість рослин) нестача азоту і фосфору може гальмувати роботу циклу Кальвіна [10]. Це призводить до надвідновлення компонентів ЕТЛ, що супроводжується передачею електронів на кисень та утворенням супероксидного аніон-радикала й інших АФК у надмірних кількостях порівняно з нормальними умовами й відповідним підвищенням активності ферментів антиоксидантного захисту [14].

У рослин, які розвивались за нестачі елементів мінерального живлення, питома кількість фотосинтетичних структур у масі листової тканини зменшувалась, про що свідчить зниження вмісту хлорофілу в розрахунку на одиницю маси (див. табл. 1). Причому вміст хлорофілу спадав більшою мірою, ніж підвищувалась активність антиоксидантних ферментів у хлоропластах, що й відбилося у зниженні їх активності в розрахунку на одиницю маси листка.

Зернова продуктивність головного пагона рослин сортів Фаворитка і Смуглянка за високого фону мінерального живлення практично не різнилась, а в сорту Миронівська 808 була істотно меншою (табл. 3). За низького фону мінерального живлення зернова продуктивність усіх досліджених сортів знизилась на 40–50 %, але сучасні сорти зберегли свою перевагу над сортом старої селекції і за цих умов. Зернова продуктивність зменшилась як унаслідок зниження озерненості колоса, так і маси зернин. Це свідчить про нестачу в рослинному організмі асимілятів для забезпечення розвитку квіток і зав'язей, а також росту зернівок і наповнення їх ендосперму запасними речовинами. Причиною такої нестачі

ТАБЛИЦЯ 3. Зернова продуктивність головного пагона рослин озимої пшениці різних сортів, вирощених за високого й низького фонів мінерального живлення

Сорт, варіант живлення	Маса зерна з колоса, г	Маса 1000 зернин, г	Кількість зерен у колосі, шт.	$K_{\text{госп}}$
Фаворитка, $N_{160}P_{160}K_{160}$	1,57±0,06	45,8±2,3	34±2	0,53
Фаворитка, $N_{32}P_{32}K_{32}$	0,98±0,04	34,1±1,6	29±1	0,46
Смуглянка, $N_{160}P_{160}K_{160}$	1,64±0,07	45,0±1,9	37±2	0,54
Смуглянка, $N_{32}P_{32}K_{32}$	0,85±0,03	37,3±1,8	23±1	0,43
Миронівська 808, $N_{160}P_{160}K_{160}$	1,22±0,04	39,7±1,8	31±1	0,46
Миронівська 808, $N_{32}P_{32}K_{32}$	0,76±0,03	31,5±1,3	24±1	0,41

безсумнівно є пригнічення розвитку та активності фотосинтетичного апарату. Однак логічно припустити, що вища активність антиоксидантних ферментів хлоропластів у сортів Фаворитка і Смоглянка порівняно із сортом Миронівська 808 сприяє підтриманню інтенсивності фотосинтезу на вищому рівні не тільки за умов оптимального забезпечення елементами мінерального живлення, а й за їх дефіциту. В останньому випадку можливості рослин пристосовуватись до змінних умов довкілля обмежені нестачею енергетичних і пластичних ресурсів, тому навіть порівняно незначні відхилення чинників навколишнього середовища від оптимальних, до яких рослини встигли пристосуватись, стають для них стресовими. Інакше кажучи, дефіцитні за мінеральним живленням рослини практично весь час перебувають у стресовому стані. Безумовно, це супроводжується такою неспецифічною стресовою реакцією, як підвищення рівня АФК у різних компартментах клітини, особливо у хлоропластах. У зв'язку з цим збільшення активності антиоксидантних ферментів є важливою захисною реакцією для підтримання функціонування фотосинтетичного апарату.

Отже, за умов нестачі мінерального живлення знижується інтенсивність фотосинтезу прапорцевих листків озимої пшениці й підвищується активність антиоксидантних ферментів хлоропластів у розрахунку на вміст хлорофілу, що можна розглядати як складову захисної реакції рослин на дію негативного чинника. Нові високоінтенсивні сорти пшениці Фаворитка і Смоглянка характеризувались вищими активністю асиміляції CO<sub>2</sub>, антиоксидантних ферментів, більшою зерновою продуктивністю за умов як оптимального, так і зниженого фону мінерального живлення порівняно із сортом Миронівська 808.

1. Кірізій Д.А., Шадчина Т.М., Стасик О.О. та ін. Особливості фотосинтезу і продукційного процесу у високоінтенсивних генотипів озимої пшениці. — К.: Основа, 2011. — 416 с.
2. Моргун В.В., Кірізій Д.А. Перспективи та сучасні стратегії поліпшення фізіологічних ознак пшениці для підвищення продуктивності // Физиология и биохимия культ. растений. — 2012. — **44**, № 6. — С. 463—483.
3. Моргун В.В., Швартау В.В., Киризий Д.А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков // Там же. — 2010. — **42**, № 5. — С. 371—392.
4. Применение физиологии в селекции пшеницы / Пер. с англ. под ред. В.В. Моргуна. — К.: Логос, 2007. — 492 с.
5. Фотосинтез и биопродуктивность: методы определения / Под ред. А.Т. Мокроносова, А.Г. Ковалева. — М.: Агропромиздат, 1989. — 460 с.
6. Amtmann A., Armengaud P. Effects of N, P, K and S on metabolism: new knowledge gained from multi-level analysis // Curr. Opin. Plant Biol. — 2009. — **12**. — P. 275—283.
7. Aron D.I. Copper enzyme in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* // Plant Physiol. — 1949. — **24**, N 1. — P. 1—15.
8. Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions // Ibid. — 2006. — **141**, N 2. — P. 391—396.
9. Chen G.-X., Asada K. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties // Plant Cell Physiol. — 1989. — **30**, N 7. — P. 987—998.
10. De Groot C.C., van den Boogaard R., Marcelis L.F.M. et al. Contrasting effects of N and P deprivation on the regulation of photosynthesis in tomato plants in relation to feedback limitation // J. Exp. Bot. — 2003. — **54**, N 389. — P. 957—967.
11. Foyer C.H., Noctor G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling // New Phytol. — 2000. — **146**. — P. 359—388.
12. Giannopolitis C.N., Ries S.K. Superoxide dismutase. Occurrence in higher plants // Plant Physiol. — 1977. — **59**, N 2. — P. 309—314.
13. Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // Plant Physiol. Biochem. — 2010. — **48**. — P. 909—930.

14. Huang Z.A., Jiang D.A., Yang Y. *et al.* Effects of nitrogen deficiency on gas exchange, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzymes in leaves of rice plants // *Photosynthetica*. — 2004. — **42**, N 3. — P. 357–364.
15. Maathuis F.J.M. Physiological functions of mineral macronutrients // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2009. — **12**. — P. 250–258.

Отримано 17.12.2012

#### ИНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЛИСТЬЕВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

*О.Г. Соколовская-Сергиенко, Д.А. Киризий*

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Растения озимой пшеницы трех сортов (Фаворитка, Смуглянка, Мироновская 808) выращивали в вегетационном опыте на двух фонах минерального питания:  $N_{160}P_{160}K_{160}$  и  $N_{32}P_{32}K_{32}$  мг/кг почвы. В фазу молочной спелости определяли содержание хлорофилла, интенсивность углекислотного газообмена и активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и аскорбатпероксидазы (АПО) хлоропластов флаговых листьев. Показано, что при недостатке минерального питания снижается интенсивность фотосинтеза листьев озимой пшеницы, повышается активность СОД и АПО в расчете на содержание хлорофилла, что можно рассматривать как составляющую защитной реакции растений на действие неблагоприятного фактора. Новые высокоинтенсивные сорта пшеницы Фаворитка и Смуглянка характеризовались более высокой активностью ассимиляции  $CO_2$ , антиоксидантных ферментов, большей зерновой продуктивностью в условиях как оптимального, так и пониженного фона минерального питания по сравнению с сортом Мироновская 808.

#### ASSIMILATION RATE AND ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY OF WINTER WHEAT LEAVES UNDER DIFFERENT MINERAL NUTRITION

*O.G. Sokolovska-Sergienko, D.A. Kiriziy*

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine  
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

Winter wheat plants of three varieties (Favoritka, Smuglyanka, Mironivska 808) were grown in pot experiment under two mineral nutrition backgrounds:  $N_{160}P_{160}K_{160}$  and  $N_{32}P_{32}K_{32}$  mg/kg of soil. Chlorophyll contents, carbon dioxide exchange rate and chloroplasts superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) activity of flag leaves at milky ripeness were determined. It was shown that under mineral nutrition deficiency leaves assimilation rate decreased, and SOD and APX activity calculated on chlorophyll content increased, what can be considered as component of plant defense response to unfavorable factor. New high intensive wheat varieties Favoritka and Smuglyanka were characterized by higher rate of  $CO_2$  assimilation, antioxidant enzymes activity and grain productivity under both optimal and lowered mineral nutrition background than variety Mironivska 808.

*Key words:* *Triticum aestivum* L., winter wheat, photosynthesis, antioxidant enzymes, mineral nutrition.