

УДК 581.131

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЗОТА ПРИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АССИМИЛЯЦИИ CO₂ В ЛИСТЯХ ПШЕНИЦЫ

Д.А. КИРИЗИЙ

*Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины
03022 Киев, ул. Васильковская, 31/17
e-mail: kiriziy@ukrpost.net*

Растения озимой пшеницы трех сортов (Фаворитка, Смуглянка, Мироновская 808) выращивали в вегетационном опыте при двух фонах минерального питания — N₁₆₀P₁₆₀K₁₆₀ и N₃₂P₃₂K₃₂ мг/кг почвы. В фазы колошения, цветения и молочно-восковой спелости измеряли интенсивность видимого фотосинтеза, фотодыхания, транспирации флаговых листьев, определяли содержание в них азота. Показано, что эффективность использования азота в процессах фотосинтетической ассимиляции CO₂ (ЭИАФ) в листьях пшеницы современных высокоинтенсивных сортов выше, чем у менее продуктивного сорта старой селекции. В процессе старения листьев на протяжении периода роста зерновок ЭИАФ уменьшается, что связано с деградацией белковых компонентов фотосинтетического аппарата и увеличением доли транспортных форм азота, которые ремобилизуются в зерновки. Между ЭИАФ и интенсивностью фотосинтеза выявлена положительная корреляционная связь, опосредованная проводимостью мезофилла для CO₂.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., озимая пшеница, фотосинтез, эффективность использования азота.

Интенсивность фотосинтеза листьев подавляющего большинства видов растений, измеренная при световом насыщении, тесно коррелирует с содержанием в них азота [8]. Эта связь обусловлена тем, что большая часть азота листа задействована в структурах и биохимических циклах, обеспечивающих выполнение фотосинтетической функции [14]. Основными азотсодержащими веществами в листе являются белки и в меньшей степени — фотосинтетические пигменты, причем около половины растворимого белка листа составляет РБФК/О — ключевой фермент ассимиляции CO₂ [7, 21]. Довольно много азота содержится в хлорофилл-белковых комплексах тилакоидов и прочих мембранных структурах хлоропластов.

В наших предыдущих опытах с растениями пшеницы трех сортов, выращенных на двух контрастных фонах минерального питания, также была выявлена тесная корреляционная связь между содержанием в листьях азота и интенсивностью фотосинтеза как при насыщающей, так и низкой освещенности, тогда как между содержанием хлорофилла и фотосинтезом корреляция была выше при меньшей освещенности [1].

Хотя корреляция между содержанием азота в листе и интенсивностью фотосинтеза является универсальной закономерностью, характер

этой связи (угол наклона, диапазон варьирования показателей) значительно различается между видами C_3 -растений. Это обусловлено неодинаковой эффективностью использования азота для фотосинтетической ассимиляции CO_2 , что связано как с различным распределением азота между собственно фотосинтетическими и прочими структурами клетки, так и с эффективностью работы самого фотосинтетического аппарата [9, 16, 19, 20]. По литературным данным, показатель ЭИАФ варьирует от >200 у быстрорастущих однолетних травянистых видов до <50 мкмоль CO_2 /(моль $N \cdot c$) у древесных пород [13, 18]. Очевидно, что у культурных растений должны существовать и внутривидовые различия по этому показателю, обусловленные сортовыми особенностями.

Пшеница является культурным растением, обеспечивающим значительную часть пищевого рациона человечества, поэтому изучение составляющих ее продукционного процесса и их оптимизация весьма актуальны [4]. В первую очередь это относится к изучению фотосинтеза как основы продуктивности растительного организма. По результатам наших исследований и имеющимся в литературе данным, сорта пшеницы различаются по интенсивности фотосинтеза флаговых листьев, измеренной при насыщающем освещении, и содержанию в них хлорофилла [2]. Особенно заметна эта разница при сравнении сортов селекции 1950–1960-х годов и современных высокопродуктивных сортов, созданных в процессе «зеленой революции».

Для максимального раскрытия своего генетического потенциала продуктивности современные сорта пшеницы требуют применения интенсивных технологий выращивания, которые включают внесение больших доз удобрений, особенно азотных. Поэтому весьма много работ посвящено изучению эффективности использования внесенного или поглощенного растениями азота при формировании биологической либо зерновой продуктивности различных сортов пшеницы и в зависимости от условий внешней среды [11, 12, 15].

Вместе с тем гораздо меньше известно об эффективности использования азота непосредственно в процессах фотосинтетической ассимиляции CO_2 листьями пшеницы. Существование генотипических различий в интенсивности фотосинтеза, а также в потребности растений в минеральных удобрениях предполагает различия и в ЭИАФ. Хорошо также известно, что в период налива зерна после цветения в растениях пшеницы происходит ремобилизация азота из вегетативных органов в зерновку и отложение его в составе запасных белков [11, 15]. Этот процесс, как правило, сопровождается снижением интенсивности фотосинтеза листьев, однако сведения о динамике ЭИАФ листьев пшеницы в период созревания зерна в известной нам литературе практически отсутствуют. Вместе с тем поддержание интенсивности фотосинтеза листьев на высоком уровне после цветения рассматривается как один из приемов повышения урожайности, поскольку образующиеся в этот период ассимиляты на 80–90 % определяют конечную зерновую продуктивность растений (при отсутствии воздействия неблагоприятных факторов) [2, 3, 17].

Цель нашей работы состояла в изучении динамики в период налива зерна эффективности использования азота в фотосинтезе листьев растений пшеницы различных сортов, выращенных при высоком и низком фонах минерального питания.

Методика

Растения трех сортов озимой мягкой пшеницы — Фаворитка, Смуглянка (новые, высокоинтенсивные, селекции Института физиологии растений и генетики НАН Украины), Мироновская 808 — после перезимовки в естественных условиях весной на стадии кущения пересадили в вегетационные сосуды на 10 кг почвы (по 20 растений в сосуд). Растения выращивали при двух фонах минерального питания: высоком и низком. В первом случае в сосуд при набивке вносили NPK в виде нитроаммофоски, содержащей по 16 % каждого элемента, в расчете 0,5 г/кг почвы. В фазу выхода в трубку растения в этих сосудах дополнительно подкармливали таким же количеством нитроаммофоски, так что общее ее количество в варианте с высоким фоном составило 1 г/кг почвы. В сосуды с низким фоном минерального питания при набивке вносили нитроаммофоску в расчете 0,2 г/кг почвы и растения дополнительно не подкармливали. Сосуды размещали на стеллаже вегетационной площадки при естественном освещении, влажность почвы поддерживали на уровне 60—70 % ПВ поливом сверху и в трубку. Опыт был заложен в шестикратной повторности.

В фазы колошения, цветения и молочно-восковой спелости отбирали пробы для изучения распределения массы сухого вещества по органам главного побега. При этом флаговые листья отбирали отдельно, перед фиксацией определяли их площадь. Пробы фиксировали в сушильном шкафу при 105 °С и досушивали при 70 °С до постоянной массы. Содержание общего азота в сухом веществе флаговых листьев определяли по Починку [5].

В те же фазы развития растений перед отбором проб измеряли интенсивность видимого фотосинтеза, фотодыхания и транспирации флаговых листьев. Показатели газообмена регистрировали в контролируемых условиях на установке, смонтированной на базе оптико-акустического инфракрасного газоанализатора ГИАМ-5М, включенного по дифференциальной схеме. Неотделенные от растений листья размещали в термостатированной (+25 °С) камере и освещали лампой накаливания КГ-2000 через водяной фильтр (400 Вт/м² ФАР). Через камеру продували атмосферный воздух со скоростью 1 дм³/мин. Интенсивность транспирации измеряли термоэлектрическим микросихрометром по разнице влажности воздуха на входе и выходе из камеры. Интенсивность фотодыхания оценивали по величине выброса CO₂ из листа в течение 1 мин после выключения света. На основании полученных результатов рассчитывали значения истинного (гросс) фотосинтеза (сумма интенсивностей видимого фотосинтеза и фотодыхания), а также листовую, мезофилльную проводимость для CO₂ и его концентрацию в межклеточном пространстве. Показатели газообмена рассчитывали по стандартным методикам [6]. Экспериментальные данные обработаны статистически с помощью программы Excel. На диаграммах приведены средние значения и их стандартные отклонения ($M \pm m$). Для корреляционных связей указаны величины достоверности аппроксимации (R^2).

Результаты и обсуждение

Интенсивность фотосинтеза флаговых листьев растений пшеницы сортов Фаворитка и Смуглянка при обоих уровнях минерального питания была выше, чем у Мироновской 808 во все периоды наблюдения, а ее

динамика характеризовалась снижением в фазу молочно-восковой спелости (рис. 1, *a*). При низком фоне питания у всех исследованных сортов этот показатель оказался на 20–25 % меньше по сравнению с оптимальным фоном, хотя различие по количеству внесенных макроэлементов между вариантами было большим в 5 раз. Это обусловлено реутилизацией элементов во флаговые листья из листьев нижних ярусов (что вызывало ускорение их отмирания), а также угнетением кущения растений при низком фоне питания, что способствовало экономии питательных веществ для обеспечения роста и развития лишь одного главного побега.

Количество азота в расчете на единицу площади флагового листа также уменьшалось в фазу молочно-восковой спелости, а максимальным

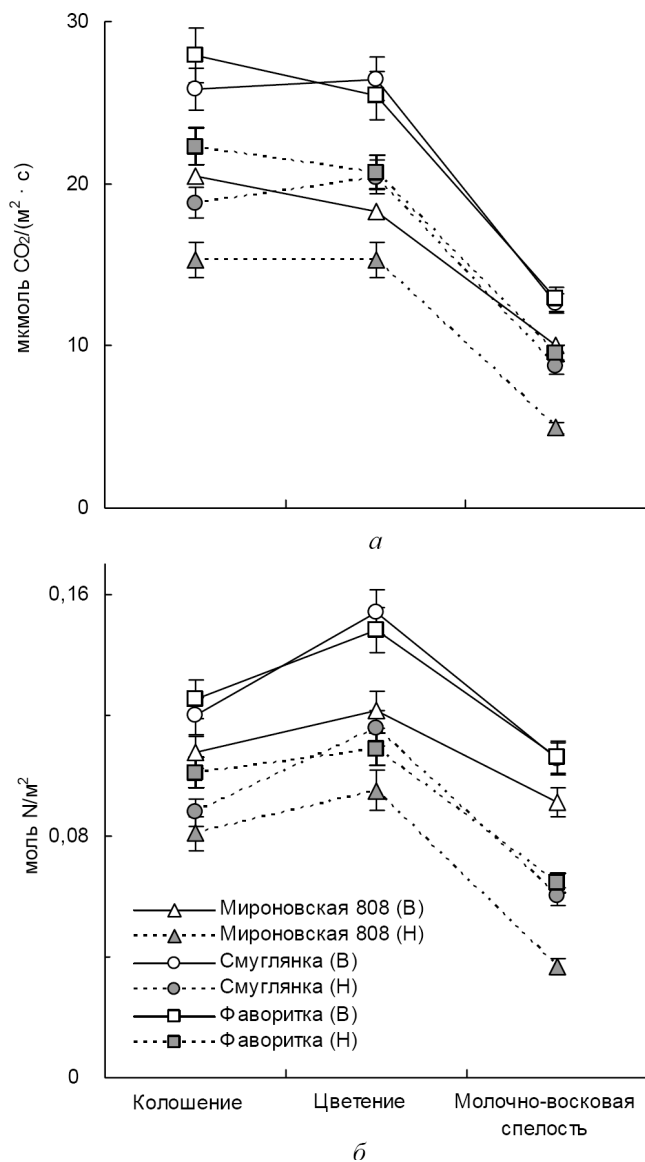


Рис. 1. Динамика интенсивности фотосинтеза (*a*) и содержания азота (*b*) во флаговых листьях растений озимой пшеницы разных сортов, выращенных при высоком (В) и низком (Н) фонах минерального питания

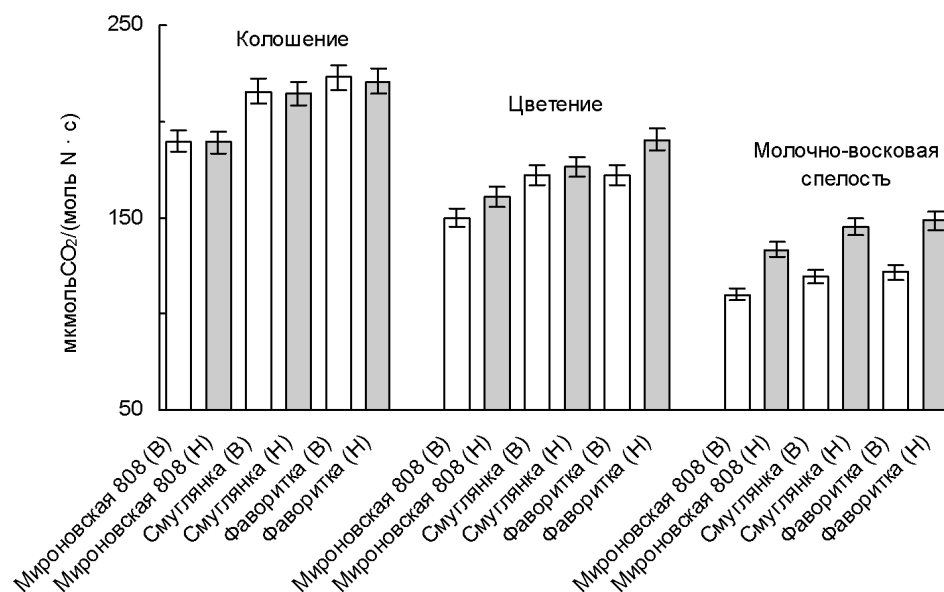


Рис. 2. Динамика эффективности использования азота в процессе фотосинтетической ассимиляции CO₂ во флаговом листе растений озимой пшеницы разных сортов, выращенных при высоком (В) и низком (Н) фоне минерального питания

было в фазу цветения (см. рис. 1, б). В оптимальных условиях питания растения сортов Фаворитка и Смуглянка по количеству азота на единицу площади флагового листа практически не различались, у сорта Мироновская 808 этот показатель был заметно меньше. Снижение обеспеченности растений элементами минерального питания приводило к уменьшению количества азота в листьях с сохранением указанных межсортных особенностей.

В результате определения количества азота, приходящегося на единицу площади флагового листа, одновременно с измерением интенсивности углекислотного газообмена удалось рассчитать показатель эффективности использования азота в процессах фотосинтетической ассимиляции CO₂ как отношение интенсивности гросс-фотосинтеза к содержанию азота. Оказалось, что у растений новых высокоинтенсивных сортов Фаворитка и Смуглянка ЭИАФ выше, чем у менее продуктивного сорта старой селекции Мироновская 808 (рис. 2). Общая динамика этого показателя характеризовалась постепенным уменьшением на протяжении исследованного периода во всех вариантах. В фазу колошения растения вариантов с оптимальным и низким фоном минерального питания по ЭИАФ практически не различались. В фазу цветения наблюдалась тенденция к дифференциации по этому показателю, а в фазу молочно-восковой спелости эффективность использования азота при низком фоне минерального питания была больше, чем при высоким.

Такой характер динамики свидетельствует, что в период созревания зерновок интенсивность фотосинтеза листьев уменьшается быстрее, чем содержание в них азота. Очевидно это связано с началом реутилизации азотсодержащих соединений в зерновки, что сопровождается гидролизом белков листа, среди которых преобладают белки фотосинтетического аппарата. В этот период в листе увеличивается содержание свободных аминокислот и амидов — основных транспортных форм азо-

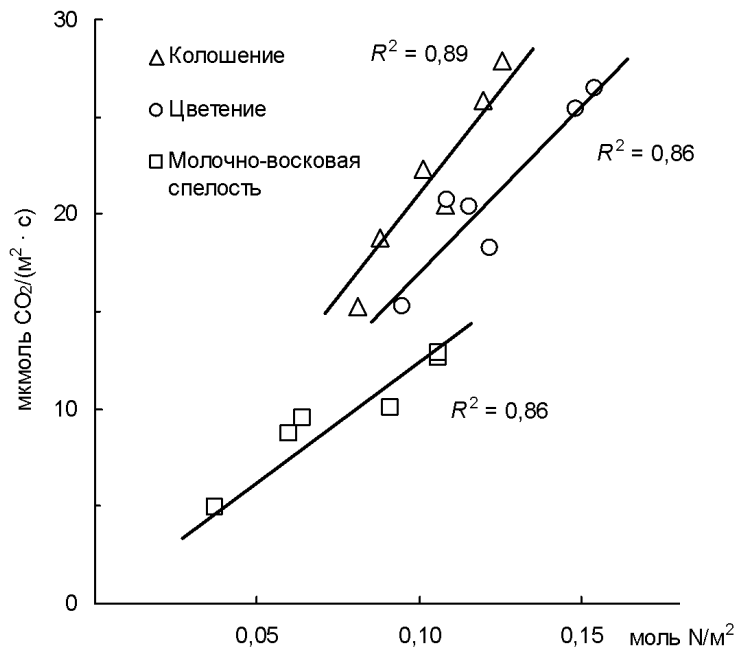


Рис. 3. Корреляционные зависимости между содержанием азота во флаговых листьях и интенсивностью фотосинтеза для разных фаз развития растений пшеницы

та в проводящей системе [10]. В результате содержание общего азота в листе еще может быть довольно высоким, но уменьшается его часть, задействованная в фотосинтетических процессах, что и проявляется в снижении эффективности его использования. Это касается как упоминавшейся выше общей динамики ЭИАФ, так и дифференциации вариантов с разным фоном минерального питания.

Вероятно, при оптимальном фоне больше азота было накоплено в виде РБФК/О (некоторые исследователи рассматривают ее как своеобразное депо азота в листьях [10]), но гидролиз этого белка в процессе налива зерна, с одной стороны, повысил долю «нефотосинтетического» азота, а с другой — уменьшил интенсивность фотосинтеза. При низком фоне минерального питания у растений резервов депонированного азота значительно меньше, поэтому с началом гидролиза доля «нефотосинтетического» азота в них ниже.

Нами выявлена высокая степень корреляции между содержанием азота в расчете на единицу площади листа и интенсивностью фотосинтеза (рис. 3), которая, однако, лучше аппроксимировалась отдельными зависимостями для каждой изученной фазы развития растений. Это подтверждает высказанное выше предположение, что доля «фотосинтетического» азота в листе не является постоянной и уменьшается в процессе роста зерновок в связи с начинающейся деградацией высокомолекулярных белковых структур. Поэтому при одинаковом содержании азота в листе интенсивность углекислотного газообмена на свету снижается от фазы колошения к фазе молочно-восковой спелости, а угол наклона линии тренда уменьшается.

Вместе с тем между ЭИАФ и интенсивностью фотосинтеза для всего массива полученных экспериментальных точек выявлена положительная корреляционная связь (рис. 4). Поскольку в наших опытах оп-

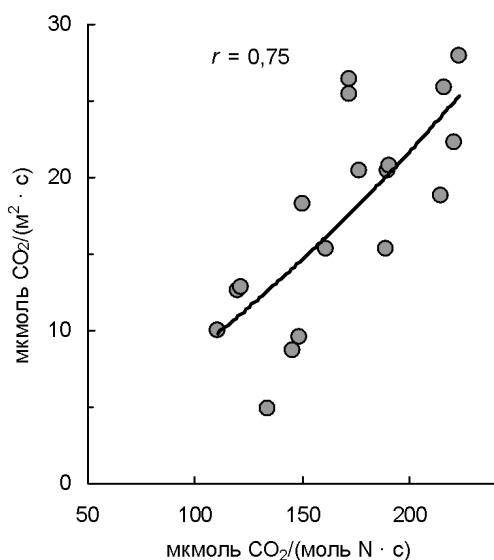


Рис. 4. Зависимость между эффективностью использования азота и интенсивностью фотосинтеза флаговых листьев растений пшеницы

ределялось содержание в листе общего азота, эта корреляция подтвердила, что чем больше азота листа задействовано в процессах ассимиляции CO_2 и меньше доля «нефотосинтетического» азота, тем выше интенсивность фотосинтеза. Очевидно, главной составляющей этой зависимости является содержание в листе РБФК/О как основного депо «фотосинтетического» азота. В пользу последнего предположения свидетельствует очень слабая зависимость между устьичной проводимостью и ЭИАФ и довольно тесная положительная корреляционная связь между проводимостью мезофилла и показателем эффективности использования азота при фотосинтезе (рис. 5, а, б). Это объясняется тем, что проводимость мезофилла определяется преимущественно активностью РБФК/О в листовой ткани, которая, в свою очередь, зависит от количества этого фермента в хлоропластах.

Чем активнее функционирует РБФК/О, тем сильнее снижается концентрация CO_2 в межклеточном пространстве (обычно при условии оптимального водного режима растения, полного раскрытия устьиц и стабильного содержания CO_2 в атмосфере). Поэтому между концентрацией CO_2 в межклетниках и эффективностью использования азота при фотосинтезе наблюдалась существенная отрицательная корреляционная связь (см. рис. 5, в), не зависящая от фазы развития и сортовых особенностей растений. Ведь чем больше содержание в листе РБФК/О, тем выше интенсивность фотосинтетической ассимиляции CO_2 , эффектив-

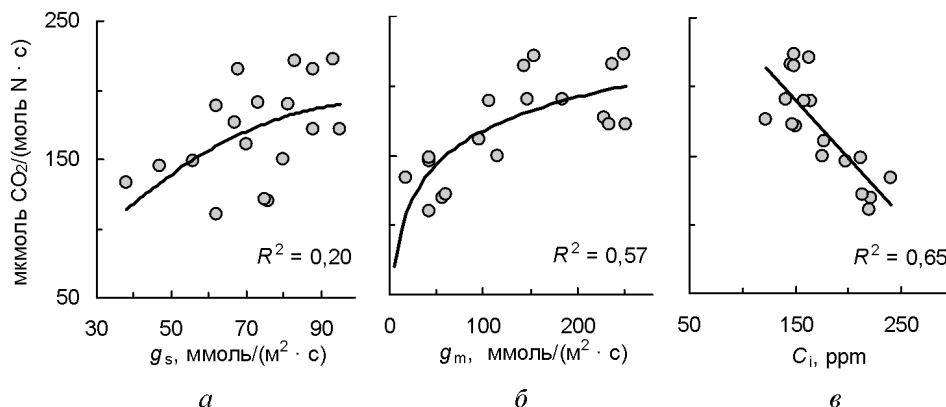


Рис. 5. Корреляционные связи между устьичной (а), мезофилльной (б) проводимостью, концентрацией CO_2 в межклетниках (в) флагового листа пшеницы и эффективностью использования азота при фотосинтезе

ность использования при этом азота и ниже концентрация CO_2 в межклетниках.

Вопрос о том, какие физиологические признаки определяют генотипические различия по ЭИАФ, дискутируется в литературе [7, 9, 13, 16, 18–20, 22]. Среди наиболее значимых называют удельную массу листьев (отрицательная связь), долю азота в листе, приходящуюся на РБФК/О, ее удельную активность (положительные зависимости), концентрацию CO_2 в межклетниках (C_i). На показатель ЭИАФ также могут влиять различия в участии азота в хлорофилл-белковых комплексах, связанных с потенциальной мощностью фотосинтетического аппарата и степени ее реализации в конкретных условиях. В наших опытах расчеты удельной массы листьев и C_i не дали оснований для вычленения этих показателей в качестве определяющих межсортовые различия. Вместе с тем многолетние наблюдения свидетельствуют о более высоком содержании хлорофилла в листьях растений сортов Фаворитка и Смуглянка по сравнению с сортом Мироновская 808 [2].

Что касается активности РБФК/О, то в опытах Стасика [2], проведенных с теми же сортами пшеницы, показано, что межсортовые различия по интенсивности фотосинтеза не определяются степенью активизации молекул этого фермента. Высокая активность РБФК/О в расчете на единицу площади листа у современных сортов обусловлена большим количеством фермента, но не связана с его удельной активностью, рассчитанной на содержание растворимого белка. Следовательно, на основании литературных данных и результатов наших опытов можно предположить, что более высокая ЭИАФ у растений новых сортов обусловлена большей степенью участия азота в формировании фотосинтетических структур — хлорофилл-белковых комплексов и ферментов цикла Кальвина.

Таким образом, выявлено, что эффективность использования азота в процессах фотосинтетической ассимиляции CO_2 в листьях пшеницы современных высокоинтенсивных сортов выше, чем у менее продуктивного сорта старой селекции. В процессе старения листьев на протяжении периода роста зерновок эффективность использования азота при фотосинтезе уменьшается. Это обусловлено деградацией белковых компонентов фотосинтетического аппарата и увеличением доли транспортных форм азота, которые ремобилизуются в зерновки.

Между эффективностью использования азота и интенсивностью фотосинтеза существует положительная корреляционная связь, опосредованная проводимостью мезофилла для CO_2 , а следовательно, активностью РБФК/О.

1. Кірізій Д.А. Інтенсивність фотосинтезу та продуктивність рослин озимої пшениці залежно від азотного статусу листків // Физиология и биохимия культ. растений. — 2012. — 44, № 5. — С. 399–407.
2. 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.
3. 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.
4. Моргун В.В., Швартау В.В., Киризий Д.А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков // Там же. — 2010. — 42, № 5. — С. 371–392.
5. Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений. — Киев: Наук. думка, 1976. — 333 с.

6. *Фотосинтез и биопродуктивность: методы определения* / Под ред. А.Т. Мокроносова, А.Г. Ковалева. — М.: Агропромиздат, 1989. — 460 с.
7. *Archontoulis S.V., Yin X., Vos J. et al.* Leaf photosynthesis and respiration of three bioenergy crops in relation to temperature and leaf nitrogen: how conserved are biochemical model parameters among crop species? // *J. Exp. Bot.* — 2012. — **63**, N 2. — P. 895–911.
8. *Evans J.R.* Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants // *Oecologia.* — 1989. — **78**. — P. 9–19.
9. *Evans J.R., Seemann J.R.* The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences, and control // *Towards a Broad Understanding of Photosynthesis.* — New York, 1989. — P. 183–205.
10. *Feller U., Anders I., Mae T.* Rubisco: fate of Rubisco after its enzymatic function in a cell is terminated // *J. Exp. Bot.* — 2008. — **59**, N 7. — P. 1615–1624.
11. *Foulkes M.J., Hawkesford M.J., Barraclough P.B. et al.* Identifying traits to improve the nitrogen economy of wheat: Recent advances and future prospects // *Field Crops Res.* — 2009. — **114**, N 3. — P. 329–342.
12. *Gorjanovic B., Kraljevic-Balalic M., Jankovic S.* Environmental effects on associations among nitrogen use efficiency traits in wheat // *Cereal Res. Communic.* — 2010. — **38**, N 1. — P. 146–153.
13. *Hikosaka K., Hanba Y.T., Hirose T., Terashima I.* Photosynthetic nitrogen use efficiency in leaves of woody and herbaceous species // *Funct. Ecol.* — 1998. — **12**. — P. 896–905.
14. *Lawlor D.W.* Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems // *J. Exp. Bot.* — 2002. — **53**, N 370. — P. 773–787.
15. *Madani A., Makarem A.H., Vazin F. et al.* The impact of post-anthesis nitrogen and water availability on yield formation of winter wheat // *Plant Soil Environ.* — 2012. — **58**, N 1. — P. 9–14.
16. *Onoda Y., Hikosaka K., Hirose T.* Allocation of nitrogen to cell walls decreases photosynthetic nitrogen-use efficiency // *Funct. Ecol.* — 2004. — **18**. — P. 419–425.
17. *Parry M.A., Reynolds M., Salvucci M.E. et al.* Raising yield potential of wheat. II. Increasing photosynthetic capacity and efficiency // *J. Exp. Bot.* — 2011. — **62**, N 2. — P. 453–467.
18. *Pons T.L., Westbeek M.H.M.* Analysis of differences in photosynthetic nitrogen-use efficiency between four contrasting species // *Physiol. Plant.* — 2004. — **122**. — P. 68–78.
19. *Poorter H., Evans J.R.* Photosynthetic nitrogen use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area // *Oecologia.* — 1998. — **116**. — P. 26–37.
20. *Reich P.B., Ellsworth D.S., Walters M.B.* Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis nitrogen relations evidence from within and across species and functional groups // *Funct. Ecol.* — 1998. — **12**. — P. 948–958.
21. *Sage R.F., Way D.A., Kubien D.S.* Rubisco, Rubisco activase, and global climate change // *J. Exp. Bot.* — 2008. — **59**, N 7. — P. 1581–1595.
22. *Westbeek M.H.M., Pons T.L., Cambridge M.L., Atkin O.K.* Analysis of differences in photosynthetic nitrogen use efficiency of alpine and lowland *Poa* species // *Oecologia.* — 1999. — **120**. — P. 19–26.

Получено 21.01.2013

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ АЗОТУ ПРИ ФОТОСИНТЕТИЧНІЙ АСИМІЛЯЦІЇ CO₂ В ЛИСТКАХ ПШЕНИЦІ

Д.А. Кірізії

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ

Рослини озимої пшениці трьох сортів (Фаворитка, Смуглянка, Миронівська 808) вирощували у вегетаційному досліді на двох фонах мінерального живлення — N₁₆₀P₁₆₀K₁₆₀ і N₃₂P₃₂K₃₂ мг/кг ґрунту. У фази колосіння, цвітіння і молочно-воскової стиглості вимірювали інтенсивність видимого фотосинтезу, фотодихання, транспірації прапорцевих листків, визначали вміст у них азоту. Показано, що ефективність використання азоту в процесах фотосинтетичної асиміляції CO₂ (ЕВАФ) у листках пшениці сучасних високоінтенсивних сортів вища, ніж у менш продуктивного сорту старої селекції. У процесі старіння листків протягом періоду росту зернівок ЕВАФ зменшується, що пов'язано з деградацією білкових компонентів фотосинтетичного апарату і збільшенням частки транспортних форм азоту, що ремобілізуються до зернівок. Між ЕВАФ та інтенсивністю фотосинтезу виявлено позитивний кореляційний зв'язок, опосередкований провідністю мезофілу для CO₂.

PHOTOSYNTHETIC NITROGEN USE EFFICIENCY IN WHEAT LEAVES

D.A. Kiriziy

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

The plants of three winter wheat varieties (Favoritka, Smuglyanka, Mironovskaya 808) were grown in pot experiment on two mineral nutrition backgrounds — $N_{160}P_{160}K_{160}$ and $N_{32}P_{32}K_{32}$ mg/kg of soil. Net photosynthetic rate, photorespiration and transpiration rates, nitrogen content in flag leaves were measured at stages of earing, flowering and milky-wax ripeness. It was shown that photosynthetic nitrogen use efficiency (PNUE) in wheat leaves of new high-intensive varieties (Favoritka, Smuglyanka) is higher than in less productive old variety (Mironovskaya 808). In transition of leaves ageing during grain growth PNUE decreased, which related to degradation of photosynthetic proteins and to increase of nitrogen transport forms that are remobilized in grains. The positive correlation between PNUE and assimilation rate is revealed that is mediated by mesophyll CO_2 conductance.

Key words: *Tricum aestivum* L., winter wheat, photosynthesis, nitrogen use efficiency.