

<https://doi.org/10.15407/frg2023.02.150>

УДК 581.1

ВПЛИВ КОРЕНЕВОЇ ГІПОКСІЇ НА ФОТОСИНТЕТИЧНИЙ АПАРАТ ШПИНАТУ ПРИ ГІДРОПОННОМУ ВИРОЩУВАННІ

Н.М. ТОПЧІЙ, В.В. ДАДИКА, О.К. ЗОЛОТАРЬОВА

*Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України
01004 Київ, вул. Терещенківська, 2
e-mail: ntopchiy@ukr.net*

Метою роботи було дослідження впливу дефіциту кисню на рівні коренів на фотосинтетичні характеристики листків шпинату. Рослини шпинату (*Spinacia oleracea* L.) вирощували протягом 40 діб у гідропонній культурі за густини потоку фотонів (ГПФ) 200 мкмоль/(м² · с). Перші 30 діб культивування поживний розчин продували повітрям, що насичувало середовище киснем до концентрації близько 8 мг/л. На 31-шу добу вирощування аерацію поживного середовища у дослідному варіанті припиняли, після чого приблизно через 8–12 год в розчин виникала гіпоксія, а вміст кисню знижувався до <1,5 мг/л. Згідно з отриманими даними коренева гіпоксія спричинювала вірогідне зниження вмісту пігментів у листках: хлорофілу (Хл) *a* — на 25 %, Хл *b* — на 15, каротиноїдів — на 17 %. Водночас співвідношення Хл *a/b* у дослідному варіанті знижувалося до 2,55 порівняно з контролем (2,94), що свідчить про збільшення відносного вмісту Хл *b* за умов стресу. Для оцінки функціонального стану фотосинтетичного апарату визначали максимальний квантовий вихід (F_v/F_m), квантовий вихід фотохімії фотосистеми II (ФС II) в адаптованому до світла стані (F'_v/F'_m) і реальний квантовий вихід транспорту електронів (ϕ ФС II), а також рівні фотохімічного (qP) і нефотохімічного (qN, NPQ) гасіння флуоресценції. Значення стаціонарної флуоресценції (F_s), нормовані до темноадаптованих базових значень (F_0), використовували як індикатор впливу кореневої гіпоксії на продихову провідність листків шпинату. Показано, що наслідком стресу, спричиненого дефіцитом кисню у кореневій зоні, є зниження максимального квантового виходу, а також параметрів F'_v/F'_m і ϕ ФС II за низької ГПФ актинічного світла. Вірогідних відмінностей у параметрах qP, qN, NPQ і F_s/F_0 між контрольним і дослідним варіантами за ГПФ актинічного світла 200, 600 і 1000 мкмоль/(м² · с) не виявлено. Отримані дані свідчать, що помірний стрес у гідропонній культурі шпинату під час гіпоксії призводить до зниження вмісту пігментів і часткового пошкодження фотосинтетичного апарату.

Ключові слова: *Spinacia oleracea* L., гідропоніка, фотосинтез, коренева гіпоксія, хлорофіл, каротиноїди, флуоресценція хлорофілу.

Шпинат (*Spinacia oleracea* L.) — популярна листкова овочева культура родини Amaranthaceae, яка широко культивується в усьому світі як сезонно у відкритому ґрунті, так і в теплицях протягом року [1]. Йо-

Цитування: Топчий Н.М., Дадика В.В., Золотарьова О.К. Вплив кореневої гіпоксії на фотосинтетичний апарат шпинату при гідропонному вирощуванні. *Фізіологія рослин і генетика*. 2023. 55, № 2. С. 150–162. <https://doi.org/10.15407/frg2023.02.150>

го виробництво з 1970 р. збільшилося більш ніж у 14 разів і досягло у 2020 р. 31 млн т [2]. Шпинат — багате джерело вітамінів А, С, Е, К, вітамінів групи В, а також кальцію, калію магнію, марганцю, заліза, фолієвої кислоти та харчових волокон [3, 4]. Білок листків шпинату містить усі незамінні амінокислоти. За високої поживної цінності 100 г шпинату містять лише 26 ккал. Завдяки чому він рекомендований для раціонів здорового та дієтичного харчування [5].

Фітокомплекс із шпинату здатний протидіяти окиснювальному стресу. Дослідження фітохімічного складу показали, що антиоксидантний потенціал шпинату вищий, ніж у цибулі, селери і томатів [6]. Він накопичує антиоксиданти, такі як лютеїн, бета-каротин, кумарова та ферулова кислоти, а також поліфеноли, що мають антиму-тагенні, протизапальні та омолоджувальні властивості [4, 7–12, 13]. Листки шпинату виявляють виражену протипухлинну активність за різних видів раку, включно рак легень, простати, молочної залози, товстої кишки та яєчників [3, 9]. Відповідно до низки досліджень [3, 7, 11, 13] основну роль у антиоксидантному ефекті шпинату відіграють флавоноїди, зокрема глюкозиди патулетин, спинацетин і жа-сеїдин.

У 2009 р. з листків шпинату була ізольована суміш антиоксидантів, позначених NAO (Natural Anti-Oxidant), що містить ароматичні поліфеноли та похідні глюкуронової кислоти [14]. Ці антиоксиданти здатні протидіяти вільним радикалам [3], мають антипроліферативну і протизапальну дію як *in vivo*, так і *in vitro* [15]. Пізніше було показано, що спиртовий екстракт листків *S. oleracea* інгібує ріст різних видів бактерій, включно *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, а також грибів, таких як *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Candida albicans* і *Fusarium oxysporum* [16].

Накопичення вторинних метаболітів-антиоксидантів є важливою складовою захисту рослинних клітин від окиснювального пошкодження і стимулюється за дії різноманітних стресових чинників [17, 18]. Показано [19, 20], зокрема, що синтез унікального комплексу антиоксидантів в листках шпинату зростає під час гіпоксії за гідропонного вирощування. Швидкий розвиток гіпоксії за відсутності примусової аерації поживного розчину відбувається через низьку швидкість дифузії молекулярного кисню у воді, яка в 10^4 разів повільніша, ніж у повітрі. Оскільки концентрація O_2 у воді нижча, ніж у повітрі, й не перевищує 9 мг/л за 20 °С, знижуючись за підвищення температури, потік атмосферного O_2 без аерації водного середовища гальмується приблизно у 320 000 разів [21, 22].

Різке падіння концентрації кисню навколо коренів під час підтоплення рослин може призвести до фактичної аноксії кореневої зони. Перезволоження ґрунтів при повеннях, або сильних зливах належить до основних абіотичних стресів, які негативно впливають на врожайність сільськогосподарських культур. Кисень є кінцевим акцептором мітохондріального транспорту електронів. За його відсутності кореневе дихання пригнічується. Спряжений з диханням синтез АТФ у цьому разі блокується. Рослина перемикає свій метаболізм

на анаеробний режим [23] з активацією альтернативних шляхів дихального транспорту електронів, продукуючих активні форми кисню (АФК). Це призводить до розвитку окиснювального стресу. Можливі механізми утворення АФК за кореневої гіпоксії обговорюються в багатьох оглядах [24—27].

За дефіциту АТФ, необхідного для транспортування поживних речовин з кореневої зони до пагона, живлення рослин погіршується, інгібуються ростові процеси, погіршується гідравлічна провідність і, як наслідок, поглинання води, що врешті-решт призводить до закриття продихів [28, 29]. За цих умов швидкість фотосинтетичних процесів знижується, в результаті чого рослина зазнає дефіциту енергії для росту і розвитку.

Гідропонне культивування має багато переваг, порівняно з вирощуванням рослин у ґрунті, оскільки уможливорює створення оптимальних умов для їх росту, забезпечує отримання високих врожаїв кращої якості та за коротші терміни. Гідропонні системи культивування часто використовують як модельну систему для визначення фізіологічних наслідків кореневої гіпоксії [30—32]. Так, за гіпоксії проростків квасолі знижувалась інтенсивність фотосинтезу (на 62—82 %), продихова провідність (на 73—97 %), транспірація (на 51—92 %), фактичний квантовий вихід, вміст хлорофілів і каротиноїдів [32]. Goto et al. [31] показали, що гіпоксія призводить до зниження біомаси коренів стручкового перцю, зменшення поглинання води листками та зниження вмісту каротиноїдів і хлорофілів. Відомо, що культивування шпинату потребує примусової аерації поживного середовища [33], а за припинення аерації в листках зростає вміст біологічно активних речовин. Для розроблення ефективних способів вилучення антиоксидантного комплексу речовин з листків шпинату необхідно оцінити вплив гіпоксії на функціональний стан рослин.

З огляду на викладене метою роботи було дослідження впливу кореневої гіпоксії на функціональні показники фотосинтетичного апарату (ФСА) шпинату за гідропонного вирощування.

Методика

Об'єктом дослідження слугували рослини шпинату (*Spinacia oleracea* L.) сорту Матадор, отримані з Інституту землеробства НААН України. Рослини вирощували на середовищі Хогланда [34] у гідропонній культурі упродовж 40 діб за температури 22 °С та фотоперіоду 14 год. Поживне середовище змінювали щотижня та насичували киснем постійною аерацією акваріумним насосом. На 31-шу добу вирощування аерацію поживного розчину у дослідному варіанті припиняли, внаслідок чого в системі розвивалася гіпоксія. За нормоксії вміст O_2 у поживному розчині гідропонної системи становив близько 8 мг/л, а після припинення аерації поступово знижувався і приблизно через 12 год становив < 1,5 мг/л.

Джерелом освітлення були люмінесцентні лампи ЛБ 40 (Полтава, Україна). Густина потоку фотонів фотосинтетично активної радіації (ГПФ ФАР) на рівні листків становила близько 200 мкмоль/($m^2 \cdot c$).

ГПФ ФАР визначали за допомогою приладу LI-250 Lightmeter («LICOR», США).

Вміст хлорофілів a , b та каротиноїдів визначали за Ліхтенталер [35] і розраховували в мг/г сухої речовини.

Флуоресценцію Хл a в листках вимірювали з використанням ХЕРАМ флуорометра («Walz», Німеччина) за кімнатної температури. Для збудження флуоресценції Хл a модульований світловий потік імпульсної ксенонової лампи пропускали крізь синьо-зелений фільтр BG-39 (5 мм, Schott). Інтенсивність збуджувального світла регулювали за допомогою діафрагм і нейтральних фільтрів. Реєстрували флуоресценцію Хл a за $\lambda \geq 695$ нм, з використанням фільтрів RG645/R65 (2 мм, 1 мм, Schott, Balzers) та RG9 (1 мм, Schott). Дані записували у форматі файлів Excel за допомогою мультиметра UNI-T UT-60E («Uni-trend International Ltd», Гонконг), з'єданого з комп'ютером.

Досліджувані експериментальні і контрольні листки попередньо адаптували до темряви упродовж 20 хв. Мінімальний рівень флуоресценції адаптованих до темряви (F_0) та світла (F'_0) листків визначали за дії модульованого (2 Гц) світла низької інтенсивності ($\sim 0,1$ мкмоль/($\text{м}^2 \cdot \text{с}$)), яке не активує фотохімічні реакції. Максимальний рівень флуоресценції адаптованих до темряви (F_m) та світла (F'_m) листків визначали за дії насичувального імпульсу (1 с) галогенної лампи з густиною 5000 мкмоль/($\text{м}^2 \cdot \text{с}$). Флуоресценцію Хл a ініціювали діючим світлом інтенсивністю 200, 600, 1000 мкмоль/($\text{м}^2 \cdot \text{с}$). Функціональний стан ФСА оцінювали за наступними параметрами флуоресценції: потенційний квантовий вихід фотохімічних реакцій ФС II у темноадаптованих листках F_v/F_m , реальний квантовий вихід фотохімічних реакцій ФС II у світлоадаптованих листках, F'_v/F'_m , фотохімічне гасіння флуоресценції хлорофілу (qP), коефіцієнт нефотохімічного гасіння флуоресценції (qN), квантовий вихід транспорту електронів (ϕ ФС II) [36].

Досліди проводили в 3 біологічних і 5–10 аналітичних повтореннях. Експериментальні дані подані у вигляді середнього арифметичного значення зі стандартними відхиленнями. Вірогідність різниці вибірок визначено за допомогою t -критерію Стьюдента за $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення

Хлорофіл — ключовий біохімічний компонент, який відповідає за фотосинтез, хоча прямої кореляції між вмістом Хл та швидкістю фотосинтезу не відзначено [37]. Втрата Хл (хлороз) є основним симптомом вегетаційного стресу, тому визначення вмісту пігментів (каротиноїдів, Хл a і b) використовується як фізіологічний індикатор стану рослин за змін зовнішніх умов. Зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках є однією із основних непродихових перешкод для фотосинтезу і характерною ознакою стресу, що виникає через низьку доступність кисню у перезволожених ґрунтах [38–43].

Дані, отримані в нашій роботі, підтверджують, що стрес, індукований дефіцитом кисню на рівні коренів, впливає на пігментний апарат листків шпинату (рис. 1). Так, коренева гіпоксія спричинювала істотне (на 23 %) зниження загального вмісту Хл. Порівнянням було

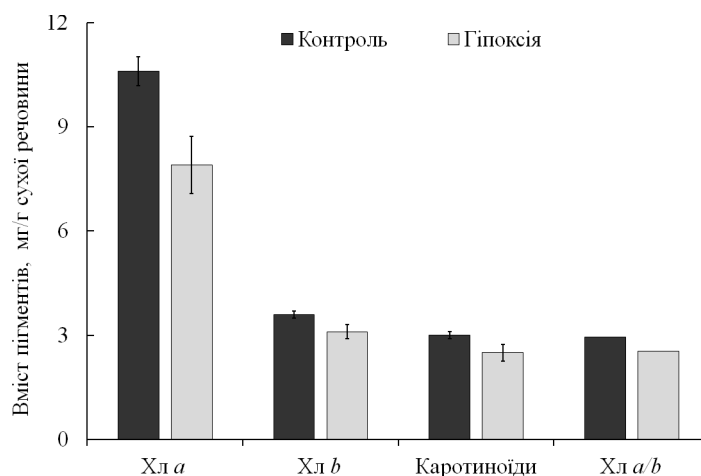


Рис. 1. Вплив кореневої гіпоксії на вміст фотосинтетичних пігментів у листках *Spinacia oleracea*

також і зниження загального вмісту каротиноїдів (на 17 %). Більшою мірою знижувався вміст Хл *a* (на 25 %), тоді як вміст Хл *b* зменшувався лише на 15 %. Таким чином, відносний вміст Хл *b* за умов гіпоксії збільшився, а співвідношення Хл *a/b*, знизилося із 2,95 (у контролі) до 2,55 (в умовах гіпоксії). Приблизно такий самий ступінь зниження вмісту пігментів зі збільшенням відносного вмісту Хл *b* був відзначений у п'яти сортів квасолі (*Phaseolus vulgaris*) за гідропонного культивування і обмеження доступу кисню до поживного розчину упродовж 14 діб [32]. Можна зазначити, що рівень гіпоксії у цитованій праці становив 30 % кисневого насичення (концентрація кисню в поживному середовищі 1,5 мг/л), тобто відповідав умовам нашого експерименту.

Первинними чинниками, що призводять до деградації Хл за умов гіпоксії є: 1) дефіцит АТФ, який утворюється через блокування окисного фосфорилування за анаеробного оточення коренів. За нестачі АТФ пригнічується енергозалежний транспорт іонів [44], порушується всмоктування поживних речовин, зокрема азоту, необхідного для біосинтезу хлорофілу; 2) зростання рівня АФК через перевідновлення компонентів електронтранспортних ланцюгів мітохондрій [45] і хлоропластів, які є основними мішенями пошкодження [46]. За гіпоксичного стресу підвищення рівня АФК може пошкоджувати ФС II [27].

Зниження вмісту Хл *a* і *b* спостерігалось, зокрема, для наранхіли (*Solanum quitoense*) та вігні променистої (*Vigna radiata*) за умов заболочування [40, 41]. Пожовтіння рослин і зниження загального вмісту Хл відзначалося у листках рослин *Vigna radiata* за стресу в результаті повені [47]. Симптоми хлорозу були виявлені у томатів (*Solanum lycopersicum*) з третього дня перезволоження [39], а після 9 днів затоплення вміст Хл *a* і *b* в листках знижувався більш як на 50 % без істотної зміни співвідношення Хл *a/b* [38].

Відзначене нами, а також у праці [32] зниження співвідношення Хл *a/b* за гіпоксії узгоджується також з результатами Su et. al. [48],

отриманими за дослідження впливу затоплення на ФСА шовковиці і експресію генів, що контролюють біосинтез і деградацію Хл. Автори показали, що на 15-ту добу стресу експресія ключових ензимів (феофитинфеофорбідгідролаза (РРН) та феофорбід *a* оксигеназа (РАО)), які беруть участь у деградації хлорофілу, подвоювалася. Водночас за умов гіпоксії пригнічувалась експресія 14 генів, які кодують білки світлозбирального комплексу (СЗК). Оскільки Хл у хлоропластах є стабільним тільки у зв'язаному з білками стані, зниження рівня пігментзв'язувальних білків призводить до втрати Хл [49].

Відомо, що синтез і деградація Хл *b* залежать від динаміки Хл *a*, бо утворення Хл *b* відбувається в результаті окиснення метильної групи Хл *a* молекулярним киснем за участю хлорофілід *a* оксигенази (ХлАО). Послідовність перетворень Хл *a* ↔ Хл *b* у спрощеному вигляді наведена на рис. 2. Хл *a* утворюється з хлорофіліду *a* безпосередньо під дією хлорофіл-синтази (ХлС), тоді як хлорофілід *b* утворюється з хлорофіліду *a* під дією хлорофілід *a* оксигенази (ХлАО), а потім з хлорофіліду *b* утворюється Хл *b* під дією ХлС. Хл *b* може згодом трансформуватися назад у Хл *a* за участю Хл *b* Ред в т. зв. хлорофілового циклі [50].

Su et. al. [48] показали, що вже в перші дні гіпоксії рівень експресії ХлС значно знижувався, тоді як рівень експресії ХлАО спочатку неістотно змінювався і лише на п'ятнадцяту добу затоплення почав знижуватися. На цій стадії стресу експресія двох хлорофіл *b* редуктаз (Хл *b* Ред), які беруть участь у деградації Хл *b*, навпаки, почала посилюватися, прискорюючи перетворення Хл *b* до Хл *a*.

Таким чином, порушення балансу ферментів хлорофілового циклу (ХлС, ХлАО і Хл *b* Ред) за розвитку стресу, спричиненого гіпоксією, призводить до зниження вмісту Хл *a* за зростання відносно го вмісту Хл *b*.

Зміни параметрів флуоресценції хлорофілу широко використовують для характеристики адаптивності та толерантності рослин до змін у середовищі зростання [51, 52]. Важливим показником стресового ураження рослин є початкове значення флуоресценції F_0 . У нашому дослідженні цей показник незначно знижувався за кисневого

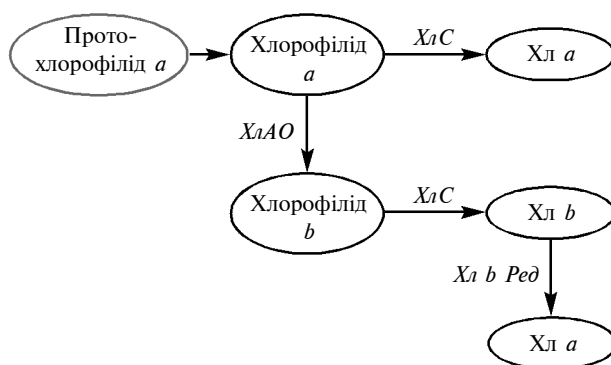


Рис. 2. Спрощена схема хлорофілового циклу (адаптовано з [50]): ХлС — хлорофіл-синтаза, ХлАО — хлорофіл *a* оксигеназа, Хл *b* Ред — Хл *b* редуктаза

ТАБЛИЦЯ 1. Порівняння параметрів флуоресценції листків шпинату, вирощених за умов гіпоксії і в контролі

Варіант	F_0	F_m	F_m/F_0
Контроль	$0,198 \pm 0,015$	$1,01 \pm 0,11$	5,10
Гіпоксія	$0,159 \pm 0,037$	$0,570 \pm 0,17$	3,58

голодування шпинату (табл. 1). Максимальне значення флуоресценції (F_m) після темної адаптації листків досягається за повного відновлення акцепторів електронів у ФС II. Зменшення величини F_m вказує на те, що не всі акцептори електронів ФС II відновлені повністю і даний фотосинтетичний об'єкт перебуває у стані стресу. В наших дослідках за кореневої гіпоксії F_m листків шпинату знижувався на 43 % щодо контролю. Слід зазначити, що навіть за світлового імпульсу, який насичує фотосинтез, величина F_m залежить не тільки від інтенсивності збуджувального світла, а й від вмісту Хл в досліджуваних тканинах [52], який знижувався за умов досліду на 23 % (рис. 1). Таким чином, ефект кореневої гіпоксії на F_m перевищував можливий вплив зменшення концентрації Хл у листках.

Величина параметра F_m/F_0 (відносна варіабельна флуоресценція) залежить від впливу певних стресових чинників і у здорових листках становить приблизно 5—6 [52]. Як видно з даних табл. 1, F_m/F_0 в листках дослідних рослин помітно менше за контрольні, що вказує на порушення у ФС II.

Надійним показником фотохімічної активності ФСА є максимальний квантовий вихід фотохімії комплексів ФС II (F_v/F_m), який, як видно з даних рис. 3, був нижчий у листках шпинату, що культивувався без примусової аерації упродовж 10 діб, порівняно з контролем. Істотних відмінностей за параметром F_v/F_m між контролем і рослинами за умов гіпоксії не зареєстровано у працях [32, 48]. Проте у таких культур, як томати (*Solanum lycopersicum*) [53] або люцерна

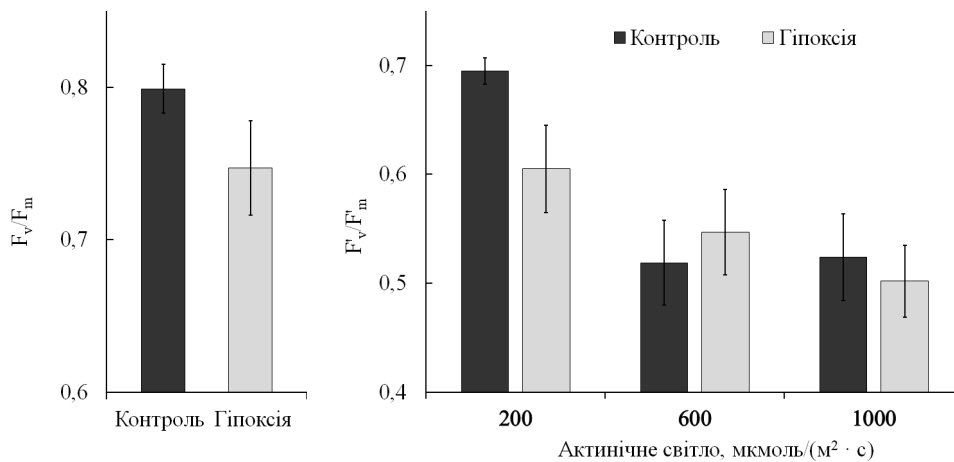


Рис. 3. Максимальний (F_v/F_m) та реальний (F_v'/F_m') квантовий вихід фотохімічних реакцій ФС II листків шпинату

(*Medicago sativa*) [54] параметр F_v/F_m під час затоплення був значно нижчим, ніж у контролі.

Ефективний (реальний) квантовий вихід (F'_v/F'_m) використовується для оцінки ефективності фотохімічних реакцій ФС II за дії світла, коли частина хінонових акцепторів Q_A знаходиться у відновленому стані. Видно, що величина F'_v/F'_m за ГПФ актинічного світла 200 мкмоль/($m^2 \cdot c$) була помітно меншою в листках за гіпоксії, ніж у контролі, що свідчить про зниження ефективності ФС II за даної інтенсивності світла (рис. 3). При збільшенні інтенсивності діючого світла достовірної різниці між значеннями цього параметра у дослідних і контрольних рослин не відмічено.

Квантовий вихід транспорту електронів (ϕ ФС II) також залежить від ГПФ діючого світла, підвищення якої спричинює зниження ϕ ФС II (рис. 4). Отримані дані свідчать, що за 200 мкмоль/($m^2 \cdot c$) цей показник був вищий і відзначалась вірогідна різниця між контрольними рослинами та тими, що зростали без аерації. Загалом, дані рис. 4 свідчать про зниження ефективності роботи ФС II в листках шпинату за умов кореневої гіпоксії.

Показники фотохімічного (qP) і нефотохімічного (qN, NPQ) гасіння флуоресценції листків рослин шпинату, вирощених за відсутності аерації, закономірно змінювалися за варіації інтенсивності збуджувального світла (табл. 2). За зростання рівня освітлення параметри qP знижувалися, а параметри qN, NPQ зростали. Разом з цим їх значення незначно відрізнялися від контролю за всіх випробуваних інтенсивностей актинічного світла.

Неодноразово показано [32], що перезволоження кореневої зони рослин негативно впливає на газообмін листків. Рао та Лі [39] відзначили, що фотосинтез, продихова провідність і транспірація починають знижуватися після 24-годинного періоду зволоження у помідорів (*Solanum lycopersicum*) і гороху (*Pisum sativum*). Для оцінки можливих змін газообміну листків за кореневої гіпоксії ми визначали параметр F_s/F_0 , який згідно з дослідженням Flexas et. al. [52] є показником зниження продигової провідності під час водного стресу. За даними, наведеними в табл. 2, достовірних відмінностей за параметром F_s/F_0

ТАБЛИЦЯ 2. Вплив гіпоксії на показники флуоресценції хлорофілу а листків шпинату

Варіант	qP	qN	NPQ	F_s/F_0
Актинічне світло, 200 мкмоль/($m^2 \cdot c$)				
Контроль	0,909 ± 0,012	0,381 ± 0,049	0,403 ± 0,081	1,33
Гіпоксія	0,856 ± 0,035	0,445 ± 0,041	0,49 ± 0,08	1,24
Актинічне світло, 600 мкмоль/($m^2 \cdot c$)				
Контроль	0,766 ± 0,053	0,666 ± 0,055	1,0 ± 0,128	1,37
Гіпоксія	0,612 ± 0,097	0,621 ± 0,08	0,944 ± 0,253	1,44
Актинічне світло, 1000 мкмоль/($m^2 \cdot c$)				
Контроль	0,604 ± 0,04	0,675 ± 0,063	1,078 ± 0,147	1,51
Гіпоксія	0,547 ± 0,122	0,667 ± 0,043	1,04 ± 0,27	1,49

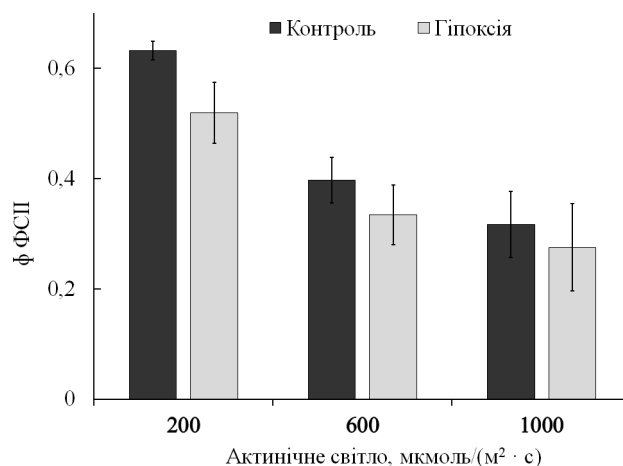


Рис. 4. Реальний квантовий вихід транспорту електронів ФС II

між рослинами, що культивувалися без аерації поживного середовища, і контролем не виявлено.

Вже після 3—4 діб культивування шпинату без примусової аерації спостерігалось в'янення і скручування листків, що свідчить про порушення надходження води з кореневої зони до листків та втрату тургорного тиску. Поряд зі зменшенням вмісту Хл в листках ці морфологічні зміни є видимими ознаками стресу. Разом з тим результати визначення функціональних параметрів флуоресценції Хл вказують на мінімальні пошкодження ФС II за гіпоксії, що може бути пов'язано з накопиченням у листках шпинату компонентів антиоксидантного захисту.

Гідропонне виробництво листової зелені забезпечує високу продуктивність та якість урожаю, але потребує постійного контролю за вмістом розчинного кисню, значенням рН, складом і електропровідністю поживного середовища. За гідропонного вирощування шпинату в умовах помірного стресу, який виникає за кореневої гіпоксії, стимулюється накопичення фармацевтично цінних антиоксидантів, як було показано в працях [16, 17]. Лишалось нез'ясованим питанням, як умови помірної гіпоксії впливають на функціональний стан рослин шпинату, що є критичним для оцінювання продуктивності культури.

Ми провели порівняльне дослідження функціональних параметрів фотосинтетичного апарату листків шпинату за гідропонного культивування та створення умов гіпоксії, яка виникала після припинення аерації середовища. Дані проведеної роботи свідчать, що незважаючи на очевидні ознаки стресу, такі як в'янення листків і втрату Хл, фотосинтетичний апарат рослин не отримав незворотних ушкоджень, що може бути пов'язано з накопиченням захисних сполук. Отже, гідропонне вирощування шпинату за умов помірної гіпоксії може стати основою біотехнології отримання комплексу антиоксидантів, перспективних для використання у фармакології.

REFERENCES

1. Lee, B.S., So, H.M., Kim, S., Kim, J.K., Kim, J.C., Kang, D.M., Ahn, M.J., Ko, Y.J. & Kim, K.H. (2022). Comparative evaluation of bioactive phytochemicals in *Spinacia oleracea* cultivated under greenhouse and open field conditions. *Arch. Pharm. Res.*, 45, pp. 795-805. <https://doi.org/10.1007/s12272-022-01416-z>
2. <https://scienceagri.com/10-worlds-biggest-producers-of-spinach/>
3. Bergman, M., Varshavsky, L., Gottlieb, H.E. & Grossman, S. (2001). The antioxidant activity of aqueous spinach extract: chemical identification of active fractions. *Phytochemistry*, 58, pp. 143-152. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00137-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00137-6)
4. Roberts, J.L. & Moreau, R. (2016). Functional properties of spinach (*Spinacia oleracea* L.) phytochemicals and bioactives. *Food funct.*, 7 (8), pp. 3337-3353. <https://doi.org/10.1039/c6fo00051g>
5. <https://www.healthline.com/nutrition/foods/spinach>
6. Chu, Y.F., Sun, J., Wu, X. & Liu, R.H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 50 (23), pp. 6910-6916. <https://doi.org/10.1021/jf020665f>
7. Ferreres, F., Castañer, M. & Tomás-Barberán, F.A. (1997) Acylated flavonol glycosides from spinach leaves (*Spinacia oleracea*). *Phytochemistry* 45 (8), pp. 1701-1705. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00244-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00244-6)
8. Edenharder, R., Keller, G., Platt, K.L. & Unger, K.K. (2001) Isolation and characterization of structurally novel antimutagenic flavonoids from spinach (*Spinacia oleracea*). *J. Agric. Food Chem.*, 49 (6), pp. 2767-2773. <https://doi.org/10.1021/jf0013712>
9. Lomnitski, L., Bergman, M., Nyska, A., Ben-Shaul, V. & Grossman, S. (2009). Composition, efficacy, and safety of spinach extracts. *Nutrition and cancer*, 46 (2), pp. 222-231. https://doi.org/10.1207/S15327914NC4602_16
10. Bergquist, S.A.M., Gertsson, U.E., Knuthsen, P. & Olsson, M.E (2005). Flavonoids in baby spinach (*Spinacia oleracea* L.): changes during plant growth and storage. *J. Agric. Food Chem.*, 53 (24), pp. 9459-9464. <https://doi.org/10.1021/jf051430h>
11. Pandjaitan, N., Howard, L.R, Morelock, T. & Gil, M.I. (2005). Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation. *J. Agric. Food Chem.*, 53 (22), pp. 8618-8623. <https://doi.org/10.1021/jf052077i>
12. Heo, J.C., Park, C.H., Lee, H.J., Kim, S.O., Kim, T.H. & Lee, S.H. (2010). Amelioration of asthmatic inflammation by an aqueous extract of *Spinacia oleracea* Linn. *Int. J. Mol. Med.*, 25 (3), pp. 409-414. <https://doi.org/10.3892/ijmm.00000359>
13. Singh, J., Jayaprakasha, G.K. & Patil, B.S. (2018). Extraction, identification, and potential health benefits of spinach flavonoids: A review. *Advances in Plant Phenolics: From Chemistry to Human Health*, pp. 107-136. <http://10.1021/bk-2018-1286.ch006>
14. Hait-Darshan, R., Grossman, S., Bergman, M., Deutsch, M. & Zurgil, N. (2009). Synergistic activity between a spinach-derived natural antioxidant (NAO) and commercial antioxidants in a variety of oxidation systems. *Food Res. International*, 42 (2), pp. 246-253. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.11.006>
15. Lomnitski, L., Carbonatto, M., Ben-Shaul, V., Peano, S., Conz, A., Corradin, L., Maronpot, R.R., Grossman, S. & Nyska, A. (2000). The prophylactic effects of natural water-soluble antioxidant from spinach and apocynin in a rabbit model of lipopolysaccharide-induced endotoxemia. *Toxicologic pathology*, 28 (4), pp. 588-600. <https://doi.org/10.1177/019262330002800413>
16. Shafique, F., Naureen, U., Zikrea, A., Akhter, S., Rafique, T., Sadiq, R., Naseer, M., Akram, Q. & Ali, Q. (2021). Antibacterial and antifungal activity of plant extracts from *Spinacia oleracea* L. (Amaranthaceae). *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33 (22B), pp. 94-100. <https://doi.org/10.9734/JPRI/2021/v33i22B31410>
17. Akula, R. & Ravishankar, G.A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6 (11), pp. 1720-1731. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>
18. Das, K. & Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front. Environ. Sci.*, 2, pp. 1-13. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
19. Fornaciari, S., Milano, F., Mussi, F., Pinto-Sanchez, L., Forti, L., Buschini, A. & Arru, L. (2015). Assessment of antioxidant and antiproliferative properties of spinach plants grown

- under low oxygen availability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95 (3), pp. 490-496. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6756>
20. Milano, F., Mussi, F., Fornaciari, S., Altunoz, M., Forti, L., Arru, L. & Buschini, A. (2019). Oxygen availability during growth modulates the phytochemical profile and the chemo-protective properties of spinach juice. *Biomolecules*, 9 (2); pp. 1-10. <https://doi.org/10.3390/biom9020053>
 21. Colmer, T. D. & Greenway, H. (2011). Ion transport in seminal and adventitious roots of cereals during O₂ deficiency. *Journal of Experimental Botany*, 62 (1), pp. 39-57. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq271>
 22. Armstrong, W. (1980). Aeration in higher plants. *Advances in Botanical Research*, 7, pp. 225-332. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(08\)60089-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)60089-0)
 23. Crawford, R.M.M. & Braendle, R. (1996). Oxygen deprivation stress in a changing environment. *Journal of Experimental Botany*, 47 (2), pp.145-159. <https://doi.org/10.1093/jxb/47.2.145>
 24. Blokhina, O., Virolainen, E. & Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91 (2), pp. 179-194. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf118>
 25. Blokhina, O. & Fagerstedt, K.V. (2010). Oxygen deprivation, metabolic adaptations and oxidative stress. *Waterlogging Signalling and Tolerance in Plants*, pp. 119-147. https://doi.org/10.1007/978-3-642-10305-6_7
 26. Atwell, B.J., Greenway, H. & Colmer, T.D. (2015). Efficient use of energy in anoxia-tolerant plants with focus on germinating rice seedlings. *New Phytologist*, 206 (1), pp. 36-56. <https://doi.org/10.1111/nph.13173>
 27. León, J., Castillo, M.C. & Gayubas, B. (2021). The hypoxia-reoxygenation stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 72 (16), pp. 5841-5856. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa591>
 28. Aroca, R., Porcel, R. & Ruiz-Lozano, J.M. (2012). Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany*, 63 (1), pp. 43-57. <https://doi.org/10.1093/jxb/err266>
 29. Limami, A. M., Diab, H. & Lothier, J. (2014). Nitrogen metabolism in plants under low oxygen stress. *Planta*, 239, pp. 531-541. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-2015-9>
 30. Butcher, J.D., Laubscher, C.P. & Coetzee, J.C. (2017). A study of oxygenation techniques and the chlorophyll responses of *Pelargonium tomentosum* grown in deep water culture hydroponics. *HortScience*, 52 (7), pp. 952-957. <https://www.cabdirect.org/cab-direct/abstract/20173304519>
 31. Goto, K., Yabuta, S., Tamaru, S., Ssenyonga, P., Emanuel, B., Katsuhama, N. & Sakagami, J.I. (2022). Root hypoxia causes oxidative damage on photosynthetic apparatus and interacts with light stress to trigger abscission of lower position leaves in *Capsicum*. *Scientia Horticulturae*, 305, 111337. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111337>
 32. Velasco, N.F., Ligarreto, G.A., Díaz, H.R. & Fonseca, L.P.M. (2019). Photosynthetic responses and tolerance to root-zone hypoxia stress of five bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *South African Journal of Botany*, 123, pp. 200-207. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.02.010>
 33. Morimoto, T., Masuda, T. & NoNami, H. (1989). Oxygen enrichment in deep hydroponic culture improves growth of spinach. *Environment Control in Biology*, 27 (3), pp. 97-102. <https://doi.org/10.2525/ecb1963.27.97>
 34. Gavrylenko, V.F. & Zhygalova, T.V. (2003). Great practicum on photosynthesis. Moscow: Academia [in Russian].
 35. Lichtenthaler, H.K. & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Eds R.E. Wrolstad, T.E. Acree, H. An, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, P. Sporns. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2001, pp. F4.3.1-F4.3.8. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>.
 36. van Kooten, O. & Snel, J.F.H. (1990). The use of chlorophyll uorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research*, 25 (3), pp. 147-150. <https://doi.org/10.1007/BF00033156>
 37. Marini, R.P. (1986). Do net gas exchange rates of green and red peach leaves differ? *HortScience*, 21 (1), pp. 118-120. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.21.1.118>

38. Grichko, V.P. & Glick, B.R. (2001). Amelioration of flooding stress by ACC deaminase containing plant growth-promoting bacteria. *Plant Physiol. Biochem.*, 39 (1), pp. 11-17. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)01212-2](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)01212-2)
39. Rao, R. & Li, Y. (2003). Management of flooding effects on growth of vegetable and selected field crops. *HortTechnology*, 13, pp. 610-616. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.13.4.0610>
40. Kumar, P., Pal, M., Joshi, R. & Sairam, R.K. (2013). Yield, growth and physiological responses of mung bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] genotypes to waterlogging at vegetative stage. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19, pp. 209-220. <https://doi.org/10.1007/s12298-012-0153-3>
41. Flórez-Velasco, N., Balaguera-López, H.E. & Restrepo-Díaz, H. (2015). Effects of foliar urea application on lulo (*Solanum quitoense* cv. septentrionale) plants grown under different waterlogging and nitrogen conditions. *Scientia Horticulturae*, 186, pp. 154-162. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.021>
42. Otero, A. & Goñi, C. (2017). Short hypoxia period affects photosynthesis of citrus scion leaves under different rootstocks. *Citrus Research & Technology*, 37 (1), pp. 19-25. <https://doi.org/10.4322/crt.ICC110>
43. Habibi, F., Liu, T., Shahid, M.A., Schaffer, B. & Sarkhosh, A. (2023). Physiological, biochemical, and molecular responses of fruit trees to root zone hypoxia. *Environmental and Experimental Botany*, 206. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105179>
44. Greenway, H. & Gibbs, J. (2003). Mechanisms of anoxia tolerance in plants. II. Energy requirements for maintenance and energy distribution to essential processes. *Functional Plant Biology*, 30 (10), pp. 999-1036. <https://doi.org/10.1071/pp98096>
45. Komatsu, S., Yamamoto, A., Nakamura, T., Nouri, M.Z., Nanjo, Y., Nishizawa, K. & Furukawa, K. (2011). Comprehensive analysis of mitochondria in roots and hypocotyls of soybean under flooding stress using proteomics and metabolomics techniques. *Journal of Proteome Research*, 10 (9), pp. 3993-4004. <https://doi.org/10.1021/pr2001918>
46. Khanna-Chopra, R. (2012). Leaf senescence and abiotic stresses share reactive oxygen species-mediated chloroplast degradation. *Protoplasma*, 249, pp. 469-481. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0308-z>
47. Yadav, D.K. & Hemantaranjan, A. (2017). Mitigating effects of paclobutrazol on flooding stress damage by shifting biochemical and antioxidant defense mechanisms in mungbean (*Vigna radiata* L.) at pre-flowering stage. *Legume Res. Int. J.*, 40 (3), pp. 453-461. <https://doi.org/10.18805/lr.v0i0.7593>
48. Su, Q., Sun, Z., Liu, Y., Lei, J., Zhu, W. & Nanyan, L. (2022). Physiological and comparative transcriptome analysis of the response and adaptation mechanism of the photosynthetic function of mulberry (*Morus alba* L) leaves to flooding stress. *Plant Signaling and Behavior*, 17 (1). <https://doi.org/10.1080/15592324.2022.2094619>
49. Syvash O.O., Mykhaylenko N.F. & Zolotareva E.K. (2018). Variation of chlorophyll a to b ratio at adaptation of plants to external factors. *Bull. Kharkiv Nat. Agrar. Univ. Ser. Biol.*, 3 (45), pp. 49-73. <https://doi.org/10.35550/vbio2018.03.049>
50. Syvash, O.O. & Zolotareva, O.K. (2017). Regulation of chlorophyll degradation in plant tissues. *Biotechnologia Acta*, 10 (3), pp. 20-30. <https://doi.org/10.15407/biotech10.03.020>
51. Maxwell, K. & Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.*, 51, pp. 659-668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>
52. Goltsev, V.N., Kalaji, M.H., Kouzmanova, M.A. & Allakhverdiev, S.I. (2014). Variable and Delayed Chlorophyll a Fluorescence — Basics and Application in Plant Sciences. Moscow, Izshevsk: Institute of Computer Sciences, 220.
53. Ezin, V., Pena, R.D.L. & Ahanchede, A. (2011). Flooding tolerance of tomato genotypes during vegetative and reproductive stages. *Brazilian J. Plant Physiol.*, 22 (2), pp. 131-142. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202010000200007>
54. Zeng, N., Yang, Z., Zhang, Z., Hu, L. & Chen, L. (2019). Comparative transcriptome combined with proteome analyses revealed key factors involved in Alfalfa (*Medicago sativa*) response to waterlogging stress. *Int. J. Mol. Sci.*, 20 (6), p. 1359. <https://doi.org/10.3390/Ijms20061359>
55. Flexas, J., Escalona, J.M., Evain, S., Gulías, J., Moya, I., Osmond, C.B. & Medrano, H. (2002). Steady-state chlorophyll fluorescence (Fs) measurements as a tool to follow variations of net CO₂ assimilation and stomatal conductance during water-stress in C₃

THE INFLUENCE OF ROOT HYPOXIA ON THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF SPINACH DURING HYDROPONIC CULTIVATION

N.M. Topchiy, V.V. Dadyka, O.K. Zolotareva

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine
2 Tereshchenkivska St., Kyiv, 01004, Ukraine
e-mail: ntopchiy@ukr.net

The aim of the work was to study the effect of oxygen deficiency at root level on the photosynthetic characteristics of spinach leaves. Spinach plants (*Spinacia oleracea* L.) were grown for 40 days in hydroponic culture at a photon flux density (PFD) of 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$. During the first 30 days of cultivation, the nutrient solution was bubbled with air that saturates the medium with oxygen to a concentration of about 8 mg/L. On the 31st day of cultivation, aeration of the nutrient medium in the experimental variant was stopped, after that hypoxia spontaneously occurred in the solution approximately 8–12 hours later, and the oxygen content decreased to < 1.5 mg/L. It was shown that root hypoxia caused a significant decrease in the leaves pigments content: chlorophyll (Chl) *a* — by 25 %, Chl *b* — by 15 %, carotenoids — by 17 %, while the ratio Chl *a/b* in the experimental variant decreased to 2.55 compared to the control (2.94), which indicates an increase in the relative content of Chl *b* under stress conditions. To assess the functional state of photosynthetic apparatus, the maximum quantum yield (F_v/F_m), the quantum yield of photosystem II (PSII) photochemistry at the light-adapted state (F'_v/F'_m) and the real quantum yield of electron transport (ϕPSII) were determined, as well as levels of photochemical (qP) and non-photochemical (qN, NPQ) fluorescence quenching. Values of stationary fluorescence (F_s), normalized to dark-adapted basal values (F_o), were used as an indicator of the root hypoxia effect on the stomatal conductance of spinach leaves. It is shown that the consequence of the stress caused by the lack of oxygen in the root zone is a decrease in the maximum quantum yield, as well as the F'_v/F'_m and ϕPSII parameters at a low PFD of actinic light. No significant differences in the qP, qN, NPQ and F_s/F_o parameters between the control and experimental variants were found at the PFD of actinic light of 200, 600 and 1000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$. The obtained data indicate that moderate hypoxia stress in hydroponic culture of spinach leads to a decrease in the content of pigments and partial damage to the photosynthetic apparatus.

Key words: *Spinacia oleracea*, hydroponics, photosynthesis, root hypoxia, chlorophyll, carotenoids, chlorophyll fluorescence.

ORCID

Н.М. ТОПЧІЙ — Nataliya Topchiy <https://orcid.org/0000-0003-4694-5707>

О.К. ЗОЛОТАРЬОВА — Elena Zolotareva <https://orcid.org/0000-0001-7399-2213>