

УДК 579.84:581.132:58.035: 633.11

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ ЗА ШТУЧНОГО ЗАРАЖЕННЯ ШТАМАМИ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ATROFACIENS* РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ

© 2016 р. Г. Б. Гуляєва, Л. А. Пасічник, В. П. Патица

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного
Національної академії наук України
(Київ, Україна)

Методом індукції флуоресценції хлорофілу досліджували зміни у функціональних ланках фотосинтетичного апарату рослин пшениці *Triticum aestivum* за штучного зараження штамами *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* різного походження. Встановлено скорочення антени світлозбиральних комплексів (СЗК), зниження рівня потенційної квантової ефективності фотосистеми (ФС) II та асиміляції вуглецю у листках заражених рослин. Відзначено зниження стабільності СЗК II 3-го низу та прапорцевого листків, інфікованих штамами *P. syringae* pv. *atrofaciens* рослин пшениці за 3 доби від початку інфікування разом із короткостроковим зростанням стійкості фотохімічної активності ФС II та наступним її зниженням за сім діб.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, індукція флуоресценції хлорофілу

Польові агрофітоценози характеризуються значною різноманітністю мікроорганізмів, широкий спектр яких – фітопатогенні. Вважається, що серед фітопатогенів, що уражують пшеницю, більшість – гриби і тому при розробках систем захисту в польових агрофітоценозах в першу чергу акцентують увагу на боротьбі із цими патогенами (Багірова та ін., 2012). У той же час, дані моніторингу свідчать, що серед фітопатогенних мікроорганізмів значне місце посідають фітопатогенні бактерії, зокрема, у зв'язку з широким спектром екологічних ніш виживання (Гвоздяк та ін., 2011; Патица та ін., 2013; Патица, Пасічник, 2014).

Разом із тим, внаслідок селекції, спрямованої на підвищення продуктивності, знизилася стійкість культурних рослин до несприятливих абіотичних і біотичних чинників довкілля (Гуляєв, 2003). Стійкі сорти також мають певні обмеження через значну пластичність і мутаційну мінливість фітопатогенних мікроорганізмів. Варто відзначити, що збудники бактеріозів

можуть уражувати рослини пшениці протягом всієї вегетації. При цьому стійкість рослин протягом вегетації не однакова: більш чутливі до дії стресорів молоді рослини, надалі фітостійкість зростає аж до початку цвітіння, коли рослина знову стає більш уразливою (Чиркова, 2002).

Важливою ланкою продукційного процесу рослини як авторегуляторної донорно-акцепторної системи є фотосинтетична асиміляція вуглецю, завдяки якій накопичується біомаса й формується урожай культурних рослин (Гуляєв, 2003).

Зазвичай дослідження активності фотосинтетичного апарату проводять газометричним методом. Але тепер з цією метою все частіше застосовують метод індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ), який досить зручний завдяки своїй експресності й може використовуватися безпосередньо у польових умовах, що дозволяє діагностувати функціональний стан рослини у реальному часі (Брайон та ін., 2000; Корнеев, 2002; Нестеренко та ін., 2007; Рибейро та ін., 2008; Кочубей та ін., 2013). Теоретичним підґрунтям для такого використання є тісний зворотний зв'язок між інтенсивністю флуорес-

Адреса для кореспонденції: Гуляєва Ганна Борисівна, Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03680, Україна;
e-mail: anna_gulaeva_2012@mail.ru

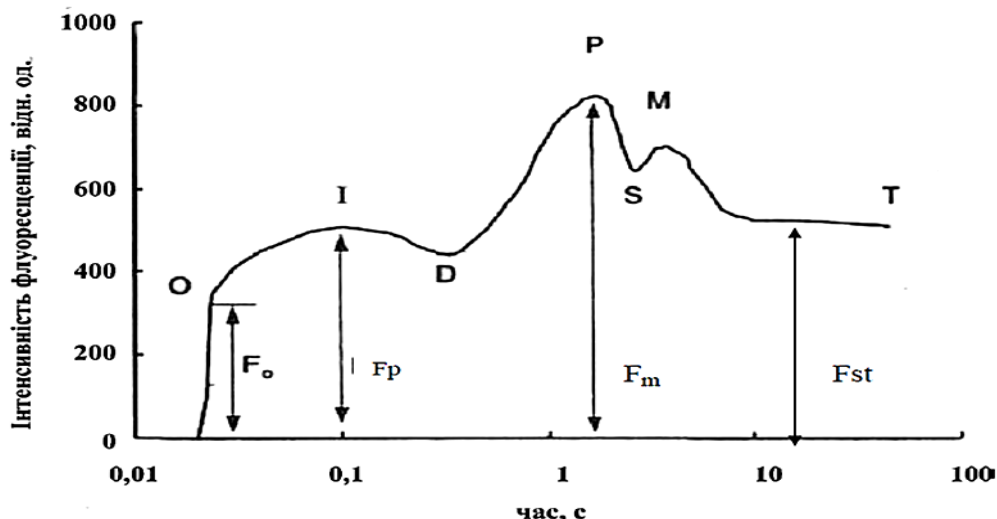


Рис. 1. Типова крива індукції флуоресценції хлорофілу (Брайон та ін., 2000).

ценції хлорофілу й фотосинтетичними реакціями (Брайон та ін., 2000). У багатьох дослідженнях метод ІФХ застосовується для визначення впливу на рослинний організм різних чинників: гербіцидів (Брайон та ін., 2000; Груша, 2014), карбонатного хлорозу (Стародуб та ін., 2014), температурного стресу (Berry et al., 1980; Кочубей та ін., 2013;), антропогенного забруднення (Олексійченко та ін., 2013; Груша, 2014), фітопатогенних мікроорганізмів (Чернюк та ін., 1999; Кирик та ін., 2011; Гуляєва та ін., 2015).

У зв'язку із цим, метою нашого дослідження було визначення динаміки впливу інфікування різними за походженням штамми збудника базального бактеріозу *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* на функціональну активність і стабільність фотосинтетичного апарату та стійкість і стабільність світлозбирального комплексу (СЗК) фотосистеми (ФС) II пшениці ярої.

МЕТОДИКА

Рослини пшениці ярої *Triticum aestivum* сорту Печерянка вирощували польовим методом на дослідних ділянках Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного. Площа дослідної ділянки 70 м², ґрунт дерново-підзолистий. Інокуляцію рослин пшениці патогенними штамми проводили у фазі трубкування бактеріальною суспензією із щільністю 1×10^9 КУО/мл. Для штучної інокуляції використовували штамми *P. syringae* pv. *atrofaciens* – Д13, 9894, 9896, 9900 різного походження, що були ізольовані в 2015 р. із рослин пшениці із симптомами бактеріального ураження. Штам Д13 виділений із буро-коричневих плям на обгортковому листку пшениці (Дніпропетровська

обл.), штамми 9896 і 9894 – із буро-коричневих плям середньої частини листка пшениці (Київська обл.), штам 9900 – із коричневих плям-штрихів у верхній частині стебла (Полтавська обл.).

Візуальний облік прояву штучного зараження робили за 4-бальною шкалою на 10 і 14 добу від початку інфікування.

Вимірювання індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) листових пластинок нативних рослин пшениці ярої виконували за допомогою портативного приладу «Флоратест», сконструйованого у Інституті кібернетики ім. В.М. Глушкова НАН України. Прилад оснащений рідиннокристалічним дисплеєм (128*64 пікселів) й виносним оптоелектронним сенсором із довжиною хвилі опромінення 470 ± 15 нм, площею опромінення плями не менше 15 мм² і освітленості в її межах не менше 2,4 Вт/м². Спектральний діапазон вимірювань інтенсивності флуоресценції в межах від 670 до 800 нм. Програмне забезпечення «Floratest», що йде у комплекті із приладом, виконує прийняття вимірювань приладом даних через USB-порт комп'ютера та здійснює відображення цих даних у табличному або графічному вигляді (Портативний флуорометр «Флоротест»: настанова з експлуатації, 2013; Китаєв, 2014).

Вимірювання ІФХ у листках рослин проводили після інфікування рослин патогенними штамми Д13, 9900, 9896 на 13 та 16 добу (фаза колосіння), а для рослин, інокульованих штамми Д13, 9900, 9896, 9894 – на 19 добу (фаза колосіння-цвітіння) на 3-му листку знизу. Вимірювання також проводили після інфікування штамми Д13, 9900, 9896, 9894 на 15 добу (фаза колосіння) і 20 добу (фаза колосіння-цвітіння),

Характерні відрізки кривої ІФХ та їх діагностичне значення

Відрізок кривої ІФХ	Вигляд (ознаки відрізка)	Інтервали часу, можливий (вірогідний)	Стадії фотосинтетичного процесу, інформацію про які дає цей відрізок
Точка <i>O</i>	Початковий відрізок	від 0 до 5 мс	Ефективність світлозбирання та реакційних центрів хлорофілу ФСІІ.
<i>O-I-D-P</i>	Вихід на головний максимум	від 0,1 до 10,0 с від (0,1 до 1,0 с)	Електрон-транспортна ланка (від Н ₂ О до Фд (феродоксин) і НАДФ) – так звана «світлова стадія» фотосинтезу.
<i>P-S-M</i>	Спадання та вихід на другий максимум	від 3,0 до 50,0 с від (0,5 до 10,0 с)	Активация (через Фд) білків-ферментів циклу Кальвіна, встановлення градієнта рН у мембранах, відновлення конкуруючих акцепторів (О ₂ , NO ₂ ⁻ тощо).
<i>M-T</i>	Спадання й вихід на стаціонарний режим	від 10,0 до 2000,0 с від (10,0 до 300,0 с)	Налагодження реакцій циклу Кальвіна й потоків речовин через мембрани та судинами листка.

на прапорцевому листку. Отже з 16 доби до досліджень долучили рослини, уражені штамом 9894. Кількість біологічних повторень – 10, а аналітичних – 5.

Для вимірювання відбиралися листки відповідного ярусу (третього знизу і прапорцеві) приблизно однакового розміру. Для здійснення темної адаптації перед вимірюванням на 20 хв, на листок надягався чохол із щільного паперу. Отриманий після серії вимірювань масив цифрових даних передавали на ПК і за допомогою програми Excel обчислювали середнє арифметичне з п'яти вимірювань у кожному варіанті. За отриманими даними будували криву часової залежності інтенсивності флуоресценції хлорофілу (ІФХ), яка має характерний вигляд кривої з одним чи кількома максимумами і має назву кривої ІФХ (або кривої Каутського) (Брайон та ін., 2000). Форма цієї кривої досить чутлива до змін, які відбуваються у фотосинтетичному апараті рослин при адаптації до різних умов навколишнього середовища, що послужило основою широкого використання ефекту Каутського у дослідженні фотосинтезу (рис. 1).

Відомо, що певні відрізки кривої індукції флуоресценції хлорофілу є індикаторами відповідних фізіологічних процесів у ланцюгу фотосинтезу (Портативний флуорометр «Флоротест»: настанова з експлуатації, 2013) (таблиця).

За відповідним аналізом даних з п'яти вимірювань (у кожному варіанті) будували усереднену криву ІФХ, і, знаходячи відповідні точки, зокрема, фонову флуоресценцію (F₀), розраховували такі критичні параметри: F_v/F_m – квантовий вихід фотохімічного перетворення

енергії; F_v – варіабельну флуоресценцію хлорофілу ($K_{pl} = (F_{pl} - F_0) / (F_m - F_0)$); K_{pl} – кількість Q_B-невідновлювальних комплексів, що не беруть участь у лінійному транспорті електронів ($K_i = (F_m - F_i) / F_m$), що корелює із активністю рибулозобісфосфаткарбоксілази (основного ферменту циклу Кальвіна) (Брайон та ін., 2000; Кирик та ін., 2011).

Стабільність світлозбиральних комплексів ФС ІІ (СЗК ІІ) до впливу різних штамів збудника базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atofaciens* (Д13, 9900, 9896, 9894) визначали за відносними змінами F₀, використовуючи співвідношення F₀I (13 діб)/ F₀II (16 діб) та F₀I (13 діб)/ F₀III (19 діб).

Зазвичай, цей параметр використовують для оцінки стану фотохімічного апарату за високотемпературного стресу, де змінною слугує показник F₀ за різної величини стресових температур (Рибейро та ін., 2008).

Визначення стійкості фотосинтетичного апарату до впливу різних штамів збудника *P. syringae* pv. *atofaciens* – Д13, 9900, 9896, 9894 розраховували за змінами квантового виходу фотохімічного перетворення енергії (F_vI (13 діб)/F_vII(16 діб) та F_vI (13 діб)/F_vIII (19 діб) для третього знизу листка. Для розрахунків на прапорцевому листку використовували ті ж співвідношення, але для періоду у 5 діб.

Отримані результати обчислювали із використанням електронних таблиць Excel. Для статистичної обробки графічних даних застосовували стандартну похибку середнього представлену у вигляді бар на діаграмах.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Візуальний аналіз специфічних симптомів, проведений на 14-ту добу від штучної інокуляції штамми збудника *P. syringae* pv. *atrofaciens*, дозволив розподілити штамми за агресивністю: Д13 (4 бали) і 9896 (3-4 бали) – високоагресивні, 9900 (3 бали) – середньоагресивний та 9894 (1-2 бали) – слабоагресивний.

Діагностика індукційних змін флуоресценції хлорофілу протягом досліджуваного періоду на третьому знизу листку штучно інокульованих рослин на 13, 16 і 19 добу показала поступове збільшення фонові флуоресценції, що, як відомо, відбувається на початку атрагування сонячної енергії фотосинтетичним апаратом, коли всі реакційні центри відкриті. Варто відзначити, що величина F_0 зростає за дії будь-яких стресових чинників – підвищення темпе-

ратури, дефіциту живлення, дії фітопатогенів та ін., що свідчить про зменшення частки поглинутої енергії збудження листками (Брайон та ін., 2000; Корнеев, 2002; Бухов, Егорова, 2006; Кирик та ін., 2011). Так, на 13 добу від початку інфікування фонові флуоресценція за дії на рослини пшениці всіх досліджуваних штамів змінювалась слабо (рис. 2), тоді як на 16 добу відбувалося зниження величини цього показника в листках за впливу високо- і середньоагресивних штамів 9896, Д13 і 9900 на 13,4%, 11,6% і 12,8% відповідно, але найбільше – за дії слабоагресивного штаму 9894 (на 26%) (рис. 2, а). Разом із тим, за 3 дні поспіль – на 19 добу рівень F_0 у листках рослин, інфікованих штамом Д13, що діагностувався на 14 добу як сильноагресивний зростає незначно – на 9%, а при інокуляції середньо агресивним штамом 9900 суттєво – на 28%, тоді як за ураження слабо агре-

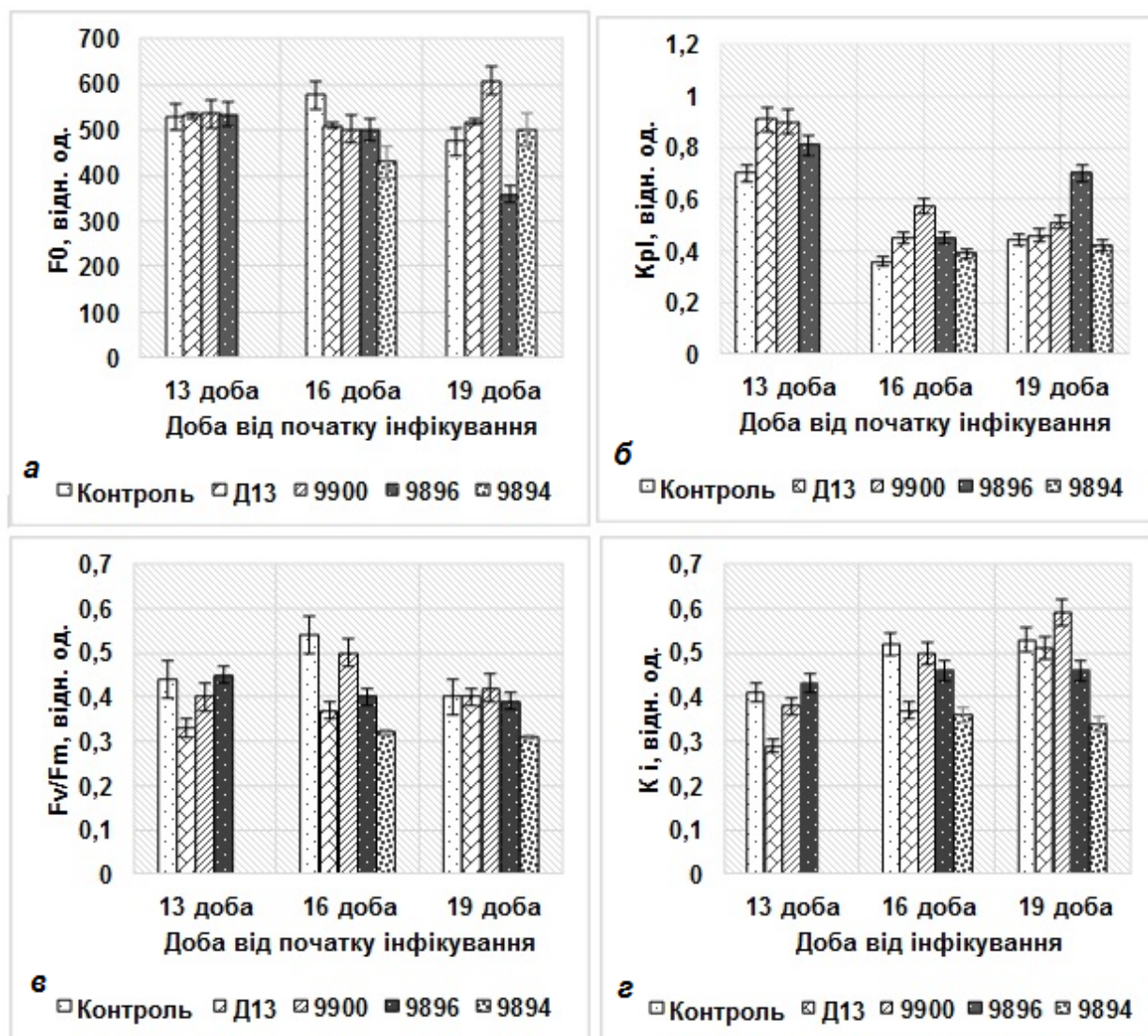


Рис. 2. Індукційні зміни у 3-му листку пшениці ярої сорту Печерянка, фаза колосіння-цвітіння (інокуляція різними за походженням штамми збудника базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atrofaciens*) параметрів флуоресценції: а – F_0 ; б – K_p ; в – F_v/F_m ; г – K_i .

сивним штамом 9894 рівень цього показника мав лише тенденцію до зростання – на 5%. За інокуляції іншим високо агресивним штамом 9896 величина F_0 навпаки, ще більше знизилася (на 24%), що свідчить про початок деструкції і зниження вмісту активного хлорофілу в антенних комплексах (рис. 2, а).

Оцінка змін кількості Q_B -невідновлювальних комплексів, що не беруть участь у лінійному транспорті електронів (показник K_{PI}) і є показником стресу зростала за зараження рослин збудниками різних штамів як на 13, так і на 16 добу від ураження, але неоднаковою мірою (див. рис. 2, б). На 13 добу величина K_{PI} була більша за дії на рослини високо- і середньоагресивного штамів Д13 – на 30% і 9900 – на 28,5% відповідно та на 16% – за дії високоагресивного штаму 9896. На 16 добу цей показник зростав за дії на рослини середньоагресивного штаму 9900 на 58% та на 25% за дії обох високоагресивних штамів – Д13 і 9896. Вже на 19 добу цей коефіцієнт суттєво збільшувався при зараженні високоагресивним штамом 9896 – на 59% та дещо підвищувався за дії середньоагресивного штаму – на 15,9%.

Водночас за штучного зараження штамми Д13 і 9894 цей показник на 19 добу мав лише тенденцію до збільшення. Його зростання свідчить про зниження ефективності акумуляції і передачі квантів світла в електрон-транспортному ланцюгу та залучення поглинутої енергії у реакціях циклу Кальвіна, а отже і зниження рівня фотосинтетичної активності листового апарату, що показав подальший аналіз. Разом із тим, при інфікуванні рослин досліджуваними штамми з 13 до 16 доби поступово знижувалася потенційна ефективність фотохімії ФС II (F_v/F_m), що відповідає збагаченості листків фотохімічно активними центрами й свідчить про повільне накопичення руйнівних тенденцій. На 13 добу зниження цього показника (y %) в листках заражених рослин щодо контролю, за варіантами можна розташувати у такій послідовності: Д13 (25%) > 9900 (9,1%) > 9896 (як у контролі), тоді як на 16 добу – 9894 (40,0) > Д13(31,5%) > 9896 (25,9%) > 9900 (7,4%). При цьому найбільше зниження цього показника спостерігали на 16 добу за дії на рослини високоагресивних штамів Д13 і 9896 та слабоагресивного штаму 9894. У той же час через 19 діб після ураження ефективність фотохімічних процесів у рослин, інокульованих штамми, що за діагностикою на 14 добу відзначалися як високо- і середньоагресивні, майже не відрізнялася від контролю, за винятком

інокуляції слабоагресивним штамом 9894, де вона пригнічувалася суттєво – на 22,5 %. Отже, штам 9894, що діагностувався за проявом ураження на 14 добу як слабоагресивний, на 16 і 19 добу показав істотний ушкоджуючий вплив на інфіковані рослини, за пригніченням параметра, тобто цей штам відрізнявся від високо- і середньоагресивних тривалістю латентного періоду розвитку хвороби.

Варто відзначити, що пригнічення ефективності фотохімії (кількості фотохімічно активних центрів) у листках інфікованих рослин свідчить про пошкодження компонентів ФС II, коли величина лінійно корелює зі швидкістю виділення O_2 , що за умов підвищення активності пластохінон- O_2 -оксидоредуктази при надлишковому відновленні молекул O_2 може призводити до утворення активних форм кисню, які руйнують різні компоненти фотосинтетичного апарату, особливо ФС II (Baena-Gonzalez et al., 2003; Бухов, Егорова, 2006). Отже, за таких умов чутливість фотосинтезу до окиснюваного стресу може визначатися активністю фотодихання, що захищає фотосинтетичний апарат від ушкоджень.

Разом із тим, в третьому низу листку рослин контрольного варіанта із часом (до 19 доби) спостерігалися тенденції до зниження потенційної ефективності фотохімічних процесів, що свідчить про поступове його старіння.

Коефіцієнт K_i , що корелює із активністю основного ферменту циклу Кальвіну рибулозо-бісфосфаткарбоксилази (РБФК), у інфікованих різними патогенними штамми рослин пшениці істотно знижувався щодо контрольних рослин уже на 13 добу за ушкодження більшістю штамів рослин пшениці. При цьому зниження рівня асиміляції вуглецю відбувалося у відповідності з динамікою змін потенційної ефективності фотохімії у такому порядку: Д13 (на 29,3%) > 9900 (на 7,3%) > 9896 (на 4,8%).

Отримані на 14 добу дані візуальної діагностики підтверджувалися змінами параметрів потенційної ефективності фотохімії та індукційного коефіцієнта (K_i), які фіксували на 13 добу. Зміни величини параметра K_i за дії досліджуваних штамів на 16 добу виявилися такими: Д13(34,6%) > 9894 (30,7%) > 9896 (11,5%) > 9900 (3,8%), а на 19 добу – 9894 (35,8%) > 9896 (13,2%) > Д13 (3,8%). Виняток склала дія середньоагресивного штаму 9900 на величину K_i , що мала тенденцію до зростання – на 11,3% проти контрольного рівня (рис. 2, з).

Отже, з 13 до 19 доби регуляторна система рослин пшениці ярої дещо адаптувалася до

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ

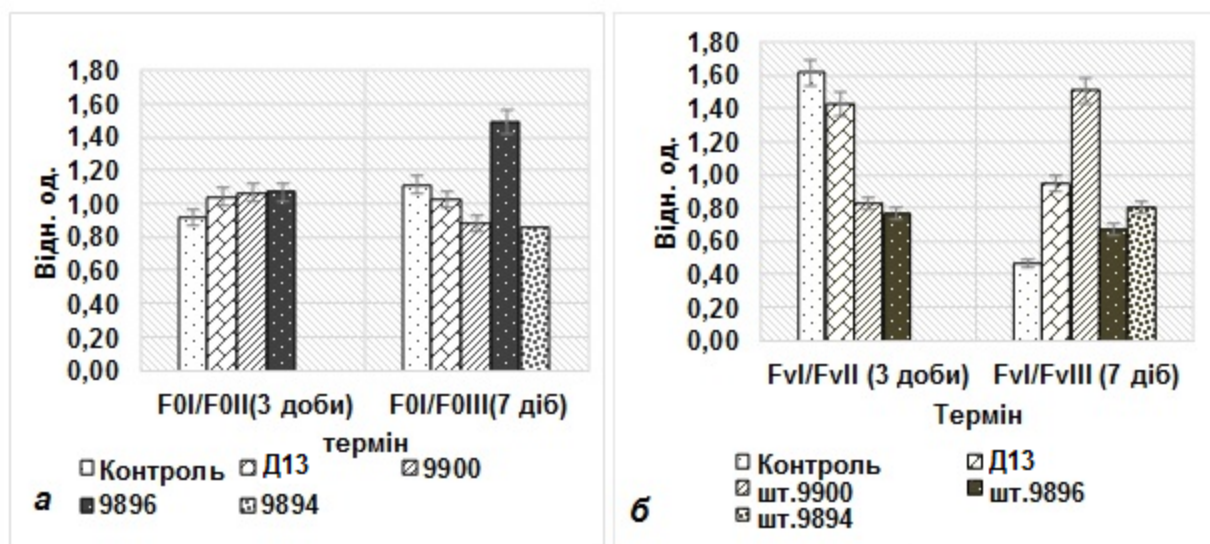


Рис. 3. Стабільність СЗК (а) і стійкість функціональної активності ФС II (б) третього знизу листка ярої пшениці сорту Печерянка за дії впливу різних штамів збудника базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atropaciens* (Д13, 9900, 9896, 9894).

умов інфекційного навантаження за інокуляції високоагресивним штамом Д13 завдяки регуляторним змінам, хоча ефективність залучення світла у швидкій фазі фотосинтезу в листках інфікованих цим штамом рослин була нижчою ніж на контролі, завдяки зниженню кількості активного хлорофілу. Разом із тим, фотосинтетичний апарат рослин, інфікованих високоагресивним штамом 9896, реагував, висвічуючи поглинуті кванти світла у «швидкій» фазі флуоресценції, через що відбувалося зниження потоку електронів у електрон-транспортному ланцюгу й енергетичної підтримки циклу Кальвіна та відповідно – зниження асиміляції вуглецю. Дія середньоагресивного штаму на фізіологічний стан рослини також опосередковувалась пригніченням фотосинтетичної активності переважно у «швидкій фазі» фотосинтезу, причому на 19 добу активність рубіско навіть зростала, що, ймовірно, пов'язано із її оксигеназною активністю (фотодиханням).

Ефективність фотохімії і темнова «повільна» фаза фотосинтезу інтенсивніше пригнічувалася у листках інфікованих слабоагресивним штамом 9894, де суттєво зменшувалася асиміляція вуглецю на 16 й 19 добу. Отже, слабкий візуальний прояв ураження цим штамом на 14 добу, ймовірно, пов'язаний із більшою, ніж за дії сильно- і середньоагресивних штамів тривалістю латентної фази захворювання.

Разом із тим, високоагресивний штам Д13 виявляв свою патогенну дію найшвидше, починаючи з 13 доби, із досягненням максимуму ефекту на 16 добу від ураження, тоді як пік патогенної дії і прояву високоагресивного шта-

му 9896 припадав на 16 добу та ще тривав на 19 добу. Отже, патогенні штами збудника базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atropaciens* різного походження на 14 добу від початку інокуляції різнилися за інтенсивністю прояву візуальних ознак захворювання та за тривалістю латентної фази (за діагностичними параметрами ІФХ): штами із вкороченою латентною фазою – більш шкодочинно діяли на фізіологічний стан рослин на 13-16 добу та тривалою латентною фазою (ідентифікували як слабоагресивні) – виявляли більшу пригнічувальну дію на фізіологічний стан рослин на 16-19 добу.

Встановлено, що рівень фотосинтетичної активності інфікованих рослин був нижчим від контрольного через деградацію пігмент-білкових комплексів, які входять до складу антен ФСII, зниження ефективності фотохімії та швидкості передачі електронів в електрон-транспортному ланцюгу протягом перших трьох тижнів від початку захворювання. Ці зміни, ймовірно, спричинили руйнування різних компонентів фотосинтетичного апарату активними формами кисню, сприяючи накопиченню вільних радикалів, що призводило до передчасного старіння листків, а отже позначалося на продукційному процесі рослин, знижуючи потенційну врожайність.

Для поглибленого дослідження часових змін стану і функціональної активності фотосинтетичного апарату за дії штамів фітопатогену різного походження, що можуть відбиватися на ефективності продукційного процесу рослин пшениці ярої, ми розрахували стабільність сві-

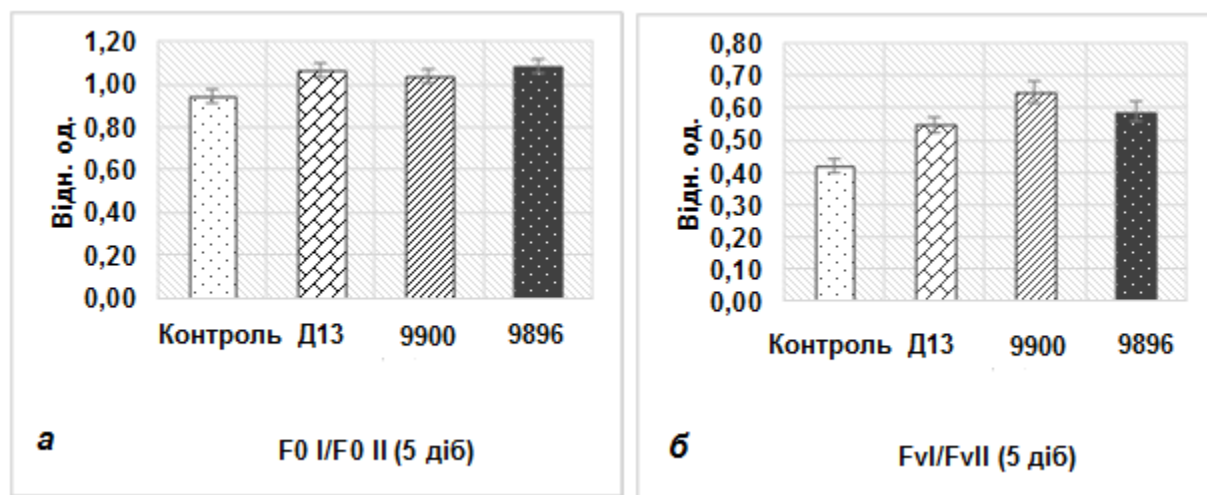


Рис. 4. Стабільність СЗК (а) і стійкість функціональної активності ФС II (б) прапорцевого листка за впливу різних штамів збудника базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atrofaciens* (Д13, 9900, 9896).

тлозбиральних комплексів ФС II (СЗК II) і стійкість фотохімічної активності ФС II.

Стабільність світлозбиральних комплексів ФС II (СЗК II) за впливу на фізіологічний стан рослин досліджуваних штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens* за 3 доби розвитку інфекції знижувалася (збільшення співвідношення), залежно від штаму бактерії: на 13% - за інокуляції штамом Д13 та на 16% - за інфікування рослини пшениці штамми 9900 та 9896 (рис. 3, а). У той же час, за сім діб, що пройшли між першими і останніми вимірюваннями (до 19 доби), стабільність фотосинтетичного апарату рослин, інокульованих високоагресивним штамом Д13, щодо контролю мала тенденцію до зростання, підвищуючись на 7,2%, а середньоагресивним штамом 9900 суттєво – на 20,7%. Найбільших змін фотосинтетичний апарат рослин пшениці зазнав за дії на рослини високоагресивного штаму 9896, за інфікування яким співвідношення F₀I/ F₀II зросло на 34,2%, що свідчить про зниження стабільності фотосинтетичного апарату (рис. 3, а), тобто uszkodження в результаті окиснюваного стресу тилакоїдних мембран. Стійкість фотохімічної активності ФС II пшениці до впливу штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens* зростала за 3 доби різною мірою (рис. 3, б). Підвищення змінної флуоресценції, яке відбувалося за цей період, відповідає збільшенню числа активних центрів ФС II у відповідь на інфікування, що свідчить про запуск регуляторних механізмів, що долають окиснювальний стрес.

Показано, що за короткий період (3 доби), активація захисних механізмів сприяла підвищенню стійкості фотохімічної активності

ФС II третього листка рослин пшениці щодо впливу різних штамів фітопатогена у послідовності: 9896 > 9900 > Д13 (рис. 3, б). Отже, на короткому етапі стресової дії за інокуляції штамми збудника базального бактеріозу регуляторна система фотосинтетичного апарату попереджала uszkodження, що відображує зростання стійкості фотохімічної активності ФС II завдяки активації захисних механізмів та зниженню стабільності СЗК II. В той же час за 7 діб стійкість фотохімічної активності ФС II знижувалася, але неоднаково (рис. 3, б).

Зниження змінної флуоресценції за зростання співвідношення F_vI/F_vII свідчить про зменшення числа активних центрів ФС II. Отже, за стійкістю фотохімічної активності ФС II до дії фітопатогенних бактерій на більш довгому проміжку часу – 7 діб, дослідні штамми можна розташувати у такій послідовності відносно контролю: 9900 > Д13 > 9894 > 9896. Проте за таких умов фотосинтез підтримувався на достатньо високому рівні (K_i, рис. 2), хоча й меншому, ніж в листках контрольних рослин. Отже, із часом, незважаючи на стабілізуючу дію регуляторної системи рослин пшениці, на початковому етапі ураження, стійкість фотохімічної активності ФС II за більш тривалого впливу фітопатогенів на рослини знижується, що пояснюється можливим утворенням та накопиченням за таких умов активних форм кисню, яке призводить до деградації структур ФС II (Бухов, Егорова, 2006).

Визначення стабільності СЗК II і стійкості фотохімічної активності ФС II прапорцевого листка у фазу колосіння-цвітіння показало подібну динаміку (рис. 4).

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ

Зростання співвідношення F_0I (15 доба) / F_0II (20 доба) у прапорцевому листку, а отже зниження фонові флуоресценції є показником зниження стабільності СЗК II, зумовлене поступовим пошкодженням тилакоїдних мембран в результаті окиснювального стресу. За шкодочинністю найактивніше діяв на фізіологічний стан рослин високоагресивний штам 9896, за дії якого величина співвідношення зросла на 14,9%, далі за ступенем шкодочинності був розташований штам Д13 – високоагресивний за візуальною шкалою, за дії якого на рослині відзначене зниження дослідного співвідношення на 13,8% та середньоагресивний штам 9900 – на 10,6% (рис. 4, а).

Стійкість фотохімічної активності ФС II прапорцевого листка у фазі колосіння-цвітіння поступово знижувалася протягом 5 діб (з 15 по 20) за ушкоджуючого впливу на фізіологічний стан рослини патогенних штамів збудника базального бактеріозу різного походження (рис. 4, б). Найбільше зниження стійкості фотохімічної активності ФС II відзначено за дії штамів «короткострокової латентної фази»: середньоагресивного штаму 9900 – на 54,8%, та високоагресивних штамів 9896 і Д13 – на 40,5% і 30,9% відповідно (рис. 4, б). У той же час, показник K_1 для прапорцевого листка інфікованих рослин підтримувався на рівні контрольних рослин, що супроводжувалося зниженням квантової ефективності фотосинтезу в цих листках до 20 доби інфікування, особливо за інкуляції середньоагресивним штамом 9900 (на 25,9%), за дії ж високоагресивного штаму 9896 на рослині спостерігалася лише тенденція до зниження цієї величини. Отже, за величинами стійкості фотохімічної активності ФС II прапорцевого листка пшениці за впливу на рослини патогенних штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens* різного походження їх можна розташувати у такій послідовності (у % до контрольних рослин): 9900 (54,8%) > 9896 (40,5%) > Д13 (30,9%).

Таким чином, рослини пшениці ярої, інкульовані штамми збудника базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atrofaciens* різного походження, на 14 добу від початку інкуляції, ідентифікували візуально за інтенсивністю проявів ураження як високоагресивні Д13 (4 бали) і 9896 (3-4 бали), середньоагресивний 9900 (3 бали) і слабоагресивний (1-2 бали).

Шкодочинний вплив штамів фітопатогену на рослини пшениці ярої позначився не тільки у візуальних ураженнях, а і у змінах функціональної активності фотосинтетичного апарату рослин, що супроводжувався скоро-

ченням антени світлозбиральних комплексів, зниженням потенційної квантової ефективності ФС II та відповідно рівня асиміляції вуглецю.

Стабільність СЗК II третього знизу листка рослин, інкульованих патогенними штамми, порівняно із листками контрольних рослин, знижувалася через 3 доби від початку інфікування разом із короткостроковим зростанням стійкості фотохімічної активності ФС II, яка через 7 діб також знижувалася. Стабільність СЗК II і стійкість фотохімічної активності ФС II прапорцевого листка інфікованих рослин мали подібну динаміку. Визначення стабільності СЗК II і стійкості фотохімічної активності ФС II прапорцевого листка з 15-ї до 20 доби інфікування показало подібну динаміку.

Відзначене короткострокове підвищення стійкості фотохімічної активності ФС II фотосинтетичного апарату інкульованих бактеріальними штамми різного походження рослин у період з 13 до 16 доби інфікування імовірно зумовлене здатністю рослини до модифікації фотосинтетичного апарату, що підвищує його опірність, але знижує ефективність фотосинтезу. Разом із тим зниження стійкості фотохімічної активності ФС II в листках рослин пшениці, інфікованих фітопатогеном, у більш тривалий період може бути пов'язане як із дією окиснювального стресу, так і різною стійкістю рослин пшениці у різні фази їх розвитку.

ЛІТЕРАТУРА

- Багірова С.В., Джавахія В.Г., Дьяков Ю.Т., Озерецька О.Л., Проворов Н.А., Тихонович Н.А., Щербакова Л.А. Фундаментальная фитопатология. – М.: Красанд, 2012. – 512 с.
- Брайон О.В., Корнєєв Д.Ю., Снегур О.О., Кутаєв О.І. Інструментальне вивчення фотосинтетичного апарату за допомогою індукції флуоресценції хлорофілу: Методичні вказівки для студентів біологічного факультету. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2000. – 15 с.
- Бухов Н.Г., Егорова Е.А. Механизмы и функции альтернативных путей переноса электронов в хлоропласте, связанные с ФС I // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, №5. – С. 645-657.
- Гвоздяк Р.І., Пасічник Л.А., Яковлева Л.М. та ін. Фітопатогенні бактерії, бактеріальні хвороби рослин / За ред. В. П. Патики. – К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. – 444 с.
- Груша В.М. Інформаційні технології для дослідження індукції флуоресценції хлорофілу // Комп'ютерні засоби, мережі та системи. – 2014. – № 13. – С.109-116.

- Гуляев Б.И. Фотосинтетическая продуктивность агроэкосистем // Физиология и биохимия культур растений. – 2003. – Т. 35, №5. – С. 371-381.
- Гуляева Г.Б., Токошенко І.П., Патица В.П. Зміни у фотосинтетичному апараті озимої пшениці за дії мікоплазми *Acholeplasma laidlawii* // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. – 2015. – № 1 (62). – С. 77-83.
- Каранетян Н.В., Бухов Н.Г. Переменная флуоресценция хлорофилла как показатель физиологического состояния растений // Физиология растений. – 1986. – Т. 33, № 5. – С.1013-1026.
- Кирик М.М., Тарануха Ю.М., Тарануха М.П., Китаєв О.І. Діагностика вірусної інфекції смородини чорної та малини методом індукції флуорисценції хлорофілу листків // Вісн. аграрн. науки. – 2011. – № 10. – С. 26-28.
- Китаєв О.І. Про хлорофілометри // Садівництво по-українськи. – 2014. – № 4. – С. 66-68.
- Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. – Киев: Альтерпрес, 2002. – 191 с.
- Кочубей С.М., Шевченко В.В., Бондаренко О.Ю., Панас И.Д. Динамика изменений функциональной активности фотосинтетического аппарата растений гороха, вызываемых высокотемпературным стрессом // Доповіді НАН України. – 2013. – № 6. – С. 152-156.
- Нестеренко Т.В., Тихомиров А.А., Шихов В.Н. Индукция флуоресценции хлорофилла и оценка устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям // Журн. общ. биологии. – 2007. – Т. 68, № 6. – С. 444-458.
- Олексійченко Н.О., Китаєв О.І., Совакова М.О. Особливості індукції флуоресценції хлорофілу в листках деревних рослин в умовах урбанізованого середовища // Біоресурси і природокористування. – 2013. – Т. 5, № 5/6. – С. 107-112.
- Патица В.П., Пасічник Л.А. Фітопатогенні бактерії: фундаментальні і прикладні аспекти // Вісн. Уманського нац. ун-ту садівництва. – 2014. – № 2. – С. 7-10.
- Патица В.П., Пасічник Л.А., Буценко Л.М. Бактеріальні хвороби пшениці та рису // Таврійський вісн. аграрн. науки. – 2013. – № 2. – С. 51-56.
- Портативний флуорометр «Флоротест»: настанова з експлуатації. – Інститут Кібернетики ім. В. М. Глушкова НАН України, 2013. – 24 с.
- Рибейро Р.В., Сантос М.Г., Мачадо Е.С., Олівейра Р.Ф. Фотохимическая реакция листьев фасоли на тепловой стресс после предварительного водного дефицита // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 3. – С. 387-396.
- Стародуб М.Ф., Сонько Р.В., Лопатько К.Г., Трач В.В. Показники індукції флуоресценції хлорофілу у рослин *Lupinus luteus*, вражених карбонатним хлорозом за обробки колоїдними речовинами Zn та Fe // Наук. вісник Нац. унів. біоресурсів і природокористування України. Сер.: Біол., біотехнол., екол. – 2014. – Вип. 204. – С. 78-86. – [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnu_biol_2014_204_13.
- Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2002. – 244 с.
- Чернюк О.С., Бойко А.Л., Корнеев Д.Ю., Маменко П.М. Вплив вірусу смугастої мозаїки пшениці на параметри індукованої флуоресценції рослин *Triticum aestivum* // Биополимеры и клетка. – 1999. – Т. 15, №5. – С.445-448.
- Baena-Gonzalez E., Allahverdiyeva Y., Svab Z., Maliga P., Josse E. M., Kuntz M., Maenpaa P., Aro E.M. Deletion of the tobacco plastid psb A gene triggers an upregulation of the thylakoid-associated NAD(P)H dehydrogenase complex and the plastid terminal oxidase (PTOX) // Plant J. – 2003. – V. 35. – P. 704-716.
- Berry J., Bjorkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants // Ann. Rev. Plant Physiol. – 1980. – V. 31. – P. 491-543.

Надійшла до редакції
04.04.2016 р.

**FUNCTIONAL ACTIVITY OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS
OF SPRING WHEAT UNDER ACTION OF ARTIFICIAL INFECTION
BY *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ATROFACIENS* STRAINS
OF DIFFERENT ORIGIN**

A. B. Gulyaeva, L. A. Pasichnyk, V. P. Patyka

*D.K. Zabolotny Institute Microbiology and Virology
of National Academy of Sciences of Ukraine
e-mail: anna_gulyaeva_2012@mail.ru*

The method of induction of chlorophyll fluorescence shows that action bacterial strains *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* of the cause of reduction in light-harvesting antenna complex, reduced potential quantum efficiency of PS II and reduced carbon assimilation in leaves of wheat. The stability of LHC II of third leaf from below by action of pathogenic strains decreased in 3 weeks from the

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ

start of infection with the growth of stability photochemical activity of PS II to action of strains and its reduction in seven days. The stability of LHC II and stability of photochemical activity of PS II of wheat flag leaf had similar dynamics. Short-term resistance increase of photochemical activity of PS II to the action of bacterial strains of different origins in the period from 13th to 16th day from the beginning of infection caused by regulatory changes in the photosynthetic apparatus, which has increased its resistance, but reduced the intensity of photosynthesis. The reduction of stability photochemical activity of PS II by the action of the pathogen for a longer period associated with damage to the components of PS II.

Key words: *Triticum aestivum L.*, *Pseudomonas syringae pv. atrofaciens*, chlorophyll fluorescence induction

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИСКУССТВЕННОГО ЗАРАЖЕНИЯ ШТАММАМИ *PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. ATROFACIENS* РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А. Б. Гуляева, Л. А. Пасичник, В. Ф. Патыка

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного
Национальной академии наук Украины
(Киев, Украина)
e-mail: anna_gulaeva_2012@mail.ru*

Методом индукции флуоресценции хлорофилла исследовали изменения в функциональных звеньях фотосинтетического аппарата растений пшеницы *Triticum aestivum* при искусственном заражении штаммами *Pseudomonas syringae pv. atrofaciens* различного происхождения. Установлено сокращение антенны светособирающих комплексов (ССК), снижение уровня потенциальной квантовой эффективности фотосистемы (ФС) II и ассимиляции углерода в листьях зараженных растений. Отмечено снижение стабильности ССК II 3-го снизу и флагового листьев инфицированных штаммами *P. syringae pv. atrofaciens* растений пшеницы через 3 дня от начала заражения вместе с краткосрочным ростом устойчивости фотохимической активности ФС II и последующим ее снижением через 7 сут.

Ключевые слова: *Triticum aestivum L.*, *Pseudomonas syringae pv. atrofaciens*, индукция флуоресценции хлорофилла