

## ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛИСТЬЕВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И ОТЗЫВЧИВОСТИ НА ВНЕСЕНИЕ АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ

Е.В. Канаш, Г.В. Мирская, Д.В. Русаков, Ю.В. Чесноков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия, [ykanash@yandex.ru](mailto:ykanash@yandex.ru)

**Аннотация.** Методом неинвазивной спектроскопии определены оптические показатели, характеризующие активность фотосинтетического аппарата, и изучена их связь с зерновой продуктивностью яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при двух уровнях азотного питания. Обнаружено, что изученные показатели могут быть надежными критериями при фенотипировании на эффективность использования азота и отзывчивость на его внесение, а также могут быть использованы при оценке взаимодействия генотип-среда.

**Ключевые слова:** пшеница, фенотипирование, оптические характеристики, азот

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-397-401

Фенотипирование хозяйственно-ценных признаков, таких как продуктивность, качество урожая и толерантность к действию биотических и абиотических стрессоров, является трудоемкой и технически сложной задачей, поскольку требует испытания во многих условиях среды в течение нескольких сезонов и существенных материальных затрат. Современные методы фенотипирования, такие как методы неинвазивной визуализации, контактной или дистанционной спектроскопии, анализа изображений и высокопроизводительных вычислений, обладают высокой пропускной способностью, а их применение не приводит к разрушению или уничтожению растений. Хотя связь характеризующих активность фотосинтетического аппарата индексов отражения с другими физиологическими признаками и обсуждается в ряде публикаций [Graef et al. 2001; Kanash et al., 2013; Yakushev et al., 2017], сведения об их использовании для высокоскоростного фенотипирования и выявления перспективных генотипов с желательными хозяйственно-ценными признаками практически отсутствуют.

В этой связи, целью настоящей работы была оценка неинвазивными контактными и дистанционными методами физиологических показателей, определяющих активность фотосинтетического аппарата яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), и выявление признаков, связанных с высокой эффективностью использования азота и отзывчивостью на внесение азотных удобрений.

Объектом исследования служили рекомбинантные инбредные линии картирующей популяции ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) [Чесноков и др. 2018].

Выращивание и оценка растений выполнена в контролируемых условиях биополигона ФГБНУ «Агрофизический научно-исследовательский институт». При культивировании растений основные параметры жизнеобеспечения были постоянными: температура - 25-26°C - день/ 20-21°C - ночь, фотопериод - 16 часов, облученность на уровне верхних листьев - 50±0.5 Вт/м<sup>2</sup> ФАР. Растения выращивали в вегетационных сосудах объемом 2 л (по 2 растения в каждом). Повторность для каждой линии и каждой родительской формы – 2-кратная.

В качестве корнеобитаемой среды использовали дерново-подзолистую легко суглинистую почву. Опыт включал два варианта, отличающихся по уровню азотного питания: вариант 1 – азотные удобрения во время вегетации растений не вносили, вариант 2 – выполнена 2-кратная подкормка мочевиной перед посевом и в фазу онтогенеза «выход в трубку» до измерения оптических характеристик растений. Всего

в два приема при удобрении было внесено 0,321 мг мочевины на кг почвы. На протяжении всего периода вегетации растений влажность почвы поддерживали равной 70-80% от полной влагоемкости при ежедневном поливе водой.

Спектральные характеристики диффузного отражения листьев и площадь листовой ассимилирующей поверхности определяли на стадии «выход в трубку». Спектры отраженной радиации регистрировали *in situ* с помощью оптоволоконной спектрометрической системы фирмы Ocean Optics (США), с шагом 0,3 нм в диапазоне от 400 до 1100 нм. В среднем у каждой линии регистрировали не менее 15 спектров. Записанные спектры в цифровой форме переносили в программу Excel 2013, где рассчитывали средние значения коэффициентов отражения для каждой длины волны и индексы отражения, характеризующие активность фотосинтетического аппарата. Расчетные формулы индексов отражения (хлорофилла – ChlRI, отношения суммы каротиноидов к сумме хлорофиллов – SIPI, фотохимической активности – PRI, антоцианов – ARI, флавонолов – FRI, показателя рассеяния света, зависящего от структуры листа –  $R_{800}$ ) и их связь с физиологическим статусом растений приведены в работах [Kanash et al., 2013; Yakushev et al., 2017].

Для определения площади листовой ассимилирующей поверхности (ALAS) с помощью цифровой камеры Canon G7X получали фотографии листьев на эталонной пластине белого цвета с известной площадью. По полученным цифровым изображениям в программе Photoshop CS4 Portable определяли долю экранируемой листьями поверхности эталонной пластины от площади данной пластины и в дальнейшем переводили полученную величину в  $\text{см}^2$ .

Для классификации изучаемых линий пшеницы по эффективности использования и отзывчивости на внесение азота применена система, согласно которой сорта в зависимости от реакции на наличие действующего вещества делили на 4 группы: (1) эффективные, отзывчивые (быстро реагирующие); (2) неэффективные, отзывчивые; (3) эффективные, не отзывчивые; (4) не эффективные, не отзывчивые [Gerloff, 1977]. Эффективный сорт (в нашем случае – линия) дает более высокий урожай, чем другие сорта (линии) при низком уровне питания, тогда как сорт (линия) отзывчивый более продуктивен при высоком уровне питания. В конце вегетации определяли зерновую продуктивность (число семян с колоса – NSeNr и массу 1000 семян – TGW).

Анализ оптических характеристик и продуктивности линий пшеницы популяции ITMI показал их существенное разнообразие. Площадь листовой ассимилирующей поверхности выше средней-очень высокая (4-6 баллов), обнаружена у 3% линий в варианте без внесения дополнительного азота и у 42% линий при внесении азотных удобрений. У линий с ALAS 4-6 баллов содержание хлорофилла также зависело от обеспеченности растений азотом. В варианте 1 у 46% линий величина ChlRI превышала средние значения по популяции ITMI, в то время как в варианте 2 - у 86% линий индекс хлорофилла был существенно выше средних значений (4-6 баллов). Внесение азота сопровождалось уменьшением SIPI у растений большего числа линий, что вероятно связано с увеличением содержания хлорофилла. После внесения азота доля линий, у которых величина SIPI была ниже средней по популяции, достигла 86%, что на 23% больше, чем в варианте 1, где растения азотом не удобряли. Внесение азота сопровождалось также увеличением доли линий, которые характеризовались низкими значениями PRI, что свидетельствует о снижении тепловой диссипации. На распределение линий по величине показателя  $R_{800}$  внесение удобрений не оказало достоверного влияния. Средние значения всех изученных показателей, кроме  $R_{800}$  и TGW, в вариантах 1 и 2 достоверно отличались ( $p > 0.05$ ). По результатам дисперсионного анализа сила влияния ( $\eta^2$ ) азотной подкормки, выполненной на стадии «выход в трубку», на NSeNr была равна 23% ( $p \leq 0.0001$ ). Размер зерен (TGW) не

зависел от уровня азотного питания. Наибольший положительных эффект ( $\eta^2=32\%$ ,  $p \leq 0.0001$ ) от азотной подкормки наблюдали при сравнении ALAS 1 и 2 вариантов. Сила факторного влияния на другие оптические показатели, характеризующие активность фотосинтетического аппарата, была равна 21-23% ( $p \leq 0.0001$ ).

В варианте 1, когда растения выращивали при более низком уровне азота, чем в варианте 2, не выявлено достоверной взаимосвязи между числом семян в колосе главного побега, массой 1000 семян и всеми индексами отражения, которые были использованы в этой работе. Однако обнаружено, что число семян, сформированных в колосе главного побега, и их абсолютная масса тесно связаны с площадью листовой ассимилирующей поверхности, которая была сформирована к началу стадии «выход в трубку». В варианте 2 статистически значимая взаимосвязь между спектральными характеристиками диффузного отражения листьев, измеренными на стадии «выход в трубку», и массой 1000 семян отсутствовала. Однако была обнаружена достоверная корреляционная связь между числом семян, сформированных в колосе главного побега, индексами отражения и площадью листьев.

Линии пшеницы популяции ITMI были разделены на 4 группы, отличающиеся по реакции на уровень азотного питания. В таблице 1 приведены значения некоторых показателей для растений 4 групп пшеницы, отличающиеся по эффективности использования азота и отзывчивости на его внесение. У эффективных по использованию азота линий содержание хлорофилла (ChlRI), площадь листовой ассимилирующей поверхности (ALAS) и число зерен в колосе (NSeNp) имеют наибольшую величину. Диапазоны значений изучаемых показателей в варианте 1 (без дополнительного внесения азота) у эффективных и неэффективных линий существенно различались. Растения отзывчивых линий в ответ на дополнительное внесение азота (вариант 2) на 50-140% увеличивали число семян в колосе главного побега, тогда как неотзывчивых - лишь на 15-36%. ALAS у растений отзывчивых линий на стадии «выход в трубку» была на 60-255% больше, чем в варианте 1, тогда как у неотзывчивых линий возрастала лишь на 12-25%. Такая же закономерность характерна и для содержания хлорофилла в листьях: высокие значения индекса хлорофилла эффективных линий после выполнения азотных подкормок увеличивались на 7-63%.

**Таблица**

**Оптические характеристики и продуктивность линий пшеницы популяции ITMI в зависимости от эффективности использования азота и отзывчивости на его внесение**

Показатель*	Диапазон варьирования величины измеряемого показателя							
	Эффективные, отзывчивые		Эффективные, не отзывчивые		Не эффективные, отзывчивые		Не эффективные, не отзывчивые	
	Вар. 1	Вар.2	Вар. 1	Вар.2	Вар. 1	Вар.2	Вар. 1	Вар.2
NSeNp	27-36	37-58	26-35	30-40	10-20	32-40	12-17	17-21
ALAS	205-345	350-532	210-230	210-284	76-158	305-525	97-116	103-161
ChlRI	0,55-0,67	0,60-0,69	0,54-0,67	0,55-0,67	0,27-0,37	0,52-0,57	0,27-0,38	0,37-0,44

\*- NSeNp – число зерен в колосе главного побега, шт; ALAS – площадь листовой ассимилирующей поверхности, см<sup>2</sup>; ChlRI – индекс хлорофилла, отн.ед. Вар.1 – удобрения не вносили, Вар.2 – выполнена 2-кратная подкормка мочевиной перед посевом и в начале стадии «выход в трубку».

Растения линий пшеницы картирующей популяции ITMI существенно отличались как по продуктивности, так и по оптическим характеристикам листьев и площади листовой ассимилирующей поверхности, сформированной к началу стадии «выход в трубку». Обнаружена статистически достоверная корреляционная связь между числом семян в колосе главного побега и измеряемыми контактно или дистанционно

характеристиками листьев. Все использованные в данной работе индексы отражения листьев были апробированы нами ранее [Kanash et al., 2013; Yakushev et al., 2017] при оценке ответной реакции растений на действие стрессовых факторов среды (УФ-В радиации, почвенной засухи, дефицита азотного питания) и показали свою хорошую разрешающую способность в случаях, когда необходимо выявить угнетенные растения, оценить необходимость и возможность оптимизации условий их выращивания и устранения последствий действия стрессоров. В данной работе показатели активности фотосинтетического аппарата (площадь листовой ассимилирующей поверхности – ALAS и индекс хлорофилла – ChlRI), измеренные в период перехода растений от вегетативного к генеративному развитию (стадия «выход в трубку»), были использованы для выявления в изучаемой популяции яровой пшеницы линий, отличающихся высокой эффективностью использования азота, и линий, отзывчивых на внесение азотных удобрений. Разделение популяции на такие же классы по числу семян, сформированных в колосе главного побега, показало хорошее совпадение результатов, свидетельствуя, что оптические характеристики растений могут быть надежными критериями при фенотипировании на эффективность использования азота, проводимому на ранних этапах онтогенеза. Также с большой вероятностью можно предположить, что они могут применяться при анализе эффективности использования других элементов питания, оценке взаимодействия генотип-среда и фенотипировании растений на толерантность к действию различных абиотических и биотических факторов среды.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 16-04-00311а.*

#### Литература

Чесноков Ю. В., Мирская Г. В., Канаш Е. В., Кочерина Н. В., Русаков Д. В., Ловассер У., Бёрнер А. Идентификация и картирование QTL у яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в контролируемых условиях агроэкобиополигона в отсутствие и при внесении азотного удобрения // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, № 1. – С. 80–93.

Graeff S., Steffens D., Schubert S. Use of reflectance measurements for the early detection of N, P, Mg, and Fe deficiencies in *Zea mays* L. // Journal of Plant Nutrition and Soil Science. – 2001. – V. 164. – P. 445–450.

Gerloff S. Plant efficiencies in the use of N, P and K // In: Plant adaptation to mineral stress in problem soils. Wright, MJ. (Ed.). - Cornell University Press: New York, 1977. – P. 161–174.

Kanash E.V., Panova G.G., Blokhina S.Yu. Optical criteria for assessment of efficiency and adaptogenic characteristics of biologically active preparations // Acta Horticulturae. – 2013. – V. 1009. – P. 37-44.

Yakushev V., Kanash E., Rusakov D., Blokhina S. Specific and non-specific changes in optical characteristics of spring wheat leaves under nitrogen and water deficiency // Advances in Animal Biosciences: Precision Agriculture (ECPA 2017). – 2017. – V. 8, No. 2. – P 229–232.

## OPTICAL CHARACTERISTICS OF SPRING WHEAT LEAVES DEPENDING ON NITROGEN USE EFFICIENCY AND RESPONSIVENESS TO FERTILIZER APPLICATION

E.V. Kanash, G.V. Mirskaya, D.V. Rusakov, Yu.V. Chesnokov

Research Institute of Agrophysics, St. Petersburg, Russia, *ykanash@yandex.ru*

**Abstract.** Non-invasive spectroscopy was used to determine optical indices associated with activity of photosynthetic apparatus and to study their relation to grain productivity of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) at two levels of nitrogen nutrition. It was found that the studied parameters can be reliable criteria for phenotyping on nitrogen use efficiency and responsiveness to its application, and can also be used in assessing genotype-environment interactions.

**Keywords:** *wheat, phenotyping, optical characteristics, nitrogen*