

УДК 581.1

ШЛЯХИ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ФОСФОРНОГО ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН

С.М. ГРАБЧУК, Л.М. МИХАЛЬСЬКА, В.В. ШВАРТАУ

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: s.grabchuk@gmail.com*

Фосфор — важливий макроелемент для рослин, нестача якого в ґрунті істотно лімітує отримання високих урожаїв. Гомеостаз фосфору в рослинах підтримують складні комплексні системи поглинання, транспортування та ремобілізації ортофосфату. Сигнальні системи на рівні кореня, пагона—кореня базипетального й акропетального спрямування включають градієнт P_i , зміни гормонального статусу, мікроРНК, мРНК, цукри, координують реакцію на дефіцит P_i на рівні рослини. Серед шляхів підвищення ефективності використання фосфору (P-use efficiency — PUE) найперспективнішими є біотехнологічні підходи. За допомогою вектора перетворення фосфіту на фосфат створено генетично модифіковані рослини кукурудзи, сої, бавовнику, здатні використовувати фосфіт як добриво. Результати молекулярних досліджень фосфорного живлення культурних рослин уможливили створення генотипів рослин і технологій їх вирощування з високими рівнями PUE, що істотно підвищує економічну ефективність рослинництва та знижує хімічне навантаження на агрофітоценози.

Ключові слова: фосфорне живлення, фосфіт, ортофосфат.

Фосфор (P) — один із найважливіших елементів, необхідних для функціонування рослин. Рослини поглинають P у вигляді ортофосфату (P_i) з ґрунтового розчину або позакоренево. Обмежена доступність P у ґрунті та, як наслідок, дефіцит P_i є серйозною завадою для сільськогосподарського виробництва у світі [4, 11, 13, 20, 27]. Оскільки доступного для рослин P_i в більшості ґрунтів недостатньо, застосування фосфорних добрив важливе для отримання високих урожаїв. Внесення мінеральних та органічних добрив спричинює екологічні проблеми, тому необхідно вдосконалювати системи їх використання для забезпечення економічної доцільності та запобігання забрудненню навколишнього середовища. Крім того, через обмеженість невідновлюваних запасів фосфоритів уже сьогодні істотно зменшуються дози внесення фосфорних добрив на посівах культурних рослин.

Отже, актуальним як у генетичних і селекційних програмах поліпшення культурних рослин, так і в розробці технологій вирощування, є з'ясування механізмів підвищення ефективності використання P_i з ґрунту й добрив, тобто створення посівів, які ліпше пристосовані до низького рівня доступного P_i у ґрунті й найефективніше поглинають і засвоюють фосфор із ґрунту та добрив. Генотипи з високими рівнями PUE забезпечують зростання врожаю за нижчих рівнів ортофосфату.

© С.М. ГРАБЧУК, Л.М. МИХАЛЬСЬКА, В.В. ШВАРТАУ, 2017

Перспективним є створення сортів зі зменшеним вмістом ортофосфату в тканинах, що знижує зольний індекс, й отже, винесення P_i з урожаєм. Для цього необхідно з'ясувати механізми метаболізму й гомеостазу фосфору та їх регуляції [2, 11, 13, 26—27, 29—30].

Вивчення молекулярно-генетичних механізмів, пов'язаних із підвищенням надходження та ефективності утилізації фосфору, ідентифікація генів, задіяних у реакції рослин на дефіцит P , добір генетичних маркерів уможливить оперативне проведення скринінгу на максимальний потенціал урожайності за оптимальних умов вирощування рослин із підвищеною ефективністю використання фосфору. Це сприятиме успішному вирішенню таких проблем, як подолання бар'єру врожайності й підвищення продуктивності в умовах абіотичних стресів [1, 5, 13, 14, 27, 29].

Зростання ефективності використання фосфору рослинами необхідне для збереження врожайності за зменшення доз добрив [30, 43].

Фосфор у рослині. Фосфор як ключовий компонент важливих макромолекул (нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, АТФ) бере участь у широкому спектрі фізіологічних і біохімічних процесів, контролює ключові ферментативні реакції, регулює основні метаболічні шляхи. Для нормального росту і розвитку рослин необхідно 0,15—0,50 % P у розрахунку на масу сухої речовини сільськогосподарських культур [8].

У рослин без дефіциту P_i велика його частка, поглинена коренями, транспортується ксилемою до молодих листків. У P_i -дефіцитних рослин запаси P мобілізуються зі старих листків до молодих органів. Ксилема транспортує фосфор майже виключно у формі P_i , флоема — в органічній формі. Поглинений P асимілюється у формі сахарофосфатів, нуклеотидів, нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, фосфопротеїнів, багатих на енергію сполук (АТФ) [8].

Фосфор із насіння є єдиним джерелом P , доступного для підтримання початкового росту при його проростанні. Рівень накопичення P в насінні — важлива складова, що визначає якість насіння та енергію проростання. Досліджено [32], що висока енергія проростання посилює ріст рослин за неоптимального рівня P в ґрунті. Запаси P в насінні швидко мобілізуються і транслокуються для формування коренів і тканин пагона. Є обмаль даних щодо фізіологічних механізмів регуляції переходу від повної залежності від запасів фосфору в насінні й початком його поглинання коренями. Вміст фосфору в тканинах рослин великою мірою визначається здатністю коренів поглинати P з ґрунту і темпами росту тканин. Вміст P в зрілому насінні також залежить від доступності для рослини P в ґрунті та екологічних чинників. Хоча фосфор у насінні мало впливає на його залишковий вміст у зрілій рослині, внесок P у живлення проростка значний. Достатні запаси P забезпечують швидше укорінення проростків і в кінцевому підсумку — підвищення врожаю [32, 39].

Від 30 до 90 % фосфору в насінні різних зернових і зернобобових культур міститься у формі фітатів у концентрації 2—70 мг/г сухої речовини. Фітати зазвичай накопичуються в насінні як суміш солей біологічно важливих металів (K, Mg, Ca, Mn, Fe, Zn). Численні фосфатази й фітази, що містяться в сухому насінні або синтезовані після його проростання, гідролізують фітати для забезпечення вегетуючої рослини на початкових фазах розвитку фосфором [36, 39].

Фосфор ґрунту і добрив. Хоча загальна кількість Р у ґрунтах може бути високою, засвоєваність його рослинами часто низька. У ґрунті фосфор міститься в неорганічній (35—75 % загального його вмісту) та органічній (30—65 %) формах. Проте 80—90 % Р в ґрунті іммобілізовано через адсорбцію, осадження і перетворення на органічні форми, недоступні для рослин [8, 41]. Рівні ортофосфату в більшості природних і сільськогосподарських екосистем субоптимальні. Тільки 10—20 % фосфору добрив використовується в рік його внесення [10]. P_i у ґрунті через високу реакційну здатність швидко іммобілізується з катіонами кальцію і магнію у вапнистих ґрунтах або алюмінію та заліза в кислих ґрунтах. Його пул зменшується також і через мікробіологічну активність. За надмірного внесення фосфорних добрив він потрапляє у водойми, спричинює заболочування і цвітіння води [12, 19, 27, 33, 40]. Внесення P_i позакоренево обмежено забезпечує рослини фосфором, за винятком систем фертигації.

Усі сучасні високопродуктивні агрофітоценози залежать від постійного внесення добрив, отримуваних з невідновлюваних фосфоритів — основного джерела фосфору в світі. Проте запаси фосфатів материнських порід виснажуються. Щорічна загальна потреба у фосфоритах для виробництва добрив становить близько 15 млн т. За сьогоднішніх темпів видобутку, за різними оцінками, очікується повне виснаження запасів фосфоритів через 50—400 років [10, 12, 20, 25].

Збільшення доз внесення добрив спричинює низьку їх ефективність та зростання екологічних проблем. Поліпшення фосфорного живлення рослин підвищенням ефективності асиміляції фосфатів (РАЕ) та ефективності використання фосфору (PUE) необхідне для забезпечення високої продуктивності сільськогосподарських культур та одночасного захисту ґрунту і водних ресурсів. Протягом останніх років досягнуто значних успіхів у з'ясуванні питань адаптації рослин до низьких рівнів P_i та механізмів, що підвищують поглинання, транспортування й використання P_i . Ідентифікація генів, відповідальних за процеси мінерального живлення рослин, сприяє створенню культур із підвищеною ефективністю використання добрив [19, 29].

Механізми адаптації рослин до дефіциту фосфору. Через розкладання рослинних решток і низьку мобільність P_i поверхневі шари ґрунту зазвичай більш збагачені P_i , ніж його нижні шари. Для максимального залучення Р в умовах його нестачі рослини формують відповідну до потреб кореневої систему. Модифікації кореневої архітектоники, індуковані нестачею P_i , пов'язані з підвищеним освоєнням верхнього шару ґрунту для поглинання ортофосфату в низьких концентраціях. Зміни кореневої архітектоники полягають у формуванні дрібної, сильно розгалуженої кореневої системи внаслідок гальмування росту первинних коренів, збільшення кількості та щільності додаткових і бічних коренів, розвитку довших корневих волосків [10, 19].

Вплив рівня P_i в ґрунті на розвиток коренів є комплексним, видоспецифічним і залежить від генотипу. Більшість реакцій корневих тканин на дефіцит Р координується локальними й системними сигналами, пов'язаними зі змінами вмісту у коренях Р-дефіцитних рослин ауксинів, етилену, цитокінінів, гіберелінів, стріголактону, транспортом регуляторних мікроРНК і підвищеною кількістю сахарози в флоемі. Збільшення надходження сахарози до кореня пов'язане зокрема з індукцією вищого рівня поглинання фосфору Р-дефіцитними рослинами. Важливу роль у

модифікації архітекtonіки кореневої системи у відповідь на низьку доступність P_i відіграють також сигнальні шляхи, що активуються жасмоновою кислотою, оксидом азоту або редокс-статусом меристеми кореня [19, 39].

Першою видимою зміною в рослинах, які потерпають від дефіциту P_i , є сповільнення росту первинного кореня після перенесення у середовище з низьким рівнем P_i . Одночасно пришвидшуються утворення і подовження бічних коренів, проліферація кореневих волосків, які експресують високі рівні транспортерів P_i й фосфатаз [15, 19, 36].

Рівень P_i змінює характеристики кореневих систем шляхом модуляції програм розвитку, які контролюють ініціацію, появу і кут нахилу росту бічних коренів, ріст первинного й бічних коренів, а також щільність і швидкість подовження кореневих волосків. У відповідь на необхідність посилення поглинання фосфору активно ростуть додаткові корені в поверхневому шарі ґрунту. Загальне поглинання P окрім типу кореневої системи великою мірою залежить від загальної площі її поверхні. Велика густина кореневих волосків, особливо на бічних коренях, може істотно підвищити ефективність поглинання P (вони поглинають до 90 % P_i). Цей механізм часто функціонує у культурних рослин із ділянок з низьким рівнем доступності P , проте потребує великих витрат вуглецю на формування кореневої системи і численних кореневих волосків. Польовими випробуваннями і тепличними експериментами з пшеницею, кукурудзою, соєю, горохом, квасолею доведено, що генотипи, які розвивають дрібну й густу кореневу систему, ліпше пристосовані до низького вмісту P_i в ґрунтах [4, 9, 15, 19, 42], тому стимулятори розвитку кореневої системи, наприклад інгібітор сукцинатдегідрогенази II покоління седаксан, можуть підвищувати PUE [7].

Важливими чинниками також є загальна довжина коренів кожного типу та їх діаметри. Довші кореневі волоски виділяють більше P_i -мобілізуєчих ексудатів у верхні шари ґрунту, де більше P [9, 19, 42]. Виділення кількох кореневих ексудатів, які підвищують доступність неорганічних і органічних форм фосфору в ризосфері — один зі способів реагування рослини на низький вміст P в ґрунті. Ексудати включають аніони органічних кислот, протони, які підвищують доступність помірно розчинних форм фосфору, і ферменти, які збільшують доступність органічного фосфору [10].

Виділення протонів та аніонів органічних кислот у ризосферу потребує зростання активності протонних pomp або продукування і виділення органічних кислот, що є затратним механізмом підвищення адаптації рослини до низького вмісту доступного P_i в ґрунті. Додатковою перевагою модифікації ризосфери рослинними ексудатами є здатність аніонів органічних кислот нейтралізувати токсичність алюмінію, тому деякі з генів, що беруть участь у формуванні стійкості до цього абіотичного стресора, також можуть впливати на поглинання P . Зокрема, кілька P -ефективних сортів пшениці з Китаю здатні виділяти більше лимонної та яблучної кислоти, ніж P -неефективні сорти. Отримано відносно мало інформації про рівень генетичної мінливості виділення ексудатів сортами основних зернових культур [9]. Для зернових колосових культур відомі селективні ексудати кореневої системи, наприклад мугінеїнат. Фітосидерофори родини мугінеїнату *Roasea* синтезують за дефіциту біологічно важливих елементів, при цьому рівні транскриптів HvNAS1,

HvNAAT-A, HvNAAT-B, HvIDS2 і HvIDS3, що кодують ферменти, залучені в біосинтез мугінеїнатів, зростали [35].

Недоліком цього механізму адаптації рослин до дефіциту P_i є те, що органічні аніони слугують також субстратом для росту мікроорганізмів, тому їх концентрація в ризосфері буває змінною [10]. Органічний фосфор ризосфери рослини можуть використовувати за участю позаклітинних фосфатаз, що виділяються коренями рослин у відповідь на дефіцит P [36, 43]. Надекспресія генів фітази мікроорганізмів у трансгенних рослинах приводила до поліпшення росту і поглинання P лише в контрольованих умовах. Важливими чинниками, що обмежують використання фітатів як джерела органічного фосфору, можуть бути взаємодія з ґрунтовими мікроорганізмами і вплив численних хімічних речовин у ґрунті [10]. Основною групою транспортерів P_i , що регулюють його надходження з ґрунтового розчину в клітини коренів, є родина генів PHT1. Експресія цих генів індукується дефіцитом фосфору [10, 28, 31, 43, 45].

Ще однією реакцією рослин на зниження рівня доступного P є перерозподіл біомаси між коренями і пагонами шляхом зміни клітинного метаболізму. При цьому ефективність використання P в рослині зростає внаслідок оптимізації перетворення й розподілу поживних речовин. За нестачі P рослини збільшують перетворення його з внутрішньоклітинних органічних сполук, підвищують активність кислих фосфатаз і PНКаз, а також частково вивільняють P_i в результаті заміни мембранних фосфоліпідів на галакто- і сульфоліпіди. Крім того, рослини використовують метаболічний обхід у гліколізі, підвищують накопичення крохмалю й антоціанів у пагонах.

Ремобілізація P_i в рослині має вирішальне значення для забезпечення сталого росту й формування насіння за умов зовнішніх коливань рівня доступного P. Їстотну роль у транслокації P_i від кореня до пагона відіграє транспортер PНО1. Він є посередником виходу P_i з клітини і зниження його концентрації у вакуолі. Надекспресія AtPНО1 призводить до 2—3-разового збільшення вмісту P_i в пагоні й різкого гальмування росту пагонів [10, 16, 32, 34].

Експериментально підтверджено [32] ймовірний вплив генів *RHT* на розподіл вуглецю, кількісно оцінено вплив алелів *Rht-B1* на ріст коренів і P-ефективність у контрольованих умовах.

Отже, реакції рослин на дефіцит доступного P_i в ґрунті, які збільшують надходження P, включають [11]:

1) підкислення ризосфери, секрецію низькомолекулярних органічних аніонів і ферментів у ґрунт для мобілізації P_i з неорганічних та органічних джерел фосфору;

2) розвиток кореневої системи збільшенням її біомаси і змін у морфології для забезпечення можливості охоплення більших об'ємів ґрунту й використання P_i із зон з високою його доступністю;

3) підвищення потенціалу клітин коренів до поглинання P_i , відповідне зниження його концентрації в ризосфері, пришвидшення дифузії P_i до ризосфери й стимулювання його вивільнення зі зв'язаного стану.

Взаємодія між генами карликовості й фосфорним живленням досліджена мало. Існує гіпотеза, що гени карликовості впливають на накопичення біомаси за високих і низьких рівнів P, але не змінюють PАЕ [32].

Здатність коренів більшості рослин проникати в глибокі шари ґрунту й мобілізувати фосфор з віддалених неорганічних і органічних джерел

підвищується за симбіозу з мікоризою. Ці реакції координуються регуляторними системами, керованими як фосфорним статусом органів рослин, так і наявністю P_i в ризосфері [11].

Генетичний контроль фосфорного живлення рослин. Системи генної регуляції за нестачі фосфору, які контролюють фізіолого-біохімічні процеси, багато в чому є спільними у відповіді рослин на стресові впливи. Стійкість до дефіциту фосфору є складною кількісною ознакою. В адаптації рослин до нестачі фосфору беруть участь близько 100 генів [6, 44]. Гени, які швидко реагують на нестачу P, належать до «ранніх». «Пізні» гени визначають зміни у морфології, фізіології, метаболізмі рослин за тривалого дефіциту фосфору [6, 13].

Гradient сахарози є загальним регулятором реакції рослин на нестачу P. Крім того, важливу роль в PSR (P_i -starvation response) відіграють рослинні гормони. Система, яка включає ці регуляторні компоненти, координує складні відповіді на дефіцит P_i [10, 45].

Картування локусів кількісних ознак (QTL) забезпечує ефективний інструмент для генетичного аналізу, вивчення їх відносного впливу на конкретні ознаки. Прояснення генетичної основи P-ефективності культурних рослин допоможе створити P-ефективні сорти за допомогою маркер-асоційованої селекції (MAS) [32, 44]. Повідомлено [44] про виявлення у пшениці 110 QTL, пов'язаних із 12 ознаками проростків за P-нормальних і P-дефіцитних умов, 49 специфічних QTL, пов'язаних безпосередньо зі стійкістю проростків пшениці до дефіциту P. Виявлено 18 важливих кластерів QTL, розміщених на 12 хромосомах: 1D, 2A, 2B, 3A, 3B, 4B, 4D, 5A, 5D, 6A, 6B, 7B. Відкриття цих QTLs і кластерів QTL важливе для точного картування молекулярних маркерів MAS, клонування генів, пов'язаних з ефективністю P. У гідропонних і польових дослідках визначено 26 індивідуальних QTL для 10 ознак накопичення фосфору коренем або пагоном, 9 QTL для щільності та 8 QTL для довжини кореневих волосків й ексудації протонів [9].

Визначено низку компонентів, що беруть участь у регуляції реакцій рослини на дефіцит фосфору. Головну роль у регуляції відіграють фактори транскрипції (ФТ), а на посттранскрипційному рівні діють мікроРНК. Багато ФТ ідентифіковано. Вони регулюють гени, які беруть участь у поглинанні фосфору коренями та ремобілізації, а також мобілізації фосфору в ґрунті [10]. ФТ зв'язуються з *cis*-елементами промоторів генів, експресія яких змінюється у відповідь на нестачу P [6].

Проаналізовано послідовність A (NF-YA), B (NF-YB) і C (NF-YC) субодиниць ССААТ-зв'язувального ядерного фактора транскрипції (NF-Y) пшениці (*Triticum aestivum* L.), досліджено їх реакції на наявність P у проростках. Визначенням послідовності та клонуванням гена ідентифіковано 18 NF-YA, 34 NF-YB і 28 NF-YC генів [21, 29]. Експресія більшості NF-YA генів позитивно відреагувала на низьку доступність P. На противагу цьому мікроРНК169 негативно відреагувала на низьку доступність P й деградувала NF-YA. Гіперекспресія *TaNFYA-B1* на хромосомі 6B, індукована низьким вмістом P, значно підвищила його поглинання і врожайність зерна за різних рівнів елемента в польовому досліді [45]. Збільшення поглинання P може бути результатом того, що гіперекспресія *TaNFYA-B1* стимулює розвиток кореневої системи, зокрема бічне розгалуження коренів, підвищує експресію транспортерів фосфатів родини PHT1 у коренях. Припускається, що *TaNFYA-B1* відіграє істотну роль у розвитку кореневої системи й використанні P пшеницею.

МікроРНК169 й NF-YA є важливими регуляторами розвитку головного і бічних коренів. Однак молекулярні механізми, за допомогою яких miR169/NF-YA регулюють розвиток кореневої системи, остаточно не з'ясовані. Згідно з результатами [29], *TaNF-YA-B1*, ймовірно, впливає на біосинтез ауксину, що сприяє розвитку бічних коренів.

Блок PRR1 є фактором транскрипції MYB, який зв'язується з недосконалою паліндромною послідовністю (P1BS; GNATATNG), що знаходиться в промоторній ділянці багатьох генів, експресія яких реагує на нестачу P. Вони включають гени, що кодують ФТ, протеїнкінази, транспортери P_i, РНКазы, фосфатази, метаболічні ферменти і ферменти, задіяні в синтезі сульфо- й галактоліпідів [11].

Функція мікроРНК — регуляція багатьох залежних генів, що беруть участь в PSR, а також слугують сигнальними молекулами в реакції адаптації. Після утворення комплементарного комплексу мікроРНК з мРНК відбувається розщеплення мРНК або пригнічення її трансляції [1, 10].

Важливу роль у підтриманні гомеостазу P_i на рівні його надходження, розподілу і ремобілізації відіграє miR399. За дефіциту фосфору miR399 діє як позитивний регулятор — сприяє поглинанню P_i та його транслокації від кореня до пагона. Цільовий ген miR399 кодує убіквітинзв'язаний E2 фермент PNO2/UBC24. МікроРНК399 міститься у флоемі й передається до кореня як системний сигнал для регулювання корневих реакцій на дефіцит P [1, 10, 34]. Інша мікроРНК — miR827 — також є позитивним регулятором у пагонах і коренях за нестачі P. Однією з мішеней At-miR827 є ген, що кодує убіквітин-E3-лігазу, яка збільшує поглинання і вміст P_i, особливо за низької доступності азоту та високої — фосфору, відносно рослин дикого типу [10, 34, 45].

Нестача P може призводити до негативної регуляції таких мікроРНК, як miR169, miR395, miR398. Ці мікроРНК реагують також на інші елементи та абіотичні стреси. З'ясування їх специфічної ролі в метаболізмі фосфору потребує подальших досліджень [10].

Комплексність і критерії ознаки ефективності використання фосфору. Велика кількість потенційних взаємодій різних чинників впливає на врожайність. Фосфорне живлення рослин складне, тому що доступність і поглинання P залежать від взаємодії ґрунту; рослини і мікроорганізмів. Відносна значущість різних процесів та ефективність різних характеристик рослин, ймовірно, змінюються залежно від типу ґрунту, умов вирощування сільськогосподарських культур, погодних умов. Однак PUE можна розділити на ознаки, придатні для скринінгу та відбору. Серед них будова кореня й такі фізіологічні характеристики, як рівень виділення корневих ексудатів — кислот і фосфатаз, що забезпечують ефективніше поглинання P з ґрунту [10, 37].

Визначення ефективності фосфорного живлення рослин зазвичай спрямоване на два основні процеси: поглинання P з ґрунту та перетворення поглиненого P на кінцевий продукт (біомасу, зерно).

P-ефективні сільськогосподарські культури в ідеалі мають використовувати більшу частину P, що вноситься кожен сезон. Однак це трапляється рідко, оскільки фосфор зв'язується в ґрунті й переходить у недоступні для рослин форми. Поглинання P обмежується через уповільнення поповнення пулу розчинного фосфору, доступного рослинам. Повторні внесення фосфорних добрив протягом року здатні підвищити загальний рівень P в ґрунті й наситити реакції видалення P з роз-

чинного пулу. Після цього ефективність використання Р може зрости, проте ця стратегія потребує великих довгострокових інвестицій [4, 6, 32].

Ефективність фосфорного живлення культур можна підвищити за допомогою різних підходів, потенційних джерел, у тому числі й використання результатів вивчення біології ґрунтів, зміни в технології удобрення, вдосконалення методів регулювання добривами, а також генетичного поліпшення культурних рослин з метою ефективнішого поглинання й використання Р з ґрунту і добрив або забезпечення можливості використання складнодоступних неорганічних та органічних форм Р. Вдосконалення фосфорного живлення має вирішальне значення для майбутнього глобального сільськогосподарського виробництва. Загальне підвищення PUE рослинами вресіті-решт може привести до інтеграції цілої низки різних підходів щодо створення ефективнішої системи землеробства [10].

Прогрес у галузі генетичного поліпшення PUE ускладнений відсутністю загальноприйнятих шляхів її визначення. Число локусів QTL у дослідженнях змінюється залежно від рекомбінантної інбредної лінії досліджуваної популяції та оцінних ознак [9]. Фенотипування для PUE ускладнюється через труднощі визначення та ефективного детектування ознак надземних і підземних частин сільськогосподарських рослин. Сучасними методами культивування у ризотронах можна проводити тривимірне оцінювання кореня або кореневої діяльності [8, 37]. Набір ознак може включати довжину коренів, площу їх поверхні, загальне поглинання Р, ефективність його використання, урожай насіння, вміст фосфору в насінні.

Важливими аспектами кореневої архітектури є кількість і морфологія бічних коренів та їх локалізація. Особливими морфологічними ознаками для поглинання Р з ґрунту є щільність корневих волосків та їх довжина [10, 37]. Багато з цих ознак пов'язані між собою, численні критерії PUE зведені [10]. До них належать такі загальні критерії, як агрономічна PUE, ефективність використання, поглинання та надходження Р, фосфорний індекс урожаю, коефіцієнти ефективності фосфору, відносний вихід зерна, кореневий коефіцієнт ефективності.

Щоб мати аргументи на користь можливої ефективності конкретних QTLs, досліджень різних популяцій у межах виду недостатньо. Ще однією проблемою є розміри популяцій, які використовуються в багатьох дослідженнях. У невеликих популяціях, ймовірно, будуть ідентифіковані тільки QTLs із великим впливом, їх ефект може виявитись надмірно завищеним. Водночас комплексність фосфорного живлення, сильний вплив навколишнього середовища на доступність і поглинання рослинами Р з ґрунту означають, що націлювання на один конкретний механізм для поліпшення поглинання і використання рослинами Р забезпечить невеликий успіх у комерційних умовах. Отже, найліпших результатів можна досягти лише при поєднанні кількох ознак [10].

Біотехнологічні методи підвищення PUE. Зважаючи на вищезазначені морфологічні ознаки, що змінюються у рослині у відповідь на дефіцит доступного фосфору в ґрунті, можна проводити селекцію за ними. Оскільки корені є основним органом для поглинання Р з ґрунту, селекція за умов низької його концентрації має враховувати кореневу морфологію та інші кореневі характеристики. Зокрема корені та кореневі

волоски разом із мікоризою відповідальні за віднайдення поживної речовини у різних шарах ґрунту. Оскільки фосфору міститься більше у верхніх шарах більшості неудобrenих ґрунтів, селекція на толерантність до низького вмісту доступного Р для ефективного його поглинання має враховувати кут нахилу розміщення кореня, або геотропізм, і кількість бічних коренів відносно головних у кореневій системі [9].

Інформацію щодо генів, залучених до реакції на дефіцит Р, можна застосовувати в селекційних підходах за допомогою маркерів. Ефективність селекційних підходів слід оцінювати за різних польових умов [37]. В ідеалі сорт має формувати високий урожай за низького рівня доступного Р, а також реагувати на вищі рівні фосфору в ґрунті. Отже, замість одного критерію PUE ліпше характеризувати генотипи за їх відносною реакцією на рівень Р, а також урожаєм генотипу за нестачі Р. Використання цих двох підходів дає змогу розглядати потенціал урожайності сорту та його чутливість до дефіциту Р_i одночасно [10]. Деякі рослини можуть обходитися меншою кількістю Р і продукувати таку ж загальну біомасу або вихід зерна. Ця різниця допоможе селекціонеру обрати стійкі до дефіциту Р генотипи, спираючись переважно на сумарний вихід Р_i в ґрунтах із низьким вмістом доступного Р, а не на його рівень у рослині чи механізми його поглинання [9].

Генетично модифіковані рослини з високими рівнями PUE. Використання генетичних ресурсів рослин для виробництва продовольства і ведення сільського господарства — центральне питання в контексті сталого розвитку, змін клімату і досягнення продовольчої безпеки. Крім підвищення врожайності сільськогосподарських культур генетично модифіковані рослини здатні зменшити тиск інтенсифікації рослинництва та скорочення сівозмін на біорізноманіття, забезпечити використання ґрунтів із низьким рівнем родючості [23].

Перспективним є створення культурних рослин, зокрема зернових, Р-ефективних сортів, які здатні ефективно засвоювати Р та використовувати добрива. Вважають, що маніпулювання експресією генів з метою нівелювання впливу дефіциту Р у навколишньому середовищі може підвищити ефективність поглинання і споживання Р рослиною, знизити потребу в фосфорних добривах [10, 13, 22, 27, 29].

Біотехнології мають значні переваги для поліпшення багатьох ознак. Проте складність процесів взаємодії ґрунту й рослин, які впливають на фосфорний гомеостаз культур, а також неповна інформація щодо генетичного контролю PUE та його фізіологічної й молекулярної основи обмежують прогрес. Численні чинники можуть впливати на PUE шляхом складних взаємодій між різними процесами. Чи здатні ці потенційні цільові ознаки поліпшити PUE, необхідно перевіряти як у контрольованих, так і в польових умовах. Дослідження такої комплексної ознаки, як PUE, потребує довгострокових інвестицій. Поєднання нових методів і технологій із традиційними методами селекції рослин, фізіології рослин, ґрунтознавства та агрономії забезпечує розширення можливостей для вивчення генетичних відмінностей у PUE та зв'язку генотипу й фенотипу [10].

Фосфіти. Перспективний шлях поліпшення фосфорного живлення культурних рослин запропонували Геррера-Естрелла та співавт. [17]. Він полягає у створенні трансгенних рослин, які здатні метаболізувати фосфіти (Ph₂) як джерело Р з одночасним використанням Ph₂ як фосфор-

них добрив. Водорозчинний Ph_1 швидко надходить до рослин та легко рухається як базипетально, так і акропетально. Трансгенні рослини при цьому отримують конкурентну перевагу над деякими ґрунтовими мікроорганізмами і бур'янами, які нездатні засвоювати Ph_1 . Важливою є перевага застосування Ph_1 , що полягає в його фунгіцидній та гербіцидній дії у дозах від 5—15 кг/га, економічній доцільності використання Ph_1 , зниженні доз внесення пестицидів до агрофітоценозів, утворенні пулів важливих метаболітів (НАДН, P_i) [3, 16].

Водночас цільовим і селективним геном у розглянутій системі може бути ген *ptxD* із *Pseudomonas stutzeri* WM88, що кодує НАД-фосфатдегідрогеназу, яка окиснює Ph_1 до P_i , або ген *htxA*, що кодує гіпофосфатдегідрогеназу. Метаболічну здатність перетворювати Ph_1 на P_i крім зазначеного мікроорганізму мають ізоляти *Escherichia coli*, *Bacillus caldolyticus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas fluorescens*. Ген може переноситись шляхом агробактеріальної трансформації [18, 24, 38].

Отже, створення і використання трансгенних культурних рослин, здатних засвоювати Ph_1 як джерело фосфору — перспективний крок у підвищенні ефективності його засвоєння культурними рослинами, зниженні вартості систем живлення і захисту.

Таким чином, фосфор — важливий макроелемент для рослин, нестача якого в ґрунті істотно лімітує отримання високих урожаїв у рослинництві. Гомеостаз фосфору в рослинах підтримують складні комплексні системи поглинання, транспортування та ремобілізації ортофосфату. P_i , зміни гормонального статусу, мікроРНК, мРНК та цукри сигнальних систем на рівні кореневої системи, пагона—кореня, які передаються як ксилемою, так і флоемою, координують реакцію на дефіцит P_i на рівні рослини. Серед шляхів підвищення PUE найперспективнішими є біотехнологічні підходи. Використанням вектора перетворення фосфіту на фосфат створено генетично модифіковані рослини кукурудзи, сої, бавовнику, здатні поглинати фосфіт як добриво в посівах культурних рослин. Результати молекулярних досліджень фосфорного живлення культурних рослин уможливили створення генотипів культурних рослин і технологій їх вирощування з високими рівнями PUE, що істотно підвищило економічну доцільність рослинництва, знизило хімічне навантаження на агрофітоценози.

1. Бари А.А., Атамбаева Ш.А., Оразова С.Б. и др. МикроРНК при стрессе у растений // Вестн. Каз. нац. ун-та. Сер. биол. — 2011. — № 4 (50). — С. 34—37.
2. Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М. Генетический контроль признаков, связанных с усвоением фосфора у сортов риса (*Oryza sativa* L.) // Вавиловский журн. генетики и селекции. — 2015. — № 19 (2). — С. 197—204.
3. Грабчук С.М., Швартау В.В. Застосування фосфіту у фосфорному живленні рослин // Матеріали XI Всеукр. наук.-практ. конф. «Біотехнологія XXI століття». — Київ, 21 квітня 2017: МОНУ, ІМЗО, НТУУ «КПІ» ім. Ігоря Сікорського НАНУ, ІКБГІ, 2017. — С. 21.
4. Моргунов В.В., Швартау В.В., Кириций Д.А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — 42, № 5. — С. 371—393.
5. Применение физиологии растений в селекции пшеницы / Пер. с англ. под ред. В.В. Моргуна. — Киев: Логос, 2007. — 492 с.
6. Швартау В.В., Гуляев Б.И., Карлова А.Б. Особенности реакции растений на дефицит фосфора // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — 41, № 3. — С. 208—220.

7. Швартау В.В., Зозуля О.Л., Михальська Л.М., Санін О.Ю. Фузариози культурних рослин. — К.: Логос, 2016. — 164 с.
8. Balyan H.S., Gahlaut V., Kumar A. et al. Nitrogen and phosphorus use efficiencies in wheat: physiology, phenotyping, genetics, and breeding / Ed. J. Janick // *Plant breeding reviews* Vol. 40. — Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2016. — P. 167–234.
9. Blair M.W. Breeding approaches to increasing nutrient-use efficiency: examples from common beans / Ed Zed Rengel // *Improving water and nutrient-use efficiency in food production systems*. — Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2013. — P. 161–175.
10. Bovill W.D., Huang C.Y., McDonald G.K. Genetic approaches to enhancing phosphorus-use efficiency (PUE) in crops: challenges and directions // *Crop. Pasture Sci.* — 2013. — N 64. — P. 179–198.
11. Bunemann E., Oberson A., Frossard E. (eds). Phosphorus in action — biological processes in soil phosphorus cycling // *Soil Biology*. — Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. — 2011. — 26. — 483 p.
12. Dhillon J., Torres G., Driver E. et al. World phosphorus use efficiency in cereal crops // *Agr. J.* — 2017. — 109/4. — P. 1670–1677.
13. Hammond J.P., Broadley M.R., White P.J. Genetic responses to phosphorus deficiency // *Ann. Bot.* — 2004. — 94/3. — P. 323–332.
14. Hasan Md.M., Hasan Md.M., Teixeira da Silva J.A., Licorresponding X. Regulation of phosphorus uptake and utilization: molecular advances to practical strategies // *Cell. Mol. Biol. Lett.* — 2016. — 21(7).
15. Hermans C., Hammond J.P., White P.J., Verbruggen N. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? // *Trends Plant Sci.* — 2006. — N 11(12). — P. 610–617.
16. Heuer S., Gaxiola R., Schilling R. et al. Improving phosphorus use efficiency: a complex trait with emerging opportunities // *Plant J.* — 2017. — 90(5). — P. 868–885.
17. Lopez-Arredondo D.L., Herrera-Estrella L. Engineering phosphorus metabolism in plants to produce a dual fertilization and weed control system // *Nature Biotech.* — 2012. — N 30(9). — P. 889–895.
18. Lopez-Arredondo D.L., Herrera-Estrella L. A novel dominant selectable system for the selection of transgenic plants under in vitro and greenhouse conditions based on phosphite metabolism // *Plant Biotechnol. J.* — 2013. — 11. — P. 516–525.
19. Lopez-Arredondo D., Leyya-Gonzalez M.A., Gonzalez-Morales S.I. et al. Phosphate nutrition: improving low-phosphate tolerance in crops // *Annu. Rev. Plant Biol.* — 2014. — N 65. — P. 95–123.
20. Lun F., Liu J., Ciais P. et al. Global and regional phosphorus budgets in agricultural systems and their implications for phosphorus-use efficiency // *Earth System Science Data Discuss.* — 2017. — P. 1–45. <https://doi.org/10.5194/essd-2017-41>, in review, 2017.
21. Ma X., Li C., Wang M. Wheat NF-YA10 functions independently in salinity and drought stress // *Bioengineered.* — 2015. — 6:4. — P. 245–247. <http://dx.doi.org/10.1080/21655979.2015.1054085>.
22. McDonald G., Bovill W., Taylor J., Wheeler R. Responses to phosphorus among wheat genotypes // *Crop. Pasture Sci.* — 2015. — N 66. — P. 430–444.
23. Moreta D.E., Mathur P.N., van Zonneveld M. et al. Current issues in cereal crop biodiversity // *Adv. Biochem. Biotechnol.* — 2015. — 147. — P. 1–35.
24. Nahampun H.N., Lopez-Arredondo D., Xu X. et al. Assessment of ptxD gene as an alternative selectable marker for *Agrobacterium*-mediated maize transformation // *Plant Cell Rep.* — 2016. — 35(5). — P. 1121–1132. <https://doi.org/10.1007/s00299-016-1942-x>.
25. Neset T.-S.S., Cordell D., Andersson L. The flow of phosphorus in food production and consumption systems / Ed. Zed Rengel // *Improving water and nutrient-use efficiency in food production systems*. — Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2013. — P. 79–91.
26. Neto A.P., Favarin J.L., Hammond J.P. et al. Analysis of phosphorus use efficiency traits in *Coffea* genotypes reveals *Coffea arabica* and *Coffea canephora* have contrasting phosphorus uptake and utilization efficiencies // *Front. Plant Sci.* — 2016. — N 7, Art. 408.
27. Nisan A., Khan S.U., Shah A.H. Screening and evaluation of wheat germplasm for phosphorus use efficiency // *Iran J. Sci. Technol. Trans. Sci.* — 2016. — 40. — P. 201–207.
28. Poirier Y., Jung J.-Y. Phosphate transporters / Ed. W.C. Plaxton, H. Lambers // *Annual Plant Reviews. Phosphorus metabolism in plants*. — Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2015. — 48. — P. 125–158.
29. Qu B., He X., Wang J. et al. Wheat CCAAT box-binding transcription factor increases the grain yield of wheat with less fertilizer input // *Plant Physiol.* — 2015. — 167(2). — P. 411–423.

30. *Quraishi U.M., Abrouk M., Murat F. et al.* Cross-genome map based dissection of a nitrogen use efficiency ortho-metaQTL in bread wheat unravels concerted cereal genome evolution // *Plant J.* — 2011. — N 65. — P. 745–756.
31. *Raghothama K.G., Karthikeyan A.S.* Phosphate acquisition // *Plant Soil.* — 2005. — 274:37. [https:// doi.org/10.1007/s11104-004-2005-6](https://doi.org/10.1007/s11104-004-2005-6).
32. *Ryan P.R., Liao M., Delhaize E. et al.* Early vigour improves phosphate uptake in wheat // *J. Exp. Bot.* — 2015. — N 66(22). — P. 7089–7100.
33. *Shabnam R., Iqbal M.T.* Phosphorus use efficiency by wheat plants that grown in an acidic soil // *Braz. J. Sci. Technol.* — 2016. — 3:18. [https:// doi.org/10.1186/s40552-016-0030-7](https://doi.org/10.1186/s40552-016-0030-7).
34. *Smith A.P., Fontenot E.B., Zahraeiard S., DiTusa S.F.* Molecular components that drive phosphorus remobilisation during leaf senescence / Ed. W.C. Plaxton, H. Lambers // *Annual Plant Reviews. Phosphorus metabolism in plants.* — Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2015. — **48**. — P. 159–186.
35. *Suzuki M., Takahashi M., Tsukamoto T. et al.* Biosynthesis and secretion of mugineic acid family photosiderophores in zinc-deficient barley // *Plant J.* — 2006. — **48(1)**. — P. 85–97.
36. *Tian J., Liao H.* The role of intracellular and secreted purple acid phosphatases in plant phosphorus scavenging and recycling / In: W.C. Plaxton, H. Lambers, editors // *Annual Plant Reviews. Phosphorus metabolism in plants.* — Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2015. — **48**. — P. 265–288.
37. *Van de Wiel C.C.M., van der Linden C.G., Scholten O.E.* Improving phosphorus use efficiency in agriculture: opportunities for breeding // *Euphytica.* — 2016. — N 207(1). — P. 1–22.
38. *White A.K., Metcalf W.W.* Microbial metabolism of reduced phosphorus compounds // *Annu. Rev. Microbiol.* — 2007. — N 61. — P. 379–400.
39. *White P.J., Veneklaas E.J.* Nature and nurture: the importance of seed phosphorus content // *Plant Soil.* — 2012. — N 357. — P. 1–8.
40. *Wu H., Gao L., Yuan Z., Wang S.* Life cycle assessment of phosphorus use efficiency in crop production system of three crops in Chaohu Watershed, China // *J. Cleaner Production.* — 2016. — **139**. — P. 1298–1307.
41. *Yaseen M., Aziz M.Z., Manzoor A. et al.* Promoting growth, yield and phosphorus use efficiency of crops in maize-wheat cropping system by using polymer coated diammonium phosphate // *Communications in Soil Science and Plant Analysis.* — 2017. — P. 646–655. [http:// dx.doi.org/10.1080/00103624.2017.1282510](http://dx.doi.org/10.1080/00103624.2017.1282510).
42. *Yan H.M., Bkackwell M., McGrath S. et al.* Morphological responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) roots to phosphorus supply in two contrasting soils // *J. Agr. Sci.* — 2016. — **154**. — P. 98–108.
43. *Yuan Y., Guo K., Dong B. et al.* A study on phosphorus use efficiency of wheat // *Asian Agricult. Res.* — 2016. — **8(5)**. — P. 80–87.
44. *Zhang H., Wang H.* QTL mapping for traits related to P-deficient tolerance using three related RIL populations in wheat // *Euphytica.* — 2014. — N 203(3). — P. 505–520.
45. *Zhang Z., Liao H., Lucas W.J.* Molecular mechanisms underlying phosphate sensing, signaling, and adaptation in plants // *J. Integr. Plant Biol.* — 2014. — **56**. — P. 192–220.

Отримано 04.12.2017

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОСФОРНОГО ПИТАНИЯ РАСТЕНИЙ

С.Н. Грабчук, Л.Н. Михальская, В.В. Швартау

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Фосфор — важный макроэлемент для растений, дефицит которого в почве существенно лимитирует получение высоких урожаев. Гомеостаз фосфора в растениях поддерживают сложные комплексные системы поглощения, транспортировки и ремобилизации ортофосфата. Сигнальные системы на уровне корня, стебля—корня базипетального и акропетального направления включают градиент P_i , изменения гормонального статуса, микроРНК, мРНК, сахара, координируют реакцию на дефицит P_i на уровне растения. Среди путей повышения эффективности использования фосфора (P-use efficiency — PUE) наиболее перспективными являются биотехнологические подходы. С помощью вектора превращения фосфита в фосфат созданы генетически модифицированные растения кукурузы, сои, хлопчатника, способные использовать фосфит в качестве удобрения. Результаты молекулярных исследований фосфорного питания культурных растений дали возможность создать гено-

типы растений и технологии их выращивания с высокими уровнями PUE, что существенно повышает экономическую эффективность растениеводства и снижает химическую нагрузку на агрофитоценозы.

WAYS TO IMPROVE THE EFFICIENCY OF PHOSPHORUS NUTRITION IN PLANTS

S.M. Grabchuk, L.M. Mykhalska, V.V. Schwartau

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

Phosphorus is an important macroelement for plants, and its lack in soil significantly limits the yield of crops. To maintain homeostasis of phosphorus in plants there are complex systems for the absorption, transport and remobilization of orthophosphate. Signal systems at the root level, the shoot-root level, that include P_i , changes in the hormonal status, miRNAs, mRNAs, and sugars, coordinate the response to P_i deficiency at the plant level. Among the ways to increase PUE, biotechnology approaches are the most promising. The use of the vector of phosphite conversion into phosphate has allowed the creation of corn, soybean, cotton GM plants, which can use phosphite as a fertilizer. Results of molecular researches of phosphorus nutrition of cultivated plants allow to create genotypes of cultivated plants and technology of their cultivation with high levels of PUE, that significantly increase the economic efficiency of plant growing and reduces the chemical load on agrophytocenoses.

Key words: phosphate nutrition, phosphite, orthophosphate.