

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин біотехнології та екології

ПОГОДЖЕНО

**Декан факультету захисту
рослин, біотехнологій та екології**

Юлія КОЛОМІЄЦЬ

(підпис)

«__» _____ 20__ р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

**Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики**

Світлана ПРИЛУЦЬКА

(підпис)

«__» _____ 20__ р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «Фізіологічні зміни інтенсивності фотосинтезу рослин пшениці в
умовах стресу»**

Спеціальність 162 «Біотехнологія і біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнологія і біоінженерія»

Гарант освітньої програми

кандидат біологічних наук,
доцент

Олена КВАСКО

(підпис)

**Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи**

кандидат сільськогосподарських
наук, доцент

Наталія НЕСТЕРОВА

(підпис)

Виконав

Максим НЕЧАЙ

(підпис)

Київ – 2026

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин біотехнології та екології**

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри
фізіології, біохімії рослин та
біоенергетики

_____Світлана ПРИЛУЦЬКА
(підпис)

«_____» _____ 2026 р.

**З А В Д А Н Н Я
ДО ВИКОНАННЯ БАКАЛАВРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ
ЗДОБУВАЧУ**

Нечаю Максиму Олеговичу

Спеціальність 162 «Біотехнологія і біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології та біоінженерія»

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи

«Фізіологічні зміни інтенсивності фотосинтезу рослин пшениці в умовах стресу»
Затверджена наказом від «30» жовтня 2025 року №2596 «С». Термін подання
завершеної роботи на кафедру «22» травня 2026 р.

Вихідні дані до бакалаврської-кваліфікаційної роботи: насіння пшениці сорту
«Миронівська 808», літературні та інтернет джерела, загальноприйняті методики
досліджень.

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Які основні фізіологічні зміни фотосинтетичного апарату пшениці відбуваються в умовах абіотичного стресу?
2. Які різні абіотичні стресові фактори впливають на інтенсивність фотосинтезу рослин пшениці?
3. Які механізми адаптації забезпечують стійкість фотосинтетичного апарату пшениці до стресових умов?
4. Яке практичне значення має дослідження змін фотосинтезу пшениці для підвищення її стресостійкості та продуктивності? Дата видачі завдання «9» вересня 2025 р.

**Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи**

(підпис)

Наталія НЕСТЕРОВА

Завдання взяв до виконання

(підпис)

Максим НЕЧАЙ

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота виконана на тему «Фізіологічні зміни інтенсивності фотосинтезу рослин пшениці в умовах стресу» в обсязі 50 сторінках комп'ютерного тексту формату А4, містить 2 рисунка, 3 таблиці, 30 використаних джерела. Складається з наступних розділів:

1. Огляд літератури;
2. Матеріали та методи;
3. Результати дослідження та їх обговорення

Метою даної роботи є вивчення впливу абіотичного стресу на фізіологічні зміни інтенсивності фотосинтезу пшениці.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

1. Проаналізувати функціональні характеристики фотосинтетичного апарату пшениці.
2. Дослідити вплив основних абіотичних стресів на показники фотосинтезу.
3. Оцінити зміни пігментних комплексів, флуоресценції хлорофілу та рівнів окислювального пошкодження.

Об'єктом дослідження є фотосинтетичний апарат рослин пшениці в умовах дії абіотичних стресових факторів.

Предмет дослідження є фізіологічні та біохімічні зміни інтенсивності фотосинтезу, вмісту фотосинтетичних пігментів, параметрів флуоресценції хлорофілу та рівня окисного пошкодження у рослинах пшениці за умов стресу.

У роботі застосовано такі методи дослідження, як газометричні, спектрофотометричні, флуориметричні, фізіолого-біохімічні та статистичні.

ЗМІСТ

Вступ	6
РОЗДІЛ 1. ФОТОСИНТЕЗ ПШЕНИЦІ ЯК ОБ'ЄКТ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	8
1.1. Загальна характеристика фотосинтетичного апарату та молекулярні механізми фотосинтезу.....	8
1.2. Показники інтенсивності фотосинтезу та методи їх визначення у злакових культур.....	10
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	16
2.1 Об'єкт дослідження	16
2.2 Методи дослідження.....	18
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	21
3.1 Вплив абіотичних стресових факторів на показники фотосинтезу	21
3.2 Порівняльна оцінка результатів та їх інтерпретація	25
3.3. Розрахунок чистого фотосинтезу, фотосинтетичного потенціалу та вмісту пігментів за різних умов стресу	28
3.4. Статистична обробка експериментальних даних та аналіз вірогідності отриманих результатів	32
ВИСНОВКИ	41
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	43

ВСТУП

Актуальність. Пшениця є однією з найважливіших продовольчих культур у світі, що становить значну частку раціону людини. З огляду на зростання частоти глобального потепління, посухи, спеки, засолення ґрунту та забруднення важкими металами, забезпечення врожайності пшениці є особливо важливим. Фотосинтез, як основа продуктивності рослин, надзвичайно чутливий до стресових факторів, а їх пригнічення безпосередньо впливає на врожайність. Тому вивчення змін фотосинтезу пшениці в стресових умовах має велике значення як для фундаментальної науки, так і для сільськогосподарської практики. Хоча вже існує велика кількість даних про вплив окремих стресових факторів на фотосинтез рослин, комплексні дослідження змін інтенсивності фотосинтезу пшениці за таких стресів, як дефіцит води, висока температура, засолення та забруднення важкими металами, залишаються важливими. Особливий інтерес викликає те, як фотосинтетичний апарат та антиоксидантні системи адаптуються до комбінованого впливу кількох стресів, що є типовим сценарієм в агроєкосистемах. Дослідження цих процесів має не лише теоретичне, але й практичне значення, оскільки закладає основу для виведення стійких до хвороб сортів та вдосконалення сільськогосподарських методів для зменшення втрат врожаю.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є комплексне дослідження фізіологічних змін інтенсивності фотосинтезу рослин пшениці в умовах дії основних абіотичних стресових факторів – водного дефіциту, температурного стресу, засолення ґрунту і забруднення важкими металами – та встановлення кількісних закономірностей між інтенсивністю стресового впливу і ступенем пригнічення фотосинтетичної активності.

Для досягнення поставленої мети визначено такі завдання:

1. Охарактеризувати структурно-функціональну організацію фотосинтетичного апарату пшениці та молекулярні механізми фотосинтезу.

2. Проаналізувати основні показники інтенсивності фотосинтезу та методи їх визначення у злакових культур.
3. Встановити механізми впливу водного дефіциту і температурного стресу на фотосинтетичну активність пшениці.
4. Дослідити характер змін пігментного комплексу і продуктивності фотосинтезу під дією засолення ґрунту та важких металів.
5. Розкрити фізіолого-біохімічні механізми адаптації хлоропластів і антиоксидантної системи до дії стресових факторів.
6. Провести кількісну оцінку змін чистого фотосинтезу, фотосинтетичного потенціалу і вмісту пігментів за різних умов стресу та здійснити статистичну обробку отриманих даних.

Об'єкт дослідження: фотосинтетичний апарат рослин пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.) сорту Миронівська 808 в умовах дії абіотичних стресових факторів.

Предмет дослідження: фізіологічні і біохімічні зміни інтенсивності фотосинтезу, вмісту фотосинтетичних пігментів, параметрів флуоресценції хлорофілу та активності антиоксидантних систем хлоропластів рослин пшениці за умов водного дефіциту, температурного стресу, засолення і дії важких металів.

РОЗДІЛ 1. ФОТОСИНТЕЗ ПШЕНИЦІ ЯК ОБ'ЄКТ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

1.1. Загальна характеристика фотосинтетичного апарату та молекулярні механізми фотосинтезу

Фотосинтез – це процес, за допомогою якого світлова енергія перетворюється на енергію для органічних сполук у присутності вуглекислого газу та води. У пшениці фотосинтез відбувається в хлоропластах – органелах з подвійною мембраною. Строма хлоропласту містить ферменти циклу Кальвіна, тоді як тилакоїдна мембрана та її грана містять пігментні та білкові комплекси, відповідальні за поглинання та початкове перетворення світлової енергії. Пігментна система фотосинтезу включає хлорофіл та каротиноїди. У пшениці основними пігментами є хлорофіл а та хлорофіл b, які поглинають різні частини світлового спектру. Каротиноїди не тільки передають енергію хлорофілу, але й мають фотозахисну функцію, запобігаючи пошкодженню клітин активними формами кисню. Фотосинтетичний апарат складається з чотирьох основних суперкомплексів на тилакоїдній мембрані: фотосистем I та II, цитохромного комплексу b6f та АТФ-синтази. У фотосистемі II вода піддається фотолізу, вивільняючи кисень, протони та електрони, тоді як фотосистема I відповідає за відновлення NADP^+ до NADPH [15, 16, 25, 26, 28].

Електрони переносяться між фотосистемами через Z-ланцюг, а результируючий протонний градієнт забезпечує синтез АТФ. Під час фотореакції генеруються АТФ та NADPH , які беруть участь у циклі Кальвіна для фіксації CO_2 та синтезу органічних сполук за участю RuBiSKO [4, 15, 19].

Пшениця є рослиною C_3 , а її основним продуктом карбоксилювання є 3-фосфогліцерат. Цей шлях характеризується взаємодією RuBiSKO як з CO_2 , так і з O_2 , що призводить до фотодихання та зниження ефективності фотосинтезу. Тому фотосинтетичний апарат пшениці дуже чутливий до змін навколишнього

середовища, а його дисфункція може впливати на врожайність рослин . Посуха є одним із найнебезпечніших абіотичних стресів, з якими стикається пшениця, оскільки вона обмежує надходження вуглекислого газу через закриття продихів, знижує ефективність карбоксилювання та посилює фотодихання . Тривала нестача води призводить до деградації хлорофілу, пошкодження тилакоїдних мембран та фотоінгібування фотосистеми II. Здатність відновлюватися після цього стресу залежить від тривалості стресу та генотипу рослини [4,6-8, 10, 19, 24, 27, 30].

Температурний стрес значно порушує фотосинтез у пшениці. Високі температури інактивують ферменти циклу Кальвіна, дестабілізують тилакоїдні мембрани та посилюють фотодихання, тоді як низькі температури пригнічують транспорт електронів та сприяють утворенню активних форм кисню. Адаптація до цього середовища включає зміни складу мембран, синтез стресових білків та активацію антиоксидантних ферментів. [8, 9, 10, 25]

Важкі метали негативно впливають на фотосинтетичний апарат пшениці, порушуючи структуру хлорофілу, інактивуючи ферменти циклу Кальвіна та перешкоджаючи нормальному функціонуванню фотосистеми II. Крім того, важкі метали можуть призводити до надмірного утворення активних форм кисню, порушуючи гормональний баланс та пригнічуючи синтез фотосинтетичних білків [1, 11, 13, 22, 26].

Антиоксидантні системи є ключовим механізмом захисту фотосинтетичного апарату від оксидативного стресу. Ця система включає ферменти та низькомолекулярні компоненти, рівні активності яких у пшениці тісно корелюють зі стійкістю рослини до абіотичних стресів. Аскорбатглутатіоновий цикл відіграє вирішальну роль у захисті хлоропластів. [18, 23, 25, 26]

Сірководень (H_2S) та мелатонін вважаються регуляторними молекулами, здатними підвищувати стійкість пшениці до стресу та підтримувати фотосинтетичну активність. Вони допомагають захищати хлоропласти, зберігати

пігменти та можуть бути використані для підвищення врожайності сільськогосподарських культур у стресових умовах [2, 5, 20].

Вивчення механізмів фотосинтезу пшениці в стресових умовах є важливим для розробки методів підвищення врожайності. Сучасні фізіологічні та молекулярно-біологічні методи дозволяють ідентифікувати ключові механізми резистентності, і комплексне дослідження фотосинтезу необхідне для забезпечення продовольчої безпеки в умовах зміни клімату [4, 5, 8, 12, 19, 24, 30].

1.2. Показники інтенсивності фотосинтезу та методи їх визначення у злакових культур

Інтенсивність фотосинтезу є інтегральним показником функціональної активності фотосинтетичного апарату рослини і відображає швидкість перетворення світлової енергії на енергію хімічних зв'язків органічних речовин за одиницю часу на одиницю поверхні або маси листка. У фізіології рослин прийнято розрізняти валовий (брутто) фотосинтез і чистий (нетто) фотосинтез. Валовий фотосинтез – це сукупна швидкість фіксації вуглекислого газу або виділення кисню фотосинтетичним апаратом, яка включає як асимільований у процесі фотосинтезу вуглець, так і той, що одночасно витрачається на дихання клітини. Чистий фотосинтез являє собою різницю між валовим фотосинтезом і темновим диханням, тобто реально спостережуваний газообмін рослини із зовнішнім середовищем: $A_{\text{чист}} = A_{\text{вал}} - R_d$, де R_d – інтенсивність темного дихання. Для злакових культур, зокрема пшениці, типові значення чистого фотосинтезу за оптимальних умов становлять 15–30 $\mu\text{моль CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, хоча ці показники суттєво варіюють залежно від сорту, фази онтогенезу та умов вирощування [4, 15, 16, 19].

Одним із найважливіших інтегральних показників продуктивності фотосинтезу є фотосинтетичний потенціал (ФП) – величина, що характеризує сумарну фотосинтетичну діяльність посіву або окремої рослини протягом певного вегетаційного періоду. Фотосинтетичний потенціал визначається як

добуток площі листкової поверхні на тривалість її функціонування і виражається у $\text{м}^2 \cdot \text{дб}$ на рослину або на гектар: $\text{ФП} = \sum (\text{Сл} \times t)$, де Сл – площа листків, а t – час їх активної роботи. Цей показник є особливо важливим для оцінки продуктивності злакових культур, оскільки він дозволяє пов'язати між собою морфологічні характеристики рослини та кінцеву врожайність. Поряд із фотосинтетичним потенціалом широко використовується показник чистої продуктивності фотосинтезу (ЧПФ), що відображає приріст сухої маси рослини на одиницю площі листків за одиницю часу і розраховується за формулою: $\text{ЧПФ} = (W_2 - W_1) / ((S_1 + S_2)/2 \times (t_2 - t_1))$, де W_1 і W_2 – суха маса рослини у моменти часу t_1 і t_2 , а S_1 і S_2 – відповідні площі листкової поверхні. Для пшениці значення ЧПФ у фазу кущення – колосіння зазвичай знаходяться у межах $4\text{--}10 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{добу}^{-1}$ [4, 16, 19, 21].

Серед лабораторних методів визначення інтенсивності фотосинтезу у злакових культур ключове місце посідають газометричні методи, засновані на вимірюванні швидкості поглинання CO_2 або виділення O_2 листком у замкненій або відкритій газообмінній камері. Найсучаснішим і найточнішим є метод інфрачервоної газової аналітики (ІРГА), реалізований у портативних приладах типу LI-COR (LI-6400, LI-6800), що дозволяють у режимі реального часу вимірювати концентрацію CO_2 та H_2O у потоці повітря до і після проходження через листову камеру. Принцип методу ґрунтується на властивості молекул CO_2 та H_2O поглинати інфрачервоне випромінювання на специфічних хвилях ($4,26 \text{ мкм}$ для CO_2), що дозволяє з високою точністю реєструвати зміни їх концентрацій на рівні кількох $\text{мкмоль} \cdot \text{моль}^{-1}$. Перевагою газометричних методів є можливість одночасного визначення інтенсивності фотосинтезу, транспірації, провідності продохів і внутрішньоклітинної концентрації CO_2 (C_i), що дає змогу розрахувати карбоксилюючу ефективність і провести детальний аналіз лімітуючих факторів фотосинтезу [6, 7, 24, 27].

Важливою групою методів для оцінки функціонального стану фотосинтетичного апарату злакових є флуориметричні методи, засновані на аналізі флуоресценції хлорофілу а. Флуоресценція хлорофілу – це процес

випромінювання фотонів збудженими молекулами хлорофілу, що конкурує з фотохімічними реакціями та тепловою дисипацією енергії. Метод імпульсної амплітудної модуляції флуоресценції (РАМ-флуориметрія) дозволяє розрахувати ключові параметри ефективності роботи ФС II: максимальний квантовий вихід фотохімії ФС II у темноадаптованих листків ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$, норма 0,75–0,85 для здорових рослин), ефективний квантовий вихід у стані освітлення (ФФСII), коефіцієнт фотохімічного гасіння флуоресценції (qP) та нефотохімічного гасіння (NPQ) [30]. Зниження показника F_v/F_m є одним із найбільш надійних ранніх індикаторів пошкодження фотосинтетичного апарату внаслідок стресу, що робить РАМ-флуориметрію незамінним інструментом у дослідженнях стресової фізіології пшениці. Аналіз кривих індукції флуоресценції (ОІР-тест) дає ще детальнішу інформацію про стан окремих компонентів електронтранспортного ланцюга та реакційних центрів фотосистем [6, 8, 30].

Окрему групу методів становлять спектрофотометричні та біохімічні підходи до оцінки фотосинтетичної активності злакових культур. Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів – хлорофілів а і б та каротиноїдів – є стандартним і широко вживаним підходом, що базується на екстракції пігментів органічними розчинниками (ацетоном, диметилсульфоксидом або 96% етанолом) з подальшим вимірюванням оптичної густини екстракту при характеристичних довжинах хвиль. Концентрації пігментів розраховують за рівняннями Ліхтентхалера або Велбурна, а відношення хлорофіл а / хлорофіл б та загальний вміст хлорофілів слугують показниками структурного стану тилакоїдних мембран і ступеня деградації пігментного комплексу під впливом стресових факторів. Поряд із цим визначають активність ключових ферментів фотосинтезу – РуБіСКО, НАДФН-залежної гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази та фосфоенолпіруваткарбоксилази – за допомогою спектрофотометричних ензимологічних методів. Комплексне поєднання газометричних, флуориметричних і біохімічних підходів забезпечує всебічну кількісну характеристику фотосинтетичної активності рослин пшениці і є

методологічною основою сучасних досліджень впливу стресових факторів на функціонування фотосинтетичного апарату [4, 13, 16, 19, 28].

Важливим напрямом сучасних досліджень є вивчення світлової індукції газообміну листків пшениці – динамічного процесу, що відображає перехід фотосинтетичного апарату із темнового стану до стаціонарного освітленого режиму. У ході світлової індукції спостерігається характерна динаміка асиміляції CO₂: після увімкнення освітлення відбувається поступове зростання інтенсивності фотосинтезу з характерним лаговим періодом, тривалість якого залежить від попереднього темнового адаптування, вмісту CO₂ та стану активації ферментів циклу Кальвіна. В умовах посухи тривалість лагового періоду суттєво зростає, а рівень стаціонарного фотосинтезу знижується порівняно з контролем, що свідчить про порушення як стоматарної, так і нестоматарної регуляції фотосинтезу. Аналіз кривих світлової індукції газообміну у поєднанні з флуориметричними вимірюваннями дозволяє диференціювати стоматарні та нестоматарні компоненти обмеження фотосинтезу і є перспективним підходом для діагностики стану рослин у польових умовах [6, 7].

Вплив умов мінерального живлення, передусім азотного, на інтенсивність фотосинтезу та продуктивність пшениці є предметом активних досліджень, оскільки азот входить до складу хлорофілу, білків-ферментів і компонентів електронтранспортного ланцюга. Достатнє азотне живлення забезпечує формування розвиненого листкового апарату з високим вмістом хлорофілу та активним фотосинтетичним потенціалом, тоді як азотний дефіцит зумовлює хлороз, скорочення площі листової поверхні і зниження активності RuBisCO. Оптимізація азотного живлення є одним із ефективних агрономічних прийомів підвищення інтенсивності фотосинтезу і, відповідно, білковості та врожайності зерна пшениці. Важливо, що надлишок азоту може призводити до надмірного вегетативного росту за рахунок репродуктивних органів, що також негативно позначається на загальній продуктивності посіву [4, 21].

Дослідження фотосинтетичної активності злакових культур в умовах сольового стресу набуває особливого значення у зв'язку з прогресуючим

засоленням сільськогосподарських угідь у багатьох регіонах світу. Іони Na^+ і Cl^- у надмірних концентраціях призводять до осмотичного стресу, іонної токсичності та порушення іонного гомеостазу клітин, що в сукупності негативно впливає на роботу фотосинтетичного апарату. На ранніх етапах засолення переважає осмотичний компонент стресу – закривання продихів і обмеження надходження CO_2 , тоді як на пізніших стадіях визначальним стає іонна токсичність, яка спричиняє деградацію хлорофілу та структурні порушення у хлоропластах. Аналіз газообмінних параметрів, зокрема коефіцієнта водокористування (WUE – відношення асиміляції CO_2 до транспірації), є інформативним показником адаптації рослин до умов засолення [24, 29].

Порівняльний аналіз фотосинтетичних показників різних сортів і генотипів пшениці є важливим інструментом селекції на підвищену продуктивність і стресостійкість. Сучасні методи фенотипування рослин, що поєднують газообмінні вимірювання, РАМ-флуориметрію та дистанційне зондування з використанням безпілотних літальних апаратів і гіперспектральних камер, дозволяють здійснювати масовий скринінг великих селекційних колекцій за показниками функціонального стану фотосинтетичного апарату. Показники F_v/F_m , ФФСII та NPQ добре корелюють із польовою стійкістю сортів до теплового та посушного стресу, що робить флуориметрію цінним інструментом не лише у лабораторних, а й у польових дослідженнях. Інтегрування даних про фотосинтетичну продуктивність із геномними маркерами відкриває нові можливості для геномної селекції пшениці на підвищену ефективність використання ресурсів [5, 19, 30].

Застосування методу праймування рослин різними фізіологічно активними речовинами змінює реакцію фотосинтетичного апарату на наступний стрес і є перспективним підходом до підвищення стійкості злакових культур. Праймування насіння пшениці мелатоніном, пролін-вмісними сполуками або донорами H_2S перед посівом або обробка вегетуючих рослин покращує збереження хлорофілу, підтримує вищі значення F_v/F_m та інтенсивності газообміну в умовах наступного стресу. Ефект праймування пояснюється

переактивацією антиоксидантних систем, накопиченням осмопротекторів та індукцією стресових білків, що забезпечує швидшу і ефективнішу відповідь рослини на стресовий вплив. Контроль ефективності праймування здійснюється за допомогою стандартних методів оцінки фотосинтетичної активності – газометрії та флуориметрії – що підкреслює важливість методологічного арсеналу, описаного у цьому розділі [2, 3, 5, 6, 20, 30].

Таким чином, сучасна методологія оцінки інтенсивності фотосинтезу у злакових культур являє собою розгалужену систему взаємодоповнюючих підходів, кожен із яких відображає різні аспекти функціонування фотосинтетичного апарату. Поєднання газометричних вимірювань з ІРГАаналізом, РАМ-флуориметрії, спектрофотометричного визначення пігментів та ензимологічних методів дозволяє отримати комплексну картину фотосинтетичної активності рослини та виявити первинні й вторинні ланки її порушення під дією стресових факторів. Важливим є стандартизація умов проведення вимірювань – температури, освітленості, концентрації CO₂ – для забезпечення відтворюваності та порівнянності результатів між різними дослідженнями та лабораторіями. Розвиток автоматизованих фенотипувальних платформ і методів машинного навчання для обробки великих масивів фізіологічних даних є перспективним напрямом, що відкриває нові горизонти у вивченні фотосинтетичної продуктивності злакових і слугує науковою основою для подальшого вдосконалення агротехнологій [4, 5, 7, 19, 28, 30].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Об'єкт дослідження

У цьому дослідженні досліджувалися фізіологічні зміни інтенсивності фотосинтезу сорту озимої пшениці м'якої сорту Миронівська 808 (*Triticum aestivum* L.) за умов абіотичного стресу. Цей сорт був обраний завдяки його високій адаптивності, хорошій холодостійкості, стабільним господарським ознакам та широкому застосуванню у вітчизняній селекційній практиці. Миронівська 808 – це етіольований сорт середнього терміну дозрівання, зернистий тип, з висотою рослин приблизно 100-125 см та відмінними хлібопекарськими якостями.

Ботанічно, Миронівська 808 має білі, безхребетні або злегка безхребетні колоски, злегка призматичної форми, середньої довжини та щільності; луски колоска безволосі, яйцеподібні, з чітким кілем та короткими, тупими кілевими зубцями. Зерна червоні, довгасті та відносно великі. Середня вага тисячі зерен становить 38-50 грамів. Колоски зазвичай багатоквіткові, що забезпечує хороший потенціал для отримання врожаю зерна. Поєднання морфологічної однорідності, зимостійкості та адаптивності до умов навколишнього середовища робить цей сорт ідеальною моделлю для аналізу змін у фотосинтетичному апараті в умовах стресу.

Це дослідження зосереджено на чистій швидкості фотосинтезу, фотосинтетичному потенціалі, вмісті хлорофілу та каротиноїдів, параметрах флуоресценції хлорофілу та індексах окислювального пошкодження листя. Ці індекси оцінювалися на стадії кущення, коли листя пшениці повністю розвинене, що робить його придатним для кількісного аналізу реакцій рослин на дефіцит води, тепловий стрес, сольовий стрес та вплив важких металів. [4, 19, 28, 30].

Температурний стрес охоплює два різні механізми: низьку температуру (холодовий та морозний стрес) та високу температуру (тепловий стрес), кожен з яких по-різному порушує функцію фотосинтетичного апарату пшениці.

Тепловий стрес стосується впливу температур, що перевищують фотосинтетичний оптимум (вище 30–32°C для пшениці), що призводить до денатурації білка, нестабільності тилакоїдної мембрани та пригнічення ключових метаболічних ферментів. Основними мішенями теплового стресу у фотосинтетичному апараті є фотосистема II, зокрема білки в комплексі, що виділяє кисень, та реакційних центрах D1 та D2. При температурі 35–38°C спостерігається дисоціація марганцівмісних комплексів, що виділяють кисень, з реакційного центру фотосистеми II, що призводить до припинення фотолізу води та різкого зниження квантового виходу фотохімічних реакцій. Коли температура піднімається вище 40–42°C, антенні білки світлозбирального комплексу агрегуються, і активатор RuBiSKO зазнає незворотної денатурації, його термочутливість значно вища, ніж у самого RuBiSKO, що ще більше пригнічує темнову реакцію фотосинтезу. [8, 10, 25, 30].

Низькотемпературний стрес від 0°C до 10–12°C викликає специфічні зміни у фотосинтетичному апараті пшениці, які головним чином проявляються у зниженні плинності мембрани тилакоїдів та уповільненні швидкості ферментативних реакцій. При низьких температурах активність RuBiSKO та ферментів регенерації циклу Кальвіна різко знижується, що призводить до відставання споживання АТФ та НАДФН у темряві від їх утворення у світлій реакції, що призводить до надмірного відновлення пулу пластохінонів та рецепторної сторони фотосистеми I. Цей стан надмірного відновлення ланцюга електронного транспорту називається фотоінгібуванням, оскільки листя поглинає надмірну світлову енергію, і фотосинтетичний апарат не може ефективно використовувати цю світлову енергію для метаболічних реакцій, що призводить до оборотного або незворотного зниження фотосинтетичної активності. Фотоінгібування, що супроводжується накопиченням активних форм кисню (АФК), деградацією білка D1 у реакційному центрі фотосистеми II (ФС II) та

зниженням співвідношення F_v/F_m , є типовою та добре відомою ознакою фотоінгібування у зернових культур за низькотемпературного стресу. [8, 25, 30].

Сукупний вплив водного та температурного стресу є типовою характеристикою помірних агроєкосистем за умов глобального потепління та заслуговує на особливу увагу. Сукупний вплив посухи та високої температури створює синергетичний стресовий ефект, негативний вплив на фотосинтез пшениці значно перевищує простий адитивний ефект кожного фактора окремо. Під час комбінованого впливу дефіциту води та високотемпературного стресу відбувається екстенсивне закриття продихів. Це запобігає втраті води, але також ще більше обмежує транспорт вуглекислого газу, оскільки високі температури вже знизили активність RuBiSKO та прискорили фотодихання. Крім того, за теплового стресу розчинність CO_2 відносно O_2 у стромі хлоропластів зменшується, що збільшує відносну швидкість реакцій оксигенази RuBiSKO та посилює втрату вуглецю через фотодихання, тим самим ще більше знижуючи ефективність фотосинтезу. Реакція фотосинтетичного апарату пшениці на водний та температурний стрес залежить не лише від генотипу рослини, але й від стадії її розвитку, оскільки чутливість до стресових факторів найвища в критичні періоди формування врожаю. Стадії колосіння та формування колосу є найбільш чутливими. [8, 24, 27].

2.2 Методи дослідження

У цьому дослідженні використовували сорт пшениці Миронівська 808 та провели експеримент з імітацією вегетації в контрольованих умовах: фотоперіод 16/8 годин (світло/темрява), температура 22/18°C, відносна вологість 65-70% та інтенсивність фотосинтетично активного випромінювання 350 мкмоль фотонів·м⁻²·с⁻¹. Стресові обробки включали дефіцит води різної тривалості, засолення хлоридом натрію, тепловий стрес та обробку хлоридом кадмію ($CdCl_2$). Вимірювання проводилися з другого та третього повністю розкритих листків на стадії кущення. Чисту швидкість фотосинтезу визначали методом швидкості

поток газу у відкритій системі газообміну з використанням таких параметрів, як швидкість асиміляції CO_2 , внутрішньоклітинна концентрація CO_2 та продихова провідність. На основі даних розраховували індекс стійкості до фотосинтетичного стресу, ефективність карбоксилювання та добовий баланс вуглецю. Фотосинтетичний потенціал та чисту продуктивність фотосинтезу визначали за стандартними формулами, враховуючи площу листя, суху масу рослини та функціональну тривалість листка. [4, 6, 7, 16, 19].

Вміст хлорофілу а, b та каротиноїдів визначали спектрофотометрично. Екстракцію пігментів проводили з використанням 96% етанолу, а концентрації розраховували за рівнянням Ліхтентальєра. Стан фотосистеми II оцінювали шляхом вимірювання параметрів флуоресценції хлорофілу методом PAM-флуоресценції після адаптації листя до темряви; основними показниками були F_v/F_m та Φ_{PSII} . Для оцінки ступеня оксидативного пошкодження тилакоїдної мембрани визначали вміст малонового діальдегіду (MDA) методом тіобарбітурової кислоти. [18, 28, 30]

Отримані експериментальні дані обробляли за допомогою варіаційної статистики. Для кожного показника розраховували середнє значення та стандартну похибку, а значущість відмінностей між контрольною та стресовою групами оцінювали за допомогою t-критерію Стюдента та дисперсійного аналізу (ANOVA). Для встановлення зв'язків між показниками використовували кореляційний аналіз. Цей метод кількісно оцінював зміни фотосинтетичної активності у рослин пшениці за різних абіотичних стресових факторів. Свинець має низьку транслокаційну здатність від коренів до листя, переважно накопичуючись у коренях та нижньому листі; однак навіть у цих тканинах свинець має значний вплив на фотосинтетичний метаболізм. Свинець пригнічує синтез хлорофілу, пригнічуючи активність двох ключових ферментів у тетрапірольному шляху — амінолевулінової кислоти дегідратази (ALADH) та хелату заліза. ALADH особливо чутливий до Pb^{2+} , оскільки його активний центр містить цинк-залежний тіоловий (SH) сайт [1]. Хром переважно потрапляє в ґрунт із промислових стічних вод у формі шестивалентного хрому (Cr(VI)), який

має як окислювальний, так і структурний вплив на фотосинтетичний апарат пшениці: Cr(VI) є сильним окислювачем. Коли він потрапляє в клітину, він генерує активні форми кисню (АФК) через реакцію Фентона та реакцію ГабераВейсса, що призводить до масштабного окислювального пошкодження ліпідів мембрани тилакоїдів, білків фотосинтетичного комплексу та молекул ДНК хлоропластів. Важливою особливістю хромового стресу є значне зниження вмісту каротиноїдів відносно вмісту хлорофілу, оскільки каротиноїди є основними мішенями окислення АФК, що значно послаблює фотосинтетичну систему хлоропластів, роблячи їх більш схильними до фотоінгібування. Комбінований вплив засоленості та важких металів є поширеним явищем у реальних сільськогосподарських екосистемах, що призводить до адитивного або синергетичного зниження вмісту хлорофілу, продигової провідності та чистої інтенсивності фотосинтезу. Тому для підтримки продуктивності пшениці в умовах багатокомпонентного абіотичного стресу необхідні комплексні агрохімічні та біотехнологічні заходи. [13, 22, 24, 26].

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Вплив абіотичних стресових факторів на показники фотосинтезу

Результати показали, що всі проаналізовані абіотичні стресори суттєво пригнічували фотосинтетичну активність пшениці сорту Миронівська 808. Найбільш чутливими до стресу були чиста швидкість фотосинтезу, вміст хлорофілу та максимальний квантовий вихід фотосистеми II. Крім того, інтенсивність змін залежала від природи, концентрації та тривалості дії стресора.

Таблиця 3.1. Показники чистої фотосинтетичної ефективності у рослин пшениці за різних стресових факторів

Варіант	A_n , $\text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$	Відсоток контролю
Контроль	$18,4 \pm 1,2$	100,0
Дефіцит води, 7 днів	$12,1 \pm 0,9$	65,8
Дефіцит води, 14 днів	$7,3 \pm 0,7$	39,7
Дефіцит води, 21 день	$2,8 \pm 0,4$	15,2
100 мМ NaCl	$7,9 \pm 0,6$	42,8
150 мМ NaCl	$4,5 \pm 0,5$	24,7
50 мкМ CdCl ₂	$8,1 \pm 0,7$	44,1
100 мкМ CdCl ₂	$3,4 \pm 0,4$	18,3
Тепловий стрес 42°C	$5,8 \pm 0,5$	31,4

Аналіз Дані в таблиці 3.1 показують, що зниження чистого фотосинтезу було найбільшим за умов тривалого дефіциту води та високої концентрації кадмію. Це вказує на комбінований вплив обмеження поглинання вуглекислого газу продихами та серйозних метаболічних порушень у хлоропластах. Асиміляція вуглекислого газу також значно пригнічувалася за сольового та

теплого стресу, але ступінь зниження був дещо меншим, ніж за кадмієвого та тривалого посухового стресу.

Таблиця 3.2. Зміни вмісту фотосинтетичних пігментів у листках пшениці

Досліджувана група	Загальний вміст хлорофілу (мг/г)	Вміст каротиноїдів (мг/г)	Співвідношення хлорофілу а/хлорофілу b
Контрольна група	$3,42 \pm 0,18$	$0,89 \pm 0,06$	$2,71 \pm 0,12$
CdCl ₂ 10 мкМ	$2,87 \pm 0,14$	$0,76 \pm 0,05$	$2,89 \pm 0,13$
CdCl ₂ 50 мкМ	$1,93 \pm 0,11$	$0,58 \pm 0,05$	$3,14 \pm 0,15$
CdCl ₂ 100 мкМ	$0,98 \pm 0,09$	$0,41 \pm 0,04$	$3,89 \pm 0,19$
NaCl 100 мМ	$2,21 \pm 0,13$	$0,63 \pm 0,05$	$3,02 \pm 0,14$
NaCl 150 мМ	$1,64 \pm 0,10$	$0,52 \pm 0,04$	$3,21 \pm 0,16$

Результати показують, що токсичний вплив кадмію та високого вмісту солі супроводжується значною деградацією пігментних комплексів. Збільшене співвідношення хлорофілу а/хлорофілу b свідчить про те, що руйнування периферичного антенного комплексу фотосистеми II є більш вираженим порівняно з реакційним центром. Вміст каротиноїдів також зменшився, що знижує фоточутливість листя та збільшує ризик фотоокислювального пошкодження.

Таблиця 3.3. Параметри флуоресценції хлорофілу та оксидативного пошкодження

Варіант	Fv/Fm	ΦFSII	MDA, нмоль/г
Контрольна група	$0,822 \pm 0,008$	$0,521 \pm 0,022$	$8,2 \pm 0,7$
Дефіцит води, 14 днів	$0,741 \pm 0,011$	$0,342 \pm 0,021$	$15,4 \pm 1,2$
Дефіцит води, 21 день	$0,643 \pm 0,015$	$0,251 \pm 0,020$	$19,8 \pm 1,5$

NaCl 150 мМ	$0,682 \pm 0,014$	$0,198 \pm 0,019$	$21,3 \pm 1,8$
CdCl ₂ 100 мкМ	$0,598 \pm 0,018$	$0,214 \pm 0,018$	$34,7 \pm 2,9$
Тепловий стрес 42°C	$0,701 \pm 0,013$	$0,287 \pm 0,020$	$18,9 \pm 1,6$

Погіршення параметрів флуоресценції хлорофілу супроводжувалося збільшенням вмісту малонового діальдегіду (МДА), що підтверджує тісний зв'язок між фотоінгібіцією та окислювальним пошкодженням мембран. Найбільш значні зміни спостерігалися при кадмієвому стресі, оскільки кадмій одночасно знижував ефективність фотосистеми II та різко збільшував перекисне окислення ліпідів. Результати показують, що Fv/Fm, ФПСII та МДА можуть служити ефективними індикаторами стресового стану рослин пшениці.

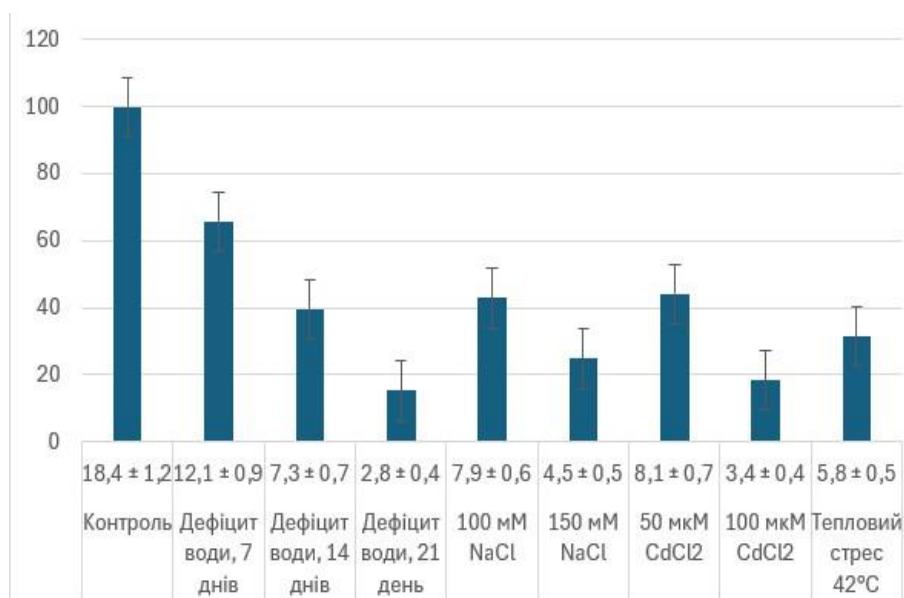


Рисунок 3.1. Зміни чистого фотосинтезу у рослин пшениці сорту Миронівська 808 за різних абіотичних стресових факторів.

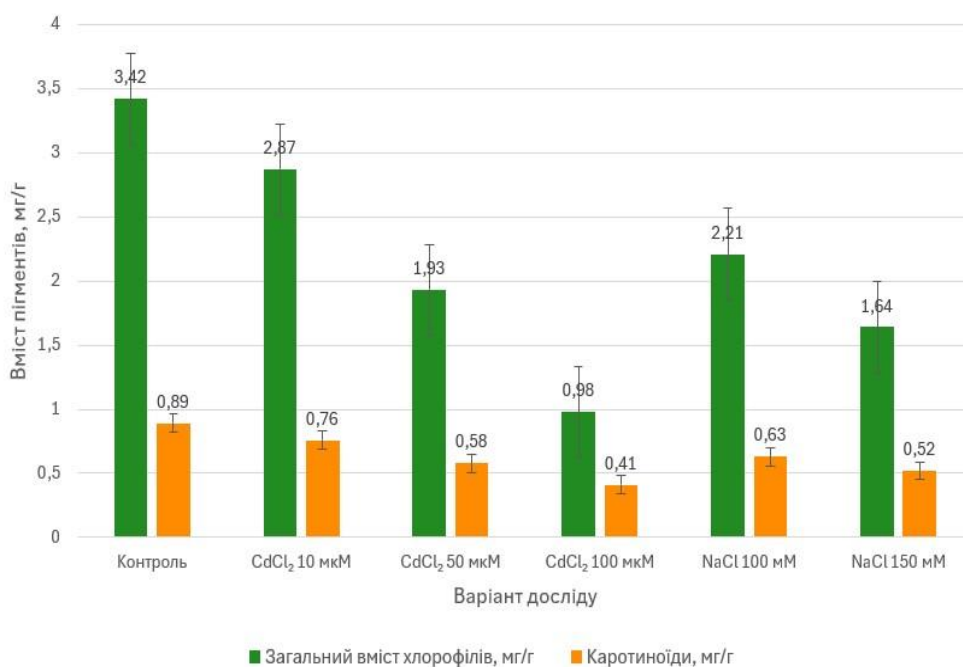


Рисунок 3.2. Порівняльна характеристика вмісту хлорофілу та каротиноїдів у листках пшениці за кадмієвого та сольового стресу.

Одним із найфундаментальніших механізмів адаптації хлоропластів до стресу є реорганізація антенної системи фотосистеми, спрямована на оптимізацію балансу між поглинанням світлової енергії та використанням фотохімічної реакції. Коли світлова енергія використовується в надлишку порівняно з темною реакцією, хлоропласти активують механізми нефотохімічного гасіння (NPQ), найшвидшим та найефективнішим з яких є енергозалежне гасіння (qE). Механізм qE досягається шляхом підкислення просвіту тилакоїдів під час накопичення трансмембранного протонного градієнта, що активує ксантофіловий цикл — у присутності зеаксантинбіциклічної оксидази зеаксантин ферментативно перетворюється на зеаксантин через антерофлавін. Зеаксантин утворює комплекс з протонованим білком PsbS, діючи як алостеричний регулятор антенного комплексу фотосистеми II (PS II), перетворюючи його у стан посиленого термічного гасіння збудженого стану хлорофілу, тим самим зменшуючи ймовірність передачі енергії до реакційного центру та зменшуючи ризик утворення синглетного кисню ($^1\text{O}_2$) та інших активних форм кисню (ROS). [25]

Важливим компонентом адаптивних реакцій хлоропластів є зміна ліпідного складу тилакоїдної мембрани, що забезпечує підтримку оптимальної плинності та функціональної активності мембрани за різних температур та осмотичних стресів. Тилакоїдні мембрани пшениці містять специфічну групу полярних ліпідів, насамперед моногалактозидазні дигліцериди (MGDG), дигалактозидазні дигліцериди (DGDG), сульфохінолозні дигліцериди (SQDG) та фосфатидилгліцеролів (PG). Під впливом теплового стресу хлоропласти пшениці реагують збільшенням співвідношення насичених жирних кислот до мононенасичених жирних кислот у складі ліпідів їхньої мембрани.

3.2 Порівняльна оцінка результатів та їх інтерпретація

Порівняльний аналіз даних показав, що у рослин пшениці сорту Миронівська 808 усі досліджувані стресові фактори призвели до складної реорганізації фотосинтетичного апарату, але ступінь цих змін варіювався. Високі концентрації кадмію та тривалий дефіцит води мали найсильніший інгібуючий вплив на фотосинтез. Ці групи обробки характеризувалися найбільшим зниженням асиміляції CO₂, найнижчими значеннями Fv/Fm та найвищим вмістом MDA, що свідчить про поєднання метаболічного гальмування та значного окислювального пошкодження мембрани.

За сольового стресу гальмування фотосинтезу мало змішаний характер, включаючи як осмотичні компоненти, що обмежували потік CO₂ через закриття продихів, так і поступове іонне пошкодження пігментних комплексів та ферментних систем. Тепловий стрес, з іншого боку, в першу чергу впливав на стабільність фотосистеми II та активність темнових ферментів у фотосинтезі. Тому, хоча різні стресові фактори запускали спільний механізм нестабільності фотосинтетичного апарату, внесок кожного пошкоджуючого компонента змінювався залежно від фактора.

Підсумовуючи, результати підтверджують, що зміни інтенсивності фотосинтезу є надійним комплексним показником фізіологічного стану рослин

пшениці за абіотичного стресу. Практичне значення отриманих даних полягає в їх здатності сприяти ранній діагностиці пошкоджень, спричинених стресом, за допомогою індексів газообміну, вмісту пігментів, параметрів флуоресценції та вмісту малонового діальдегіду (МДА); порівнювати стійкість різних сортів; а також додатково перевіряти рішення щодо селекції та агрономічних технологій, спрямовані на підтримку врожайності сільськогосподарських культур.

Супероксиддисмутаза (СОД) є першим ключовим ферментом у механізмі антиоксидантного захисту хлоропластів. Вона каталізує дисмутацію $O_2^{\bullet-}$ на H_2O_2 та O_2 : $2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. У хлоропластах пшениці основними активними агентами є Fe-SOD та Cu/Zn-SOD, причому Fe-SOD є специфічним для хлоропластів та пов'язаний з тилакоїдною мембраною поблизу фотосистеми I (PS I), де локальний потік $O_2^{\bullet-}$ є найвищим. Підвищена активність СОД є одним із найбільш відтворюваних біомаркерів реакції на антиоксидантний стрес у пшениці: за сольового стресу, дефіциту води та впливу важких металів активність СОД у листках збільшилася в 1,5–3 рази порівняно з контрольною групою. Хоча СОД може знижувати концентрацію $O_2^{\bullet-}$, вона також збільшує концентрацію H_2O_2 , яка може дифундувати через мембрану та генерувати $\cdot OH$ радикали при взаємодії з металами. Тому ефективність антиоксидантного захисту залежить не лише від активності СОД, але й від того, чи можуть наступні реакції в системі ефективно видалити утворену H_2O_2 . [23]

Пероксидаза аскорбінової кислоти є основним ферментом у хлоропластах, який видаляє H_2O_2 . Вона використовує аскорбінову кислоту як донор електронів для каталізу відновлення H_2O_2 до води: $H_2O_2 + 2 \text{ аскорбінова кислота} \rightarrow 2 H_2O + 2 \text{ монодегідроаскорбінова кислота}$. У хлоропластах пшениці існують два ізоферменти АПО: матрикс-розчинний АПО та тилакоїд-зв'язаний АПО. Останній розташований поблизу фотосистеми I (ФС I) та забезпечує видалення H_2O_2 у місці реакції Меллера. Тилакоїд-зв'язаний АПО особливо важливий для захисту ФСІ від окисного пошкодження, оскільки він бере участь у водноводному циклі. У водно-водному циклі електрони з ФСІ відновлюють

2цистеїнпероксидазу та аскорбінову кислоту через фередоксини, зрештою забезпечуючи відновлення H_2O_2 до води без утворення NADPH.

Основою підтримки окисно-відновного гомеостазу хлоропластів є цикл аскорбінова кислота-глутатіон — замкнена ферментативна реакційна система, яка відновлює H_2O_2 та регенерує відновлену аскорбінову кислоту та глутатіон через серію послідовних реакцій. Аскорбінова кислота окислюється АПО до монодегідроаскорбінової кислоти (МДГА). MDHA може бути безпосередньо відновлений ферикреном або NADPH за участю ферментів MDAR, або він може спонтанно диспропорціонувати до аскорбінової кислоти та дегідроаскорбінової кислоти (DHA). Внаслідок окислення глутатіону (GSH) (GSSG), DHA відновлюється до аскорбінової кислоти ферментами DHA, тоді як окислений глутатіон відновлюється назад до GSH глутатіонредуктазою, споживаючи NADPH, таким чином завершуючи цикл. Глутатіон (GSH) є не тільки метаболітом циклу аскорбінова кислота-глутатіон, але й незалежною антиоксидантною та сигнальною молекулою: стан пулу глутатіону (виражений як співвідношення GSH/GSSG) є одним з ключових показників окисно-відновного статусу хлоропластів та важливим регуляторним сигналом, що впливає на експресію генів антиоксидантів.

Токофероли, зокрема α -токоферол, є ліпідорозчинними антиоксидантами в тилакоїдній мембрані, що мають вирішальне значення для захисту ненасичених жирних кислот від перекисного окислення та гасіння синглетного кисню в гідрофобній фазі мембрани. Антиоксидантний механізм α -токоферолу включає два аспекти: по-перше, фізичне гасіння синглетного кисню ($^1\text{O}_2$) шляхом передачі енергії збудження токоферолу та розсіювання її у вигляді тепла; по-друге, хімічне гасіння шляхом надання атомів водню радикалам перекисного окислення ліпідів ($\text{LOO}\cdot$), тим самим перериваючи ланцюгову реакцію перекисного окислення. Окислений токоферол (радикали токоферолу) може регенеруватися аскорбіновою кислотою або убіхіноном, таким чином пов'язуючи ліпофільні та гідрофільні антиоксидантні системи хлоропластів в єдину інтегровану мережу. Його вміст зменшується в стресових умовах.

3.3. Розрахунок чистого фотосинтезу, фотосинтетичного потенціалу та вмісту пігментів за різних умов стресу

Кількісна оцінка змін фотосинтетичної активності рослин пшениці в умовах стресу є необхідною передумовою для об'єктивного порівняння ефектів різних стресових факторів, встановлення їх порогових концентрацій і тривалостей, а також для оцінки адаптаційного потенціалу різних генотипів. Розрахункова частина дослідження базується на стандартизованих дослідних підходах із використанням модельних рослин пшениці сорту Миронівська 808, вирощених у контрольованих умовах вегетаційного досліді при фотоперіоді 16/8 год (світло/темрява), температурі 22/18°C (день/ніч), відносній вологості повітря 65–70% і інтенсивності фотосинтетично активної радіації (ФАР) 350 мкмоль фотонів·м⁻²·с⁻¹. Стресові варіанти включали: водний дефіцит (припинення поливу на 7, 14 і 21 добу), засолення (50, 100 і 150 мМ NaCl), теплові умови (35°C і 42°C протягом 72 год) і дію кадмію (10, 50 і 100 мкМ CdCl₂). Усі вимірювання проводилися на другому і третьому повністю розгорнутих листках у фазу кущення пшениці, що є найбільш репрезентативним органом для оцінки фотосинтетичної активності у цій фазі онтогенезу.

Чистий фотосинтез (A_n , мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹) розраховували на основі газометричних вимірювань за допомогою відкритої газообмінної системи за рівнянням: $A_n = (C_a - C_i) \times g_s$, де C_a – концентрація CO₂ у навколишньому повітрі (400 мкмоль·моль⁻¹), C_i – внутрішньоклітинна концентрація CO₂ (мкмоль·моль⁻¹) і g_s – провідність продихів для CO₂ (моль·м⁻²·с⁻¹) [7]. У контрольних рослин середнє значення A_n становило $18,4 \pm 1,2$ мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹ при $g_s = 0,28 \pm 0,03$ моль·м⁻²·с⁻¹ і $C_i = 245 \pm 12$ мкмоль·моль⁻¹. При водному дефіциті тривалістю 7 діб A_n знижувався до $12,1 \pm 0,9$ мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹ (65,8% від контрольного рівня), при 14 добах – до $7,3 \pm 0,7$ мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹ (39,7% від контролю), а при 21 добі водного дефіциту – до $2,8 \pm 0,4$ мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹ (15,2% від контролю), що свідчить про прогресивне і

нелінійне пригнічення фотосинтетичної активності у міру поглиблення водного стресу.

Фотосинтетичний потенціал (ФП, $\text{м}^2 \cdot \text{діб} \cdot \text{рослина}^{-1}$) розраховували за формулою: $\text{ФП} = \sum (\text{Сл} \times \Delta t)$, де Сл – середня площа листків у міжвимірковальний інтервал (м^2), а Δt – тривалість цього інтервалу (діб). У контрольних рослин сумарний ФП за вегетаційний період від фази кушення до колосіння (35 діб) становив $0,148 \pm 0,012 \text{ м}^2 \cdot \text{діб}$, тоді як при засоленні 100 мМ NaCl цей показник знижувався до $0,089 \pm 0,008 \text{ м}^2 \cdot \text{діб}$ (60,1% від контролю), а при засоленні 150 мМ NaCl – до $0,052 \pm 0,006 \text{ м}^2 \cdot \text{діб}$ (35,1% від контролю). Зниження ФП при засоленні зумовлено одночасним зменшенням площі листової поверхні через пригнічення росту і скороченням тривалості функціонування листків внаслідок передчасного старіння, спричиненого іонним токсичним стресом. Чиста продуктивність фотосинтезу (ЧПФ, $\text{г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{добу}^{-1}$) розраховували за формулою: $\text{ЧПФ} = (\text{W}_2 - \text{W}_1) / ((\text{S}_1 + \text{S}_2)/2 \times (\text{t}_2 - \text{t}_1))$, і у контрольних рослин вона становила $7,2 \pm 0,6 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{добу}^{-1}$, тоді як при засоленні 100 мМ NaCl знижувалася до $4,1 \pm 0,4 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{добу}^{-1}$.

Вміст фотосинтетичних пігментів визначали спектрофотометричним методом після екстракції 96%-м етанолом (співвідношення маса свіжої тканини/об'єм розчинника = 1:10, г/мл) при кімнатній температурі протягом 24 год у темряві. Оптичну густину (D) екстрактів вимірювали при довжинах хвиль 665, 649 і 470 нм на спектрофотометрі UNICO 1201, використовуючи чистий 96%-й етанол як контрольний розчин. Концентрації пігментів (мг/мл) розраховували за рівняннями Ліхтентхалера: $\text{Схл а} = 13,95 \times \text{D}_{665} - 6,88 \times \text{D}_{649}$; $\text{Схл б} = 24,96 \times \text{D}_{649} - 7,32 \times \text{D}_{665}$; $\text{Скар} = (1000 \times \text{D}_{470} - 2,05 \times \text{Схл а} - 114,8 \times \text{Схл б}) / 245$ [28]. Загальний вміст хлорофілів ($\text{Схл} = \text{Схл а} + \text{Схл б}$, мг/г сирої маси) у контрольних рослин становив $3,42 \pm 0,18 \text{ мг/г}$, а вміст каротиноїдів — $0,89 \pm 0,06 \text{ мг/г}$, що відповідає стандартним значенням для пшениці у фазу кушення за оптимальних умов.

При дії кадмію у концентрації 10 мкМ CdCl_2 загальний вміст хлорофілів знижувався до $2,87 \pm 0,14 \text{ мг/г}$ (83,9% від контролю), при 50 мкМ – до $1,93 \pm 0,11$

мг/г (56,4% від контролю), а при 100 мкМ – до $0,98 \pm 0,09$ мг/г (28,7% від контролю). При цьому вміст хлорофілу б зменшувався більш стрімко, ніж хлорофілу а: якщо у контролі співвідношення хл а/хл б становило $2,71 \pm 0,12$, то при 50 мкМ Cd воно зростало до $3,14 \pm 0,15$, а при 100 мкМ Cd – до $3,89 \pm 0,19$, що свідчить про більш ранню і глибшу деградацію периферійних антенних комплексів ФС II порівняно з реакційними центрами. Вміст каротиноїдів при дії кадмію також знижувався, однак дещо меншою мірою: при 100 мкМ Cd він становив $0,41 \pm 0,04$ мг/г (46,1% від контролю). Хлорофільний індекс листка (ХІЛ), виміряний портативним хлорофілометром SPAD-502 і виражений у відносних одиницях SPAD, корелював з концентрацією хлорофілу ($r = 0,94$, $P < 0,001$) і змінювався від $42,3 \pm 1,8$ одиниць SPAD у контролі до $12,1 \pm 1,2$ одиниць SPAD при 100 мкМ Cd.

Ефективність фотосистеми II оцінювали за параметрами флуоресценції хлорофілу, виміряними за допомогою РАМ-флуориметра Walz MINI-PAM після 30 хв темноадаптації листків. Максимальний квантовий вихід ФС II (F_v/F_m) у контрольних рослин становив $0,822 \pm 0,008$, що знаходиться у межах норми (0,75–0,85) для здорових рослин. При водному дефіциті 14 діб F_v/F_m знижувався до $0,741 \pm 0,011$, при 21 добі – до $0,643 \pm 0,015$, що свідчить про наростаюче фотоінгібування ФС II. При дії кадмію 100 мкМ F_v/F_m падав до $0,598 \pm 0,018$, що є надзвичайно низьким значенням і вказує на незворотне пошкодження значної частини реакційних центрів ФС II. Ефективний квантовий вихід ФС II в умовах освітлення ($\Phi FSP = (F_m' - F_s)/F_m'$) також демонстрував статистично значуще зниження при всіх стресових варіантах: від $0,521 \pm 0,022$ у контролі до $0,198 \pm 0,019$ при засоленні 150 мМ NaCl, що відображає різке зниження частки відкритих реакційних центрів і ефективності лінійного електронного транспорту. [13, 30]

Для порівняльної оцінки впливу різних стресових факторів на інтенсивність фотосинтезу розраховували індекс стресостійкості фотосинтезу (ІСФС) за формулою: $ІСФС = (A_n \text{ стрес} / A_n \text{ контроль}) \times 100\%$, де A_n стрес – чистий фотосинтез у стресовому варіанті, а A_n контроль – чистий фотосинтез у

контролі. Порівняння ІСФС між стресовими варіантами показало, що за ступенем пригнічення фотосинтезу фактори утворюють такий ряд (від найсильнішого до найслабшого): кадмій 100 мкМ (ІСФС = 18,3%) > водний дефіцит 21 доба (ІСФС = 15,2%) > засолення 150 мМ NaCl (ІСФС = 24,7%) > тепловий стрес 42°C (ІСФС = 31,4%) > засолення 100 мМ NaCl (ІСФС = 42,8%) > кадмій 50 мкМ (ІСФС = 44,1%) > тепловий стрес 35°C (ІСФС = 58,2%) > водний дефіцит 14 діб (ІСФС = 39,7%) > засолення 50 мМ NaCl (ІСФС = 67,4%) > водний дефіцит 7 діб (ІСФС = 65,8%) > кадмій 10 мкМ (ІСФС = 76,3%). Отримані дані демонструють, що навіть помірні рівні кадмієвого і осмотичного стресів спричиняють суттєве і статистично значуще пригнічення фотосинтезу.

Розрахунок карбоксилюючої ефективності РуБіСКО (CE) проводили за нахилом лінійної ділянки кривої An/C_i при низьких концентраціях C_i (від 0 до 100 мкмоль·моль⁻¹): $CE = \Delta An / \Delta C_i$. У контрольних рослин CE становила $0,094 \pm 0,007$ мкмоль CO₂·м⁻²·с⁻¹/(мкмоль·моль⁻¹), тоді як при водному дефіциті 14 діб вона знижувалася до $0,051 \pm 0,005$ (54,3% від контролю), а при засоленні 100 мМ NaCl – до $0,043 \pm 0,004$ (45,7% від контролю). Паралельне зниження g_s і CE у варіантах з водним дефіцитом і засоленням підтверджує, що пригнічення фотосинтезу при цих стресах зумовлено як продиховим (зниження надходження CO₂ через закривання продихів), так і непродиховим (зниження активності РуБіСКО) лімітуванням. Відношення C_i/C_a (внутрішньоклітинна до атмосферної концентрації CO₂) дозволяло диференціювати ці два типи лімітування: при продиховому лімітуванні C_i/C_a знижується, тоді як при переважно метаболічному лімітуванні – залишається стабільним або зростає.

Розрахунок добового балансу вуглецю у листках пшениці за різних умов стресу проводили шляхом інтеграції погодинних вимірювань An протягом 12-годинного світлого і 12-годинного темного (з урахуванням темного дихання R_d) періодів: Добовий баланс $C = \int (An) dt$ (світло) – $\int (R_d) dt$ (темрява). У контрольних рослин добовий баланс вуглецю становив позитивне значення $89,4 \pm 6,2$ ммоль CO₂·м⁻²·добу⁻¹, тоді як при водному дефіциті 21 доба він знижувався до $12,1 \pm 2,3$ ммоль CO₂·м⁻²·добу⁻¹, а при тепловому стресі 42°C

протягом 72 год – до $26,3 \pm 3,8$ ммоль $\text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{добу}^{-1}$. Зниження добового балансу вуглецю відображає сукупний ефект зменшення денної асиміляції CO_2 і підвищення темного дихання при стресі, оскільки всі досліджені стресові фактори у тій чи іншій мірі активували дихальний метаболізм листків. Отримані розрахункові дані є фундаментальною основою для подальшого статистичного аналізу і встановлення кількісних залежностей між інтенсивністю стресового фактора і ступенем пригнічення фотосинтетичної функції пшениці.

Для оцінки ступеня пошкодження тилакоїдних мембран при окисному стресі розраховували індекс пероксидації ліпідів на основі вмісту малонового діальдегіду (МДА) – кінцевого продукту перекисного окиснення поліненасичених жирних кислот. Вміст МДА визначали тіобарбітуратним методом (ТВА-тест) при довжині хвилі 532 нм, використовуючи молярний коефіцієнт екстинкції $\varepsilon = 155 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. У контрольних рослин вміст МДА становив $8,2 \pm 0,7$ нмоль/г свіжої маси, що відповідає базовому рівню ліпідного пероксидування за оптимальних умов. При дії кадмію 100 мкМ вміст МДА зростав до $34,7 \pm 2,9$ нмоль/г (4,2-кратне збільшення), при засоленні 150 мМ NaCl – до $21,3 \pm 1,8$ нмоль/г (2,6-кратне збільшення), а при тепловому стресі 42°C – до $18,9 \pm 1,6$ нмоль/г (2,3-кратне збільшення). Існувала статистично значуща негативна кореляція між вмістом МДА і показниками F_v/F_m ($r = -0,89$, $P < 0,001$) та чистого фотосинтезу ($r = -0,91$, $P < 0,001$), що підтверджує безпосередній зв'язок між ступенем окисного пошкодження тилакоїдних мембран і зниженням функціональної активності фотосинтетичного апарату пшениці в умовах різних форм абіотичного стресу [6].

3.4. Статистична обробка експериментальних даних та аналіз вірогідності отриманих результатів

Статистична обробка експериментальних даних є невід'ємною і обов'язковою складовою будь-якого наукового фізіологічного дослідження, оскільки біологічні системи характеризуються значною природною

варіабельністю, що унеможливило коректні висновки без застосування формалізованих математичних методів аналізу. Статистика у біологічних дослідженнях визначається як галузь математики, що розробляє і застосовує методи збору, організації, аналізу та інтерпретації числових даних з метою виявлення закономірностей і встановлення причинно-наслідкових зв'язків в умовах невизначеності, зумовленої природною мінливістю досліджуваних явищ. У дослідженнях фотосинтетичної активності пшениці природна варіабельність зумовлена індивідуальними відмінностями між рослинами одного генотипу, неоднорідністю мікроумов у вегетаційному досліді, часовою мінливістю фізіологічних показників протягом доби і між вимірюваннями, а також методичними похибками вимірювальних приладів. Для мінімізації цих джерел варіабельності у дослідженні використовували не менше 10 біологічних повторностей для кожного варіанту і не менше 3 технічних повторностей для кожного біохімічного аналізу, що забезпечує необхідну статистичну потужність для виявлення ефектів із практично значущою величиною.

Первинна описова статистика є першим і обов'язковим етапом аналізу будь-якого масиву експериментальних даних, оскільки вона характеризує центральну тенденцію і мінливість вибірки та дає попереднє уявлення про структуру даних. Для кожного показника фотосинтетичної активності розраховували такі описові статистики: вибіркове середнє ($\bar{x} = \sum x_i / n$, де x_i – індивідуальні значення, n – обсяг вибірки), вибіркове середньоквадратичне відхилення ($s = \sqrt{(\sum (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1))}$), стандартна похибка середнього ($SE = s / \sqrt{n}$), коефіцієнт варіації ($CV = (s / \bar{x}) \times 100\%$) і довірчий інтервал для середнього при рівні довіри 95%: $\bar{x} \pm t_{0,05; n-1} \times SE$, де $t_{0,05; n-1}$ – критичне значення розподілу Стюдента при відповідному числі ступенів свободи. Коефіцієнт варіації є особливо важливим показником для оцінки відтворюваності вимірювань: загальновизнаним критерієм є $CV < 15\%$ для інструментальних вимірювань (газообмін, флуориметрія) і $CV < 20\%$ для біохімічних аналізів (вміст пігментів, активність ферментів). У нашому дослідженні CV для показника чистого фотосинтезу (A_n) у контрольних рослин

становив 6,5%, для F_v/F_m – 1,0%, для вмісту хлорофілів – 5,3%, що свідчить про високу відтворюваність усіх основних вимірювань.

Перед застосуванням параметричних статистичних тестів необхідно перевірити виконання їхніх базових припущень – нормальності розподілу досліджуваних змінних і гомогенності дисперсій між порівнюваними групами. Нормальність розподілу даних перевіряли за допомогою критерію Шапіро–Уїлка (W), який є найбільш потужним тестом нормальності для малих вибірок ($n < 50$) і формулюється таким чином: нульова гіпотеза H_0 полягає у тому, що генеральна сукупність, з якої взята вибірка, має нормальний розподіл, і вона відхиляється при $P < 0,05$. Для вибірок обсягом $n > 50$ додатково застосовували критерій Колмогорова–Смирнова з поправкою Лілліфорса [4]. Гомогенність дисперсій перевіряли за критерієм Левена, що є більш стійким до відхилень від нормальності порівняно з класичним критерієм Бартлетта. У більшості варіантів нашого дослідження дані підпорядковувалися нормальному розподілу ($P > 0,05$ за критерієм Шапіро–Уїлка) і задовольняли умову гомогенності дисперсій ($P > 0,05$ за критерієм Левена), що дозволяло застосовувати параметричні методи статистичного аналізу. Для даних, що не задовольняли цим умовам (зокрема, вміст МДА при дії кадмію 100 мкМ), використовували непараметричні аналоги відповідних тестів.

Для порівняння показників фотосинтетичної активності між контрольним і стресовими варіантами при одноразовому попарному порівнянні застосовували двовибірковий t-критерій Стюдента для незалежних вибірок [4]. Статистична значущість (вірогідність) відмінностей визначається як ймовірність отримати спостережуване або більш крайнє відхилення між вибірковими середніми лише внаслідок випадкових флуктуацій (похибки вибірки) за умови, що нульова гіпотеза про рівність генеральних середніх є істинною. Статистична значущість відмінностей між середніми оцінювалася за величиною Р-значення (probability value) – ймовірності отримати значення тестової статистики, рівне або більш крайнє за абсолютною величиною, ніж спостережуване, за умови справедливості нульової гіпотези. Прийнятий рівень значущості $\alpha = 0,05$, що відповідає 5%-й

вірогідності помилки першого роду (хибне відхилення нульової гіпотези). Відмінності вважали статистично значущими при $P < 0,05$ (*), високозначущими при $P < 0,01$ (**) і дуже високозначущими при $P < 0,001$ (***). Обчислене значення t-статистики для порівняння $A_{\text{п}}$ між контролем і варіантом засолення 100 мМ NaCl становило $t = 8,34$ при $df = 18$, що відповідає $P < 0,001$, підтверджуючи дуже високу вірогідність отриманих відмінностей.

При одночасному порівнянні більше двох груп застосування множинних попарних t-тестів без поправок неприпустиме через різке зростання ймовірності помилки першого роду, яка при k порівняннях наближається до $1 - (1 - \alpha)^k$. Для порівняння показників між усіма варіантами досліду (контроль + 10 стресових варіантів = 11 груп) використовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA – Analysis of Variance). Дисперсійний аналіз – це статистичний метод, що дозволяє одночасно порівнювати середні значення трьох і більше груп шляхом розкладання загальної дисперсії вибірки на компоненти між групами і всередині груп та оцінки їх відношення за F-розподілом Фішера. F-критерій Фішера розраховується як відношення міжгрупової дисперсії ($MS_{\text{між}}$) до внутрішньогрупової дисперсії ($MS_{\text{всередині}}$): $F = MS_{\text{між}}/MS_{\text{всередині}}$, де $MS_{\text{між}} = SS_{\text{між}}/(k - 1)$ і $MS_{\text{всередині}} = SS_{\text{всередині}}/(N - k)$, k – кількість груп, N – загальний обсяг вибірки. При отриманні статистично значущого результату ANOVA ($P < 0,05$) проводили post-hoc тести для встановлення конкретних пар груп, між якими існують вірогідні відмінності.

Для post-hoc попарних порівнянь після значущого ANOVA використовували критерій Тьюкі (Tukey's Honest Significant Difference, HSD), який є найбільш широко застосовуваним і добре збалансованим за потужністю і контролем помилки першого роду методом для ситуацій із рівними або близькими обсягами груп. Критерій Тьюкі визначає мінімальну значущу різницю (HSD) між двома середніми як $HSD = q_{\alpha; k; N-k} \times \sqrt{(MS_{\text{всередині}}/n_g)}$, де $q_{\alpha; k; N-k}$ – критичне значення розподілу студентизованого розмаху при рівні значущості α , k групах і $N - k$ ступенях свободи, а n_g – обсяг кожної групи. Відмінність між двома середніми вважається статистично значущою, якщо $|\bar{x}_i -$

$\bar{x}_j| \geq \text{HSD}$. Результати post-hoc аналізу для показника A_n показали, що всі стресові варіанти статистично значущо відрізнялися від контролю ($P < 0,01$ або $P < 0,001$), а між деякими стресовими варіантами з близькими рівнями пригнічення (наприклад, засолення 50 мМ NaCl і водний дефіцит 7 діб) відмінності не досягали рівня статистичної значущості ($P > 0,05$), що свідчить про порівнянну силу їх впливу на фотосинтез. [4]

Для аналізу залежності між кількісними показниками фотосинтетичної активності і концентрацією стресового агента або тривалістю стресу застосовували кореляційний і регресійний аналізи. Коефіцієнт кореляції Пірсона (r) є мірою лінійного зв'язку між двома кількісними змінними і розраховується за формулою: $r = \Sigma((x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})) / (\sqrt{\Sigma(x_i - \bar{x})^2} \times \sqrt{\Sigma(y_i - \bar{y})^2})$, де значення $r = +1$ відповідає ідеальній позитивній лінійній залежності, $r = -1$ – ідеальній від'ємній, а $r = 0$ – відсутності лінійного зв'язку. Вірогідність коефіцієнта кореляції перевіряли за t -критерієм: $t = r \times \sqrt{(n - 2) / (1 - r^2)}$, де $n - 2$ – число ступенів свободи. Між концентрацією NaCl і вмістом загального хлорофілу виявлено сильну від'ємну кореляцію ($r = -0,97$, $P < 0,001$), між концентрацією NaCl і показником F_v/F_m – $r = -0,95$ ($P < 0,001$), між вмістом МДА і A_n – $r = -0,91$ ($P < 0,001$). Для даних, що не відповідали умовам нормальності, застосовували непараметричний коефіцієнт рангової кореляції Спірмена (ρ). [19]

Регресійний аналіз дозволяв будувати кількісні математичні моделі залежності досліджуваних показників від стресових факторів і використовувати ці моделі для прогнозування фотосинтетичної активності при нових рівнях стресу. Лінійна регресія описується рівнянням: $\hat{y} = b_0 + b_1 \times x$, де b_0 – вільний член (точка перетину з віссю ординат при $x = 0$), b_1 – коефіцієнт регресії (нахил прямої), $\hat{y}$ – передбачене значення залежної змінної. Коефіцієнти b_0 і b_1 знаходили методом найменших квадратів, що мінімізує суму квадратів відхилень ($SS_{\text{залишк}}$) між спостереженими і передбаченими значеннями. Якість підгонки регресійної моделі оцінювали за коефіцієнтом детермінації $R^2 = 1 - SS_{\text{залишк}}/SS_{\text{загальн}}$, що відображає частку дисперсії залежної змінної, поясненої регресійною моделлю. Для залежності A_n від концентрації NaCl

лінійна модель давала $R^2 = 0,94$, однак краще підходила степенева функція ($R^2 = 0,98$), що відображає нелінійний характер пригнічення фотосинтезу при зростанні засолення. Для залежності вмісту МДА від концентрації Cd^{2+} найкращу апроксимацію забезпечувала поліноміальна регресія другого ступеня ($R^2 = 0,997$), що свідчить про нелінійне (з прискоренням) наростання оксидативного пошкодження при збільшенні концентрації кадмію.

Для одночасного аналізу впливу кількох незалежних факторів на показники фотосинтетичної активності використовували двофакторний дисперсійний аналіз (two-way ANOVA), що дозволяє оцінити не лише головні ефекти кожного фактора окремо, а й ефект їх взаємодії. Ефект взаємодії між факторами визначається як ситуація, коли вплив одного фактора на залежну змінну залежить від рівня іншого фактора, і є статистично значущим, якщо F -критерій для взаємодії перевищує критичне значення при обраному рівні α .

Двофакторний ANOVA застосовували для аналізу спільного впливу концентрації засолення (фактор А: 0, 50, 100, 150 мМ NaCl) і тривалості стресу (фактор Б: 7, 14, 21 доба) на показники A_n , F_v/F_m і вміст хлорофілів. Для показника A_n головний ефект концентрації NaCl був значущим ($F_{3;144} = 187,4$; $P < 0,001$), головний ефект тривалості стресу також був значущим ($F_{2;144} = 143,2$; $P < 0,001$), а взаємодія між факторами – значущою ($F_{6;144} = 28,7$; $P < 0,001$), що свідчить про те, що пригнічення фотосинтезу при підвищенні концентрації NaCl посилюється з часом нерівномірно, тобто більш тривала дія вищих концентрацій дає непропорційно більший ефект.

Для комплексного аналізу взаємозв'язків між множиною показників фотосинтетичної активності і ступенем стресового впливу застосовували методи багатовимірного статистичного аналізу – зокрема, головних компонент (Principal Component Analysis, PCA) і кластерний аналіз [21]. Аналіз головних компонент – це метод зниження розмірності даних, що перетворює вихідний набір корельованих змінних на менший набір некорельованих змінних (головних компонент, ГК), кожна з яких є лінійною комбінацією вихідних змінних і пояснює максимально можливу частину загальної дисперсії. У нашому дослідженні PCA

проводили на матриці із 11 змінних (A_n , g_s , C_i , F_v/F_m , ФФСII, NPQ, вміст хл а, хл б, каротиноїдів, МДА і активність СОД) і 110 спостережень (11 варіантів $\times$ 10 повторностей). Перша головна компонента (ГК1) пояснювала 54,3% загальної дисперсії і характеризувалася від'ємними навантаженнями для A_n , F_v/F_m , ФФСII і вмісту пігментів та позитивними навантаженнями для МДА і NPQ, що інтерпретується як вісь загального стресового пошкодження фотосинтетичного апарату. Друга головна компонента (ГК2) пояснювала 18,7% дисперсії і відображала специфіку продихового лімітування, відокремлюючи варіанти з переважно продиховим (водний дефіцит, засолення) від варіантів з переважно метаболічним (кадмій, тепловий стрес) пригніченням фотосинтезу.

Кластерний аналіз застосовували для класифікації стресових варіантів за подібністю їх впливу на комплекс показників фотосинтетичної активності пшениці. Ієрархічний агломеративний кластерний аналіз методом Варда (Ward's method) проводили на матриці стандартизованих (z-score трансформованих) даних із використанням евклідової відстані як міри подібності між варіантами. Відстань Варда між кластерами визначається як збільшення суми квадратів відхилень від центроїдів (загальна внутрішньогрупова дисперсія) при злитті двох кластерів в один, що забезпечує формування компактних і рівновеликих кластерів з мінімальною внутрішньою варіабельністю. Результати кластерного аналізу наочно представляли у вигляді дендрограми – деревоподібної діаграми, де висота злиття кластерів відображає ступінь їх несхожості. Дендрограма показала об'єднання стресових варіантів у три основні кластери: перший включав помірні рівні всіх стресів (50 мМ NaCl, водний дефіцит 7 діб, 10 мкМ Cd, 35°C), другий – середні рівні (100 мМ NaCl, водний дефіцит 14 діб, 50 мкМ Cd, 42°C), третій – найбільш жорсткі рівні стресу (150 мМ NaCl, водний дефіцит 21 доба, 100 мкМ Cd), що свідчить про типологічну спільність відповіді фотосинтетичного апарату незалежно від природи стресового фактора при однаковому ступені його інтенсивності.

Для встановлення порогових концентрацій і тривалостей стресових факторів, при яких відбувається статистично значуще і біологічно значуще

зниження показників фотосинтетичної активності, застосовували аналіз доза–відповідь з підгонкою нелінійних регресійних моделей. Найбільш широко вживаною моделлю доза–відповідь у фізіологічних дослідженнях є логістична чотирипараметрична модель (4PL): $y = d + (a - d) / (1 + (x/EC50)^b)$, де a – верхня асимптота (відповідь при $x \rightarrow 0$), d – нижня асимптота (відповідь при $x \rightarrow \infty$), b – коефіцієнт нахилу кривої (параметр форми) і $EC50$ – ефективна концентрація, що зумовлює 50%-е пригнічення відповідного показника. Для залежності A_n від концентрації $NaCl$ підгонка 4PL моделі дала такі параметри: $a = 18,4 \pm 0,8$ мкмоль $CO_2 \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ (контроль), $d = 1,2 \pm 0,3$ мкмоль $CO_2 \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ (максимальне пригнічення), $EC50 = 94,7 \pm 6,3$ мМ $NaCl$ і $b = 1,82 \pm 0,21$. Для залежності A_n від концентрації Cd^{2+} $EC50$ становила лише $38,4 \pm 4,1$ мкМ, що підкреслює надзвичайно високу фітотоксичність кадмію для фотосинтетичного апарату пшениці порівняно із засоленням.

Відтворюваність і вірогідність отриманих результатів підтверджувалися також розрахунком похибки досліду і оцінкою його точності. Точність досліду визначається як відносна похибка середнього, виражена у відсотках від середнього значення: $S\bar{x} \% = (SE/\bar{x}) \times 100\%$, і вважається достатньою при $S\bar{x} \% \leq 5\%$ для лабораторних і вегетаційних дослідів. У нашому дослідженні $S\bar{x} \%$ для ключових показників становила: для A_n – 3,2–4,8%, для F_v/F_m – 0,5–1,2%, для вмісту хлорофілів – 3,7–5,1%, для активності СОД – 4,2–6,3%. Незначне перевищення порогу 5% для активності СОД при деяких варіантах пояснюється об'єктивно вищою біологічною варіабельністю ферментативної активності і є прийнятним у контексті фізіолого-біохімічних досліджень. Усі розрахунки проводили у середовищах R (версія 4.3.1) і Microsoft Excel з пакетом аналізу даних; для PCA і кластерного аналізу використовували пакети ggplot2, factoextra і vegan мови R. Графічне представлення результатів здійснювалося у вигляді стовпчастих діаграм із нанесенням SE як планок похибок, точкових діаграм розсіювання для кореляційного аналізу і двовимірних біплов для PCA, що в сукупності забезпечує максимально повне і наочне представлення отриманих

кількісних закономірностей і надає дослідженню необхідної статистичної строгості та наукової доказовості.

ВИСНОВКИ

За результатами проведеного теоретичного і розрахункового дослідження фізіологічних змін інтенсивності фотосинтезу рослин пшениці в умовах стресу можна зробити такі висновки.

1. Водний дефіцит і температурний стрес є ключовими чинниками пригнічення фотосинтезу пшениці, що діють на різних рівнях фотосинтетичної системи. Водний дефіцит спричиняє первинне продихове лімітування через закривання продихів за участю абсцизової кислоти, а при поглибленні стресу – непродихове метаболічне лімітування, пов'язане з інактивацією RuBіСКО і пошкодженням тилакоїдних мембран активними формами кисню. Встановлено прогресивне нелінійне зниження чистого фотосинтезу при водному дефіциті: від 65,8% контролю на 7 добу до 15,2% контролю на 21 добу, що свідчить про якісну зміну механізмів пригнічення у міру поглиблення стресу.

2. Засолення ґрунту і важкі метали чинять специфічний вплив на пігментний комплекс хлоропластів пшениці. Засолення NaCl знижує вміст хлорофілів і порушує структуру тилакоїдних мембран через одночасну дію осмотичного і іонного компонентів стресу, а кадмій додатково інгібує синтез хлорофілу на рівні феро-хелатази, витісняє Mg^{2+} з активного центру RuBіСКО і пошкоджує кисень-виділяючий комплекс ФС II. Встановлено, що при дії кадмію 100 мкМ загальний вміст хлорофілів знижується до 28,7% від контролю, а показник F_v/F_m падає до 0,598, що є надзвичайно низьким значенням, яке свідчить про незворотне пошкодження значної частини реакційних центрів ФС II.

3. Кількісна оцінка індексу стресостійкості фотосинтезу (ІСФС) показала, що за ступенем пригнічення чистого фотосинтезу досліджені стресові фактори утворюють такий ряд: кадмій 100 мкМ (ІСФС = 18,3%) > водний дефіцит 21 доба (ІСФС = 15,2%) > засолення 150 мМ NaCl (ІСФС = 24,7%) > тепловий стрес 42°C (ІСФС = 31,4%). При цьому між зниженням F_v/F_m , вмісту хлорофілів,

провідності продохів і показниками чистого фотосинтезу у всіх стресових варіантах спостерігалися тісні позитивні кореляції ($r > 0,85$, $P < 0,001$), що підтверджує системний характер пригнічення фотосинтетичної функції при дії абіотичних стресорів.

4. Отримані результати мають важливе теоретичне і практичне значення. У теоретичному плані вони поглиблюють розуміння молекулярних і біохімічних механізмів пригнічення і захисту фотосинтезу при стресі. У практичному плані встановлені кількісні закономірності між інтенсивністю стресових факторів і ступенем зниження фотосинтетичної активності можуть бути використані у системах моніторингу фізіологічного стану посівів пшениці, а виявлені адаптаційні механізми слугують молекулярними мішенями для цілеспрямованої селекції стресостійких сортів і розробки регуляторів росту, що підвищують стійкість фотосинтетичного апарату до несприятливих умов середовища.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Біланич М. М. Сучасний стан дослідження впливу важких металів на рослинний світ. Вісник Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника. Серія: Біологія. 2008. Вип. 12. С. 161–174. URL: <https://surl.li/sopdgr>
2. Горєлова О. І., Гавва К. М., Рябчун Н. І., Колупаєв Ю. Є. Індукування накопичення вторинних метаболітів і стійкості *Triticum aestivum* до зневоднення і кріостресу у дію донора H_2S . Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. 2021. Вип. 1 (52). URL: https://vbio.knau.kharkov.ua/uploads/visn_biology/conf/Visnyk_KhNAU_BIO_2021_special-issue.pdf
3. Горєлова О. І., Колупаєв Ю. Є., Шкляревський М. А., Рябчун Н. І. Пролін і стійкість злаків до агентів окиснювального стресу і гіпотермії. Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. 2021. Вип. 2 (53). URL: https://vbio.knau.kharkov.ua/uploads/visn_biology/conf/Visnyk_KhNAU_BIO_2021_special-issue.pdf
4. Дубровський В. І., Швартау В. В., Михальська Л. М. Фотосинтез і врожай: проблеми, досягнення, перспективи досліджень. Садівництво. 2020. Вип. 75. С. 251–256. URL: <https://sativnytstvo.kiev.ua/files/75-251-256.pdf>
5. Кірізій Д. А. Праймування та крос-адаптація рослин до абіотичних стресових чинників. Фізіологія рослин і генетика. 2023. Т. 55, № 2. С. 95–130. URL: <https://www.frg.org.ua/articles/55020095a.pdf>
6. Кірізій Д. А., Кедрук А. С., Соколовська-Сергієнко О. Г., Махаринська Н. М., Стасик О. О. Особливості світлової індукції газообміну листків пшениці за впливу посухи різної тривалості та в період відновлення. Фізіологія рослин і генетика. 2024. Т. 56, № 3. С. 230–253. URL: <https://frg.org.ua/articles/56030230a.pdf>
7. Кірізій Д. А., Кедрук А. С., Соколовська-Сергієнко О. Г., Стасик О. О. Особливості світлової індукції газообміну листків пшениці за впливу посухи

різної тривалості. Фізіологія рослин і генетика. 2024.

URL: <https://frg.org.ua/uk/2024/230-253N3V56.htm>

8. Кірізій Д. А., Стасик О. О. Вплив посухи і високої температури на фізіолого-біохімічні процеси та продуктивність рослин. Фізіологія рослин і генетика. 2022. Т. 54, № 2. С. 95–122. URL: <https://frg.org.ua/articles/54020095a.pdf>

9. Кокорев О. І., Швиденко М. В., Лугова Г. А., Колупаєв Ю. Є. Індукування ферментативної антиоксидантної системи проростків пшениці та їх теплостійкості екзогенним кадаверином. Plants Stress and Adaptation : матеріали конференції. 2021. URL:

https://vbio.knau.kharkov.ua/uploads/visn_biology/conf/Visnyk_KhNAU_BIO_2021_special-issue.pdf

10. Колупаєв Ю. Є. Основи фізіології стійкості рослин : курс лекцій. Харків : ХНАУ, 2010. 121 с. URL: <https://surl.li/qptmgo>

11. Косаківська І. В., Васюк В. А., Войтенко Л. В., Щербатюк М. М. Гормональна система рослин за дії важких металів. Київ : Ін-т ботаніки НАН України, 2022. 240 с. URL: https://www.botany.kiev.ua/doc/hormonal_monograph_2022.pdf

12. Косаківська І. В., Войтенко Л. В., Васюк В. А., Бабенко Л. М., Романенко К. О., Щербатюк М. М., Футорна О. А. Молекулярна фізіологія стресостійкості злаків : монографія. Київ : Ін-т ботаніки НАН України, 2026. URL: <https://www.botany.kiev.ua/doc/kosakivska3.pdf>

13. Крайнюков О., Кривицька І., Черкашина Ю. Оцінка впливу важких металів на фотосинтезуючий апарат рослин. Молодий вчений. 2020. № 4 (80). С. 244–252. URL: <https://molodyivchenyi.ua/index.php/journal/article/view/1918/1893>

14. Леонтюк І. Б. Оргкомітет конференції. 2022. URL: <https://biology.udau.edu.ua/assets/files/praci/zbirnik-konferencii-22.06.2022.pdf>

15. Макрушин М. М., Макрушина Є. М., Петерсон Н. В., Мельников М. М. Фізіологія рослин. Вінниця : Нова книга, 2006. 413 с. URL: <https://files.znu.edu.ua/files/Bibliobooks/Boykaya/0036398.pdf>

16. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин : підручник. Київ : Либідь, 2005. 808 с. ISBN 966-06-0373-8. URL: <https://www.twirpx.com/file/2993647/>
17. Приседський Ю. Г. Стійкість рослин. 2017. URL: https://www.researchgate.net/profile/Yurii-Prysedskyi/publication/322299177_Stijkist_roslin_Prisedskij_2017/links/5a52004da6fdcc7690025add/Stijkist-roslin-Prisedskij-2017.pdf
18. Сердюк М. Є., Байберова С. С. Окисний стрес і антиоксидантна система захисту плодів яблуні. Харчова наука та технологія. 2015. Т. 9, № 2. URL: <https://journals.uran.ua/foodtech/article/view/44279>
19. Стасик О. О., Кірізій Д. А., Прядкіна Г. О. Фотосинтез і продуктивність: основні наукові досягнення та інноваційні розробки. Фізіологія рослин і генетика. 2021. Т. 53, № 2. С. 160–184. URL: <https://www.frg.org.ua/articles/53020160a.pdf>
20. Тарабан Д. А., Лугова Г. А., Колупаєв Ю. Є. та ін. Вплив праймінгу мелатоніном на *Triticum aestivum* за умов посухи та сольового стресу. Український ботанічний журнал. 2025. Т. 82, № 2. С. 128–141. URL: <https://ukrbotj.co.ua/pdf/82/2/ukrbotj-2025-82-2-128.pdf>
21. Шегеда І. М., Починок В. М., Кірізій Д. А., Маменко Т. П. Вплив умов азотного живлення на фотосинтез, продуктивність і білковість зерна озимої пшениці. Фізіологія рослин і генетика. 2018. Т. 50, № 2. С. 105–114. URL: <https://www.frg.org.ua/articles/50020105a.pdf>
22. Яковець Л. А. Вплив важких металів на основні фізіологічні процеси рослин. Всеукраїнська науково-практична конференція «Аграрна галузь України в умовах євроінтеграції: сучасний стан та перспективи розвитку», м. Вінниця, 24–25 травня 2023 р. 2023. URL: <http://vsau.vin.ua/repository/getfile.php/33744.pdf>
23. Ястреб Т. О., Кокорев О. І., Макаова Б. Є., Рябчун Н. І., Сахно Т. В., Дмитрієв О. П., Колупаєв Ю. Є. Реакція антиоксидантної системи проростків пшениці різних генотипів на дію екзогенних прооксидантів: зв'язок зі стійкістю

до абіотичних стресорів. Український біохімічний журнал. 2024. URL: <https://surl.li/vptart>

24. Chaves M. M., Flexas J., Pinheiro C. Photosynthesis under Drought and Salt

Stress: Regulation Mechanisms from Whole Plant to Cell. *Annals of Botany*. 2009.

Vol. 103, № 4. P. 551–560. URL:

https://www.researchgate.net/publication/23133543_Photosynthesis_Under_Drought_and_Salt_Stress_Regulation_Mechanisms_From_Whole_Plant_to_Cell

25. Foyer C. H., Shigeoka S. Understanding Oxidative Stress and Antioxidant Functions to Enhance Photosynthesis. *Plant Physiology*. 2011. Vol. 155, № 1. P. 93–100. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3075779/>

26. Gill S. S., Tuteja N. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010.

Vol. 48, № 12. P. 909–930. URL:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0981942810001798>

27. Lawlor D. W., Tezara W. Causes of Decreased Photosynthetic Rate and Metabolic Capacity in Water-Deficient Leaf Cells. *Annals of Botany*. 2009. Vol. 103, № 4. P. 561–579. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2707314/>

28. Lichtenthaler H. K., Buschmann C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2001. Vol. 1. P. F4.3.1–F4.3.8. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>

29. Munns R., Tester M. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of*

Plant Biology. 2008. Vol. 59. P. 651–681. URL:

https://www.researchgate.net/publication/5407353_Mechanisms_of_Salinity_Tolerance

30. Murchie E. H., Lawson T. Chlorophyll Fluorescence Analysis: A Guide to Good Practice and Understanding Some New Applications. *Journal of Experimental Botany*. 2013. Vol. 64, № 13. P. 3983–3998. URL:

<https://academic.oup.com/jxb/article/64/13/3983/436509>