

## АЗОТНО ХРАНЕНЕ И АКУМУЛИРАНЕ НА ФРУКТАНИ В ЕЧЕМИК

Светла Костадинова

Аграрен университет, Пловдив

### Резюме

*Костадинова, С. 2010. Азотно хранене и акумулиране на фруктани в ечемик.*

В съдов опит с пролетен ечемик образец №14 е проучван ефектът от нивото на азотно хранене (0, 150, 300 и 450 mg N/kg почва) върху акумулирането на фруктани и съдържанието на въглехидрати в надземните органи на растенията във фаза цъфтеж. Установено е, че стъблото и класа натрупват най-много фруктани. Стъблото акумулира средно с 52% повече фруктани, спрямо цъфтящия клас. Съдържанието на фруктани намалява успоредно с нарастване на азотното хранене до ниво N<sub>300</sub>. Акумулираните фруктани в стъблото и в класа са в отрицателна регресионна зависимост от азотното хранене и от надземната суха маса в цъфтеж. Неторените ечемични растения имат по-високи нива глюкоза, фруктоза и захароза в цъфтеж, спрямо торените с азот. Съдържанието на скорбяла в листата и в класа на образец №14 слабо се влияе от нивото на азотно хранене.

**Ключови думи:** пролетен ечемик – азотно хранене - въглехидрати

### Abstract

*Kostadinova, S. 2010. Nitrogen nutrition and fructans accumulation in barley.*

It was studied the effect of nitrogen nutrition (0, 150, 300 и 450 mg N/kg soil) on the fructans accumulation and carbohydrates content at spring barley standard No 14 grown under pot experiment. The aboveground organs of plants were examined at anthesis. The highest accumulation of fructans was found in the stems and spikes. The stems had by 52% more fructans than the spikes. Fructans contents parallel decreased with increasing the nitrogen nutrition up to N<sub>300</sub>. The negative regression relationships were established between the fructans accumulation and the nitrogen nutrition and the dry mass at anthesis. The plants without nitrogen fertilization had higher levels of glucose, fructose and sucrose, in comparison with N fertilized plants. The leaves and spikes starch contents of standard No 14 slightly depended from the nitrogen levels.

**Key words:** spring barley – nitrogen nutrition - carbohydrates

### УВОД

Основните водоразтворими въглехидрати във вегетативните части на ечемика са захароза и фруктани (полимери на фруктозата), които могат да се акумулират в значителни количества (Pollock & Cairns, 1991). Фруктаните, образувани от захароза са основната фракция на общия запас на водоразтворими въглехидрати в стъблата на ечемика (Kuhbauch & Thome, 1989; Vijn & Smeekens, 1999). Те участват в добива зърно като резервни въглехидрати за продължителен период от време (Schnyder, 1993; Gebbing *et al.*, 1999). Обикновено се натрупват в хетеротрофни акцепторни

(sink) тъкани, зависими от постъпване на въглехидрати, например междувъзлията на стъблото (Bonnert & Incoll, 1993), които също са тъкани с относително ниска фотосинтезна активност. Метаболизъм на фруктани в тези тъкани показва ролята им в повишаване устойчивостта на растенията към стрес фактори (Cairns, 2003).

Фруктаните могат да съставляват до 40% от сухата маса на стъблото и са основна запасна форма на неструктурни въглехидрати в ечемичното стъбло с пик на натрупване начало на наливане на зърното и бързо намаляват в по-късните фази на развитието му (Gebbing, 2003). По такъв начин растежа на зърното зависи от ремобилизация на фруктанови запаси, съхранени в стъблото както преди, така и след цъфтеж. Те поддържат степента на наливане на зърното при намалена фотосинтеза дължаща се на засушаване (Palta *et al.*, 1994), високи температури (Blum *et al.*, 1994) и болести (Blum, 1998). Участието на водоразтворими въглехидрати в добива зърно варира силно от климата, условията на отглеждане и генотипа - при нестресови условия е 10 – 20 % (Gebbing *et al.*, 1999; Shearman *et al.*, 2005) и при силен стрес нараства до 50% (Blum, 1998; van Herwaarden *et al.*, 1998). По тази причина способността за съхранение и ремобилизация на големи количества от водоразтворими въглехидрати в стъблата е желан белег в селекционните програми при условия с чести засушавания (Asseng & van Herwaarden, 2003; Chapman, 2008).

Азотът е един от основните фактори, контролиращ растежа и развитието на ечемика. Азотното хранене и торене трябва да се регулират внимателно и да се синхронизират с нуждите на културата и нейното предназначение. При условия на умерен климат активността на фотосинтезата зависи до известна степен от усвоения азот (Sylvester-Bradley *et al.*, 1997). Счита се, че азотът е един от външните фактори, който може да променя количеството резервни въглехидрати в растения, натрупващи фруктани (Diekmann & Fischbeck, 2005). Изследвания в тази насока до сега са провеждани предимно с пшеница. В полски опит е установено, че влиянието на азотно торене върху нивата на водоразтворими въглехидрати силно варира в зависимост от условията на годината, генотипа и фазата на развитие (Diekmann & Fischbeck, 2005). При житни генотипи е установена положителна корелационна връзка между високи нива на водоразтворими въглехидрати в цъфтеж и добива зърно (Ruuska *et al.*, 2008). Според Shiomi *et al.* (2006) пшенични растения натрупват повече фруктани, ако не са торени с азот до фаза флагов лист. Азотното торене води до мобилизация на фруктани и това е свързано с намалена активност на ензимите фруктозилтрансферази, регулиращи синтеза на фруктани (Wang *et al.* 2000).

Въпреки многобройната научна литература по азотно торене на ечемик, много малко проучвания фокусират върху снабдяването с азот и акумулирането на фруктани. Азотен недостиг (кратковременен или продължителен) стимулира образуване на захароза и фруктани в ечемик (Wang & Tilberg, 1996; Wang *et al.*, 2000).

Целта на настоящето изследване е да се проучи акумулирането на въглехидрати в пролетен ечемик в зависимост от нивото на азотно хранене.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Пролетен ечемик образец №14, с автентичен произход от ICARDA е проучван при условията на съдов опит в неотопляема оранжерия. Семената са предоставени от Института по земеделие – Карнобат, където е установено, че образец №14 притежава ценни селекционно-генетични качества (Атанасов, 2001). Растенията са отглеждани в пластмасови съдове с обем 5 L (10 растения на съд). Проучвани са четири нива на азотно хранене – 0, 150, 300 и 450 mg N/kg почва, създадени чрез торене с  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Опитът е извеждан в четирикратна повтораемост. Използваната почва има  $\text{pH}_{\text{вода}} = 7,1$  и съдържа минерален азот 22.7 mg N/kg, подвижен фосфор (Егнер-Рийм) и усвоим калий (2N HCl) 34 и 56 mg/100g, съответно.

Влияние на нивото на азотно хранене върху натрупване на водоразтворими въглеhidрати (глюкоза, фруктоза, захароза и фруктани) и скорбяла в надземните части на ечемика е проучвано в цъфтеж. За целта е взето по 1 стъбло (със съответните листа и клас) от всяко повторение. Пробите веднага са поставени в течен азот *in situ* и до започване на анализа са съхранявани при температура  $-80^{\circ}\text{C}$ . Настъпването на цъфтеж е прието при отворени цветчета в 50% от класовете. Към стъблата са отнесени и листните обвивки.

Извличането на водоразтворимите въглеhidрати от различните растителни части е базирано на метод предложен от Stitt et al. (1978), а извличането на скорбяла е извършено съгласно ap Rees et al. (1977). Количеството на въглеhidратите е измерено на спектрофотометър UV Hewlett Packard 845 A, въз основа ензимно оксидиране и редукцията на пиридиновите нуклеотиди (Lowry & Passonneau, 1972).

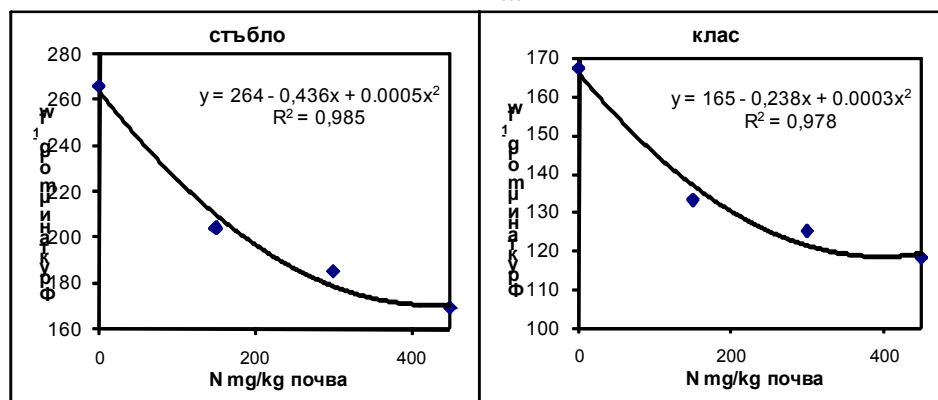
### РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от настоящето проучване показват, че стъблото и класа са частите на ечемик, натрупващи най-много фруктани (Табл. 1).

**Таблица 1.** Съдържание на фруктани ( $\mu\text{mol g}^{-1}\text{ fw}$ ) в надземните части на ечемик в цъфтеж

Ниво на азот	Листа	Стъбло	Клас
N <sub>0</sub>	18,2 a	266 a	167 a
N <sub>150</sub>	16,3 a	204 b	133 b
N <sub>300</sub>	8,7 b	185 c	125 b
N <sub>450</sub>	6,0 b	169 c	118 b
Средно	12,3	206	136

Средното съдържание на фруктани в стъблото е 17 пъти, а в класа 11 пъти по-високо от това в листата. Ечемичните стъбла натрупват средно с 52% повече фруктани, спрямо класовете. Наблюдава се тенденция за по-ниски нива фруктани в листата, класа и стъблото, успоредно с повишаване на торенето с азот. В класа са доказани единствено разликите между не торените растения и вариантите с азотно торене. В стъблото съдържанието на фруктани доказано намалява успоредно с нарастване на азотното хранене до ниво N<sub>300</sub>.

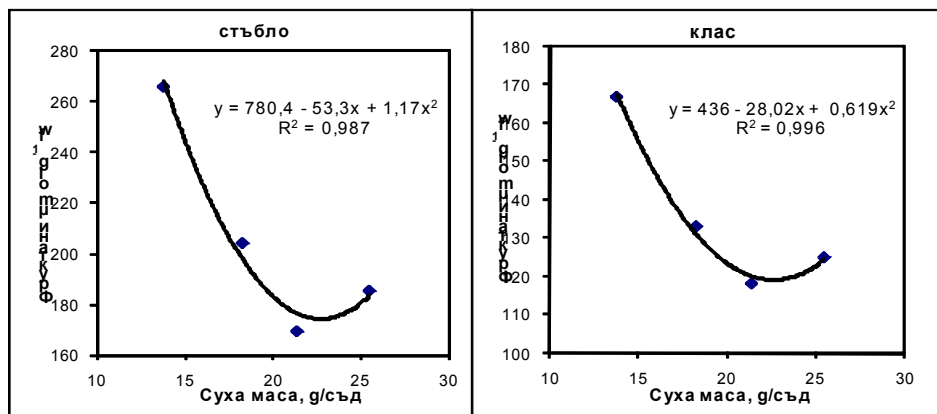


**Фигура 1.** Зависимост между нивото на азотно хранене и акумулирането на фруктани при ечемик в цъфтеж.

Обратна връзка между азотно хранене и съдържание на фруктани е наблюдавана при пшеница (McGrath et al. 1997). В настоящето проучване се

установява отрицателна регресионна зависимост между торенето с азот и натрупаните фруктани в ечемичното стъбло и клас (Фиг.1).

При изследваните нива на азотно хранене зависимостта между количествата суха маса и фруктани в цъфтеж също е отрицателна (Фиг. 2). Резултатите от тези зависимости показват необходимостта от бъдещи научни изследвания за установяване на прецизен баланс между азотно торене и продуктивност, с цел успешно използване на ечемик за добив на фруктани.



Фигура 2. Зависимост между натрупване на суха маса и на фруктани в ечемик в цъфтеж.

Wang & Tillberg (1996) допускат, че засилено натрупване на фруктани в донорни (source) листа на ечемик се дължи на ограничен експорт към акцепторните места (sink) и задържане на захароза в донорните тъкани. Същите автори установяват, че при недостиг на азот активността на ензима захароза:захароза 1-фруктозилтрансфераза в ечемичните листа не кореспондира с относително постоянното съдържание на захароза (Wang & Tillberg 1996). Нивата на глюкоза и фруктоза са най-ниски в листата, а стойностите им в стъблото и в класа са близки (Табл. 2). Акумулирането на фруктоза е подобно на това на глюкоза.

Неторените растения съдържат повече глюкоза, фруктоза и захароза, спрямо торените с азот растения. Нашите резултати кореспондират на данни за цикория при засушаване (Roover 2000) и за власатка при ниски температури (Perez et al. 2001), при които натрупването на фруктани е свързано с по-високи нива на глюкоза, фруктоза и захароза. В контраст на това, Wang et al. (2000) съобщават за хидропонен ечемик по-високи нива на глюкоза, фруктоза и захароза в sink листа нормално снабдени с азот, спрямо отглеждани при недостиг на азот листа и повторно подхранени с азот. Това противоречие вероятно се дължи на механизма на ремобилизация на фруктанови резерви и активността на участващите в процеса ензими (Wardlaw & Willenbring, 2000; Yang et al, 2004). Нивото на азотно хранене  $N_{150}$  –  $N_{450}$  не влияе съществено върху натрупване на глюкоза и фруктоза в надземните части на ечемик в цъфтеж.

Нивата на захароза в пшенично стъбло слабо се променят по време на наливане на зърното (Wardlaw & Willenbring, 2000). Yang et al. (2004) установяват, че съдържанието на глюкоза, фруктоза и захароза в пшеница при засушаване намалява по-слабо, спрямо това на фруктани, които намаляват значително. Доказани различия в съдържанието на захароза в ечемични листа и стъбло са установени между неторените и торените с азот растения, а в класа липсват доказани разлики в нивата на захароза (Табл. 2). Според Shiommi et al. (2006) по време на наливане на зърното съдържанието на захароза в стъблото на пшеница е сравнително постоянно и не се

влиятелно съществено от нормата и срока на внасяне на азот.

**Таблица 2.** Съдържание на въглехидрати ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{fw}$ ) в надземните части на ечемик в цъфтеж

Ниво на азот	Глюкоза	Фруктоза	Захароза	Скорбяла
Листа				
N <sub>0</sub>	9,70 a	8,65 a	50,6 a	3,90
N <sub>150</sub>	5,63 b	5,35 b	44,4 b	3,48
N <sub>300</sub>	6,12 b	5,14 b	40,1 c	4,59
N <sub>450</sub>	3,30 b	3,88 c	42,3 bc	5,98
LSD	1,60	1,31	4,24	ns
Стъбло				
N <sub>0</sub>	16,7 a	17,8 a	34,1 a	-
N <sub>150</sub>	11,4 b	12,7 b	27,0 b	-
N <sub>300</sub>	9,7 b	10,0 c	25,4 b	-
N <sub>450</sub>	10,1 b	11,3 bc	24,7 b	-
LSD	2,09	2,62	4,23	
Клас				
N <sub>0</sub>	14,6 a	16,3 a	46,0	394
N <sub>150</sub>	10,1 b	11,3 bc	41,1	447
N <sub>300</sub>	9,5 b	8,7 c	45,6	485
N <sub>450</sub>	11,1 b	13,2 b	43,2	465
LSD	3,41	3,33	ns	ns

При тютюн е установено, че високо ниво на нитратно хранене потиска метаболизма на скорбяла (Scheible et al, 1997a). Нашите данни за ечемик не кореспондират с това. Различията в съдържанието на скорбяла в листата и в класа в зависимост от нивото на азотно торене не са доказани, а стойностите за стъблото са много ниски (под  $0,2 \mu\text{mol g}^{-1} \text{fw}$ ) поради което не са посочени в **Табл. 2**.

### ИЗВОДИ

Във фаза цъфтеж стъблото и класа на пролетен ечемик образец №14 са частите, където се натрупват най-много фруктани, като стъблото акумулира средно с 52% повече фруктани, спрямо цъфтящия клас.

Съдържанието на фруктани намалява успоредно с нарастване на азотното хранене до ниво N<sub>300</sub>. Установени са отрицателни регресионни зависимости между азотното хранене и съдържанието на фруктани в стъблото и в класа, и между натрупаните суха маса и фруктаните в цъфтеж.

Неторените ечемични растения имат по-високи нива глюкоза, фруктоза и захароза в цъфтеж, спрямо торените с азот. Съдържанието на скорбяла в листата и в класа на образец №14 слабо се влияе от нивото на азотно хранене.

### ЛИТЕРАТУРА

- Атанасов, П. (2001).** Селекционно-генетични проучвания на колекция голозърнест ечемик, Док. дисертация, София
- Asseng, S. & van Herwaarden, A.F. (2003)** Analysis of the benefits to yield from assimilates stored prior to grain filling in a range of environments, *Plant Soil* 256, 217-229
- Blum, A., (1998).** Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilization, *Euphytica* 100: 77-83
- Blum, A., Sinmena, B., Mayer, J., Golan, G., Shpiler, L., (1994)** Stem reserve mobilisation supports wheat-grain filling under heat stress, *Aust. J. Plant Physiol.* 21, 771-781

- Bonnett, G.D. & L.D. Incoll, (1993)** Effects on the stem of winter barley of manipulating the source and sink during grain-filling. 1. Changes in accumulation and loss of mass from internodes. *Journal of Experimental Botany* 44: 75–82
- Cairns, A.J., A. Cookson, B.J. Thomas, L.B. Turner (2003)** Starch metabolism in the fructan-grasses: patterns of starch accumulation in excised leaves of *Lolium temulentum* L., *Journal of Plant Physiology* 159: 293–305
- Chapman, S.C., (2008)** Use of crop models to understand genotype by environment interactions for drought in real-world and simulated plant breeding trials, *Euphytica* 161, 195-208
- Diekmann, F. & G. Fischbeck (2005)** Differences in wheat cultivar response to nitrogen supply. II: Differences in N-metabolism-related traits, *Journal of Agronomy and Crop Science* 191: 362-376
- Gebbing, T., H. Schnyder & W. Kuhbauch (1999)** The utilization of pre-anthesis reserves in grain filling in wheat, Assessment by steady-state <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C labelling, *Plant Cell and Environment*, 22: 851-858
- Gebbing, T. (2003)** The enclosed and exposed part of the peduncle of wheat (*Triticum aestivum*) – spatial separation of fructan storage, *New Phytologist*, 159: 245-252
- Kuhbauch, W., Thome, U. (1989)** Nonstructural carbohydrates of wheat stems as influenced by sink-source manipulations. *J. Plant Physiol.* 134, 243–250
- Lowry, O.H. & J.V. Passonneau (1972)** A flexible system of enzymatic analysis, Academic Press, New York
- McGrath V.B., A.B. Blakeney & G.D. Batten (1997)** Fructan to nitrogen ratio as an indicator of nutrient stress in wheat crops, *New Phytologist* 136: 145-152
- Palta, J.A., Kobata, T., Turner, N.C., (1994)** Carbon and nitrogen in wheat as influenced by postanthesis water deficits, *Crop Sci.* 34, 118–124
- Perez, P., R. Morcuende, I. Martn del Molino, L. Snchez de la Puente, R. Martnez-Carrasco (2001)** Contrasting responses of photosynthesis and carbon metabolism to low temperatures in tall fescue and clovers, *Physiologia Plantarum* 112: 478–486
- Pollock, C.J. & A.J. Cairns (1991)** Fructan metabolism in grasses and cereals, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 77–101
- ap Rees, T., B. Wright, A. Fuller (1977)** Measurement of starch breakdown as estimates of glycolysis during thermogenesis by spatix of *Acer maculatum*, *Planta* 134: 53-56
- Roover, J., K. Vandenbranden, A. van Laere, W. van den Ende (2000)** Drought induces fructan synthesis and 1-SST (sucrose: sucrose fructosyltransferase) in roots and leaves of chicory seedlings (*Cichorium intybus* L.), *Planta* 210: 808-814
- Ruuska, S.A., Lewis, D.C, Kennedy, G. (2008)** Large scale transcriptome analysis of the effects of nitrogen nutrition on accumulation of stem carbohydrate reserves in reproductive stage wheat, *Plant Molecular Biology*, 66:15-32
- Scheible, W.R., A. Gonzlez-Fontes, M. Lauerer, B. Mller-Rober et al. (1997)** Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco, *Plant Cell* 9: 783-798
- Schnyder, H. (1993)** The role of carbohydrate storage and redistribution in the source-sink relations of wheat and barley during grain-filling: a review, *New Phytologist* 123: 233–245
- Shearman, V.J., Sylvester-Bradley, R., Scott, R.K., Foulkes, M.J. (2005)** Physiological processes associated with wheat yield and progress in the UK, *Crop Sci.* 45, 175–185
- Shiomi, N., N. Benkeblia, S. Onodera, T. Yoshihira, S. Kosaka (2006)** Fructan accumulation in wheat stems during kernel filling under varying nitrogen fertilization, *Canadian Journal of Plant Science* 86: 1027-1035
- Stitt M., P.V. Bulpin, T. Rees (1978)** Pathway of starch breakdown in photosynthetic tissue of *Pisum sativum*, *Bioch. Biophysic acta* 544: 200-214
- Sylvester-Bradley, R., R. Scott, D. Stockes (1997)** The significance of crop canopies for

- N nutrition, *Aspects Appl. Biol.* 50: 103-116
- Van Herwaarden, A.F., Angus, J.F., Richards, R.A., Farquhar, G.D., (1998)** Haying-off, the negative grain yield response to nitrogen fertiliser. II. Carbohydrate and protein dynamics, *Aust. J. Agric. Res.* 49, 1083–1093
- Vijn, I., Smeeckens, S., (1999)** Fructan: more than a reserve carbohydrate? *Plant Physiol.* 120, 351–359
- Wang, C. & J. Tillberg (1996)** Effects of nitrogen deficiency on accumulation of fructan and fructan metabolizing enzyme activities in sink and source leaves of barley (*Hordeum vulgare*), *Physiologia Plantarum* 97: 339–345
- Wang, C., W. van den Ende, J. Tillberg (2000)** Fructan accumulation induced by nitrogen deficiency in barley leaves correlates with the level of sucrose: fructan 6-fructosyltransferase mRNA, *Planta* 211: 701–707
- Wardlaw, I., & J. Willenbring (2000)** Mobilization of fructan reserves and changes in enzymes activities in wheat stems correlate with water stress during kernel filling, *New Phytologist* 148: 413-422
- Yang, J.C., J. Zhang, Z. Wang (2004)** Activities of fructan- and sucrose-metabolizing enzymes in wheat stems subjected to water stress during grain filling, *Planta* 220: 331-343

