

Rossikhina A. S., Popov V. Y., Vinnichenko A. N.
Simulation of the combined action of drought and residual herbicides on grain crops

УДК 632.954+551.577.38

А. С. Россихина, В. Я. Попов, А. Н. Винниченко

Днепропетровский национальный университет

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЗАСУХИ И ОСТАТОЧНЫХ ГЕРБИЦИДОВ НА ЗЕРНОВЫЕ КУЛЬТУРЫ

На прикладі комбінованого впливу двох факторів – осмотичного тиску (імітованої посухи) та залишкового гербіциду фронт'єр через прикореневу зону на паростки кукурудзи та пшениці в межах повного двофакторного лабораторного експерименту отримані регресійні залежності модуля зсуву активності супероксиддисмутази від варіювання на трьох рівнях факторів. Отримані корельовані з ферментативною активністю оцінки індексу стійкості досліджуваних рослин до екзогенного впливу факторів.

Using two-factor experimental design the combined action of osmotic pressure (simulated drought) and residual herbicide Frontier through a radical zone of maize and wheat seedlings was studied. The regressions between the module of superoxide dismutase activity shift and factors varied at three levels were obtained. The indices of plant tolerance to exogenous factors correlate with enzymatic activity.

Введение

Одним из характерных экстремальных проявлений окружающей среды является засуха, которая сопровождается значительными потерями растениеводческой продукции, в том числе зерновых культур. Наиболее неблагоприятными для растений

© А. С. Россихина, В. Я. Попов, А. Н. Винниченко, 2006

145

являются комбинированные воздействия засухи и ксенобиотиков. Так, при выращивании сельскохозяйственных культур в климатических условиях с типичными весенними засухами, адаптация растений к пониженному содержанию влаги может сопро-вождаться на фоне воздействия остаточных почвенных гербицидов.

Для экосистем высокоурбанизированных регионов характерно комбинированное воздействие на растения типичных засух на фоне тяжелых металлов, источниками которых являются промышленные предприятия и автомобильные трассы. Проблема изучения комбинированного взаимодействия засухи и ксенобиотиков существует также в области экологической физиологии растений при определении маркерных признаков воздействия техногенного загрязнения на древесные растения для оценки состояния окружающей среды [6].

Большинство публикаций посвящено жаро- и засухоустойчивости растений [1; 3; 8], опубликованы патентные материалы [4; 5]. Поскольку засухи приводят к существенным потерям сельскохозяйственной продукции, методологическое обеспечение всестороннего исследования биологической и агрономической стойкости растений к засухе является задачей государственной важности.

В связи с изложенным выше цель данной работы – подтверждение целесообразности исследований засухоустойчивости растений с учетом влияния ксенобиотиков, а также выявление биохимического механизма комбинированного экзогенного воздействия перечисленных факторов на зерновые культуры.

Материал и методы исследований

Непосредственная оценка уровня агрономической стойкости растений к засухе является трудоемкой задачей. Поэтому в селекционной и интродукционной практике широко применяются непрямые лабораторные методы оценки биологической стойкости по физиологическим, анатомическим, морфометрическим и биохимическим показателям. Толерантность зерновых культур к экзогенному воздействию двух факторов – засухи и остаточных гербицидов – исследовали в модельном эксперименте по следующей методике.

Тест-объекты на ювенильном этапе онтогенеза подвергали через корневую систему дозированным по уровню и длительности раздельному и комбинированному воздействиям засухи и гербицида. Затем измеряли модуль сдвига параметра, реакции мишени на ингибиторное действие факторов с последующим определением индекса толерантности тест-объектов.

В качестве тест-объектов использовали выдержанные в течение восьми суток в дистиллированной воде проростки кукурузы (*Zea mays* L., гибрид Кадр 267 МВ) и пшеницы (*Triticum durum* L., сорт Лада). Заданный уровень засухи имитировали путем обезвоживания клеток тест-объектов в течение двух суток (девятые и десятые сутки ювенильного этапа онтогенеза) в растворе сахарозы в дистиллированной воде с повышенным осмотическим давлением P [7]. В качестве ксенобиотика использовали почвенный гербицид фронтьер класса хлорацетанилидов заданной концентрации C , которым воздействовали в течение двух суток (девятые и десятые сутки онтогенеза) на тест-объекты.

Индекс толерантности зерновой культуры к экзогенному раздельному и комбинированному воздействиям факторов определяли отношением модулей сдвига параметра реакции мишени на ингибиторное действие факторов контрольного и исследуемого растений. В качестве мишени ингибиторного действия повышенного осмотического давления и гербицида использовали один из основных ферментов антиоксидантной системы защиты растения – супероксиддисмутазу (СОД), а как параметр

реакции мишени – модуль сдвига ферментативной активности $|\Delta A|$ за время воздействия стресс-факторов. Приведенные выше факторы варьировались на нижнем ($P = 1$ атм.; $C = 0$ мг/л) и верхнем ($P = 15$ атм.; $C = 100$ мг/л) уровнях. Влияние факторов P и C на активность СОД *in vivo* оценивали степенью ингибирования процесса обновления нитротетразолия синего в системе феназинметасульфат – $NADH^+$ –нитротетразолий синий [9].

При определении уравнений регрессии, характеризующих зависимость $|\Delta A|$ от P , C , вводили следующие кодированные численные обозначения уровней факторов: вместо 1 атм. для нижнего уровня P принимали значение -1 , вместо 15 атм. для верхнего уровня P – значение $+1$; вместо 0 мг/л для нижнего уровня C – значение -1 , вместо 100 мг/л для верхнего уровня C – значение $+1$.

Подтверждение правомерности использования полученных моделей для описания зависимости реакции мишени на воздействие исследуемых факторов осуществляли за счет положительных результатов постановки опытов в центре эксперимента ($P = 8$ атм.; $C = 50$ мг/л; кодированные численные обозначения уровней данных факторов – $P = 0$, $C = 0$, что соответствует началу координат, находящемуся в центре эксперимента) с последующей проверкой 0 – гипотезы: $|\Delta A_0| = b_0$, где b_0 – свободный член уравнений, описывающих зависимость $|\Delta A|$ от P , C для кукурузы и пшеницы [2].

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли на 5 % уровне значимости, при этом ошибка измерений не превышала 5 %.

Результаты и их обсуждение

План проведения и результаты эксперимента приведены в табл. 1, где $|\Delta A_k|$, $|\Delta A_p|$, $|\Delta A_c|$, $|\Delta A_{p+c}|$ – модули сдвига активности СОД в условиях отсутствия влияния (контроль), раздельного и комбинированного воздействий на растение повышенного осмотического давления и гербицида соответственно.

Таблица 1

План проведения и результаты двухфакторного эксперимента с двумя уровнями факторов

Тест-объект	Факторы	Осмотическое давление	Концентрация гербицида	Модуль сдвига ферментативной активности $ \Delta A $	Уравнение зависимости $ \Delta A $ от P , C
	обозначение переменных	P	C		
	нижний уровень (–)	1,0	0		
	верхний уровень (+)	15,0	100,0		
единицы измерения	атм.	мг/л	условная единица $\cdot \text{мин.}^{-1} \cdot \text{г}^{-1}$ сырой массы		
Кукуруза	Опыт 1	–	–	$ \Delta A_k = 4,59$	$ \Delta A = 6,40 + 1,21P + 0,75C + 0,15PC$ $(\Delta A_0 = 6,54)$
	Опыт 2	+	–	$ \Delta A_p = 6,71$	
	Опыт 3	–	+	$ \Delta A_c = 5,79$	
	Опыт 4	+	+	$ \Delta A_{p+c} = 8,50$	
Пшеница	Опыт 1	–	–	$ \Delta A_k = 3,45$	$ \Delta A = 6,48 + 1,86P + 1,63C + 0,46PC$ $(\Delta A_0 = 6,67)$
	Опыт 2	+	–	$ \Delta A_p = 6,25$	
	Опыт 3	–	+	$ \Delta A_c = 5,79$	
	Опыт 4	+	+	$ \Delta A_{p+c} = 10,43$	

Описываемая полученными уравнениями регрессии поверхность отклика мишени на комбинированное воздействие факторов состоит из прямых линий, поскольку

ку при любом фиксированном P или C эти уравнения превращаются в линейные. При этом характерной особенностью является более высокая чувствительность исследуемых тест-объектов к воздействию фактора P по сравнению с фактором C .

Вся поверхность отклика криволинейна в связи с тем, что в уравнениях содержатся слагаемые $0,15 PC$ (кукуруза) и $0,46 PC$ (пшеница), которые определяют эффект взаимодействия факторов P и C . При наличии этого взаимодействия характеризовать влияние одного из взаимодействующих факторов на устойчивость растения возможно с указанием уровня второго фактора. Одна из наиболее реальных гипотез, раскрывающих биологическую сущность эффекта взаимодействия факторов P и C , заключается в следующем. Под влиянием фактора P изменяются состав и концентрация в клетках ионов, в том числе ионов H^+ , облегчаются процессы выхода ионов из клеток. Под влиянием фактора C , характеризующегося проникновением гербицида внутрь клеток корневой системы растения, происходит деформация мембран и локализованных в них H^+ -насосов. При этом изменяется выделительная активность корневой системы и наблюдается изменение pH инкубационной среды. В связи с проблематичностью регистрации модуля сдвига pH (ΔpH) внутри субклеточных частиц *in vivo* проведено изучение эффекта взаимодействия факторов P и C при изменении pH *in vitro*. Полученные при этом эмпирические данные приведены в табл. 2.

Таблица 2

Зависимость pH прикорневой зоны тест-объектов от уровней факторов

Тест-объект	Факторы	Осмотическое давление	Концентрация гербицида	ΔpH
	обозначение переменных	P	C	
	нижний уровень (-)	1,0	0	
	верхний уровень (+)	15,0	100,0	
	единицы измерения	атм.	мг/л	
Кукуруза	Опыт 1	-	-	0,30
	Опыт 2	+	-	2,07
	Опыт 3	-	+	0,72
	Опыт 4	+	+	2,43
Пшеница	Опыт 1	-	-	0,38
	Опыт 2	+	-	2,09
	Опыт 3	-	+	0,77
	Опыт 4	+	+	2,53

Таблица 3

Индексы толерантности исследуемых растений к раздельному и комбинированному воздействиям осмотического давления и гербицида

Тест-объект	Индекс толерантности				
	$I_p = \frac{ \Delta A_k }{ \Delta A_p }$	$I_c = \frac{ \Delta A_k }{ \Delta A_c }$	$I_{p+c} = \frac{ \Delta A_k }{ \Delta A_{p+c} }$	$I_{p+c} = I_p * I_c$	$I_{p+c} = \frac{ \Delta A_{\bar{e}} }{6,35 \Delta A_N - 4,21 \Delta A_D }$
Кукуруза	0,68	0,79	0,54	0,54	0,54
Пшеница	0,55	0,59	0,33	0,32	0,33

Под влиянием изменения ионного состава и концентрации ионов H^+ в клетках изменяется активность ферментов, особенно СОД, осуществляющих регуляцию метаболизма клетки, то есть ее биохимических процессов. Это связано с присутствием в активных центрах ферментов кислотных и основных групп, принимающих участие

в катализе. При выходе указанных выше изменений в клетках за пределы устойчивости растения к воздействию факторов P , C происходит торможение клеточного деления и особенно растяжения. Динамика торможения зависит от степени устойчивости исследуемых растений к воздействию изучаемых факторов. Показатели устойчивости исследуемых тест-объектов к изучаемым факторам среды приведены в табл. 3.

Результаты сравнения показателей табл. 3 подтверждают целесообразность предложенного в работе подхода к определению конечного значения устойчивости растения к засухе с учетом определенной концентрации остаточного почвенного гербицида.

Выводы

Полученные результаты подтверждают целесообразность учета ингибиторного действия остаточных почвенных гербицидов в процессе оценки засухоустойчивости зерновых культур. Приведенный в работе вариант интерпретации биохимической сущности эффекта взаимодействия факторов, выявленного в результате математического моделирования изучаемого процесса, создает предпосылки для совершенствования методологического обеспечения исследований засухоустойчивости зерновых сельскохозяйственных растений в селекционной и интродукционной практике.

Библиографические ссылки

1. **Генкель П. А.** Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. – М.: Наука, 1982. – 279 с.
2. **Максимов В. Н.** Многофакторный эксперимент в биологии. – М.: МГУ, 1980. – 280 с.
3. **Методы** оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды / Под ред. Г. В. Удовенко. – Л.: Колос, 1976. – 318 с.
4. **Патент** № 45768 А Украина, МКВ 7A01G7/00. Спосіб відбору посухостійких сортів озимої пшениці / О. І. Жук, І. П. Григорюк. – Опубл. 15.04.2002, Бюл. № 4.
5. **Патент** № 2062564 Россия, А01Н1(04). Способ оценки устойчивости растений к засухе северного и южного типа на ранних этапах онтогенеза / О. П. Радченко, Г. Г. Гельвердиева. – Опубл. 27.06.1996, Бюл. № 18.
6. **Попов В. Я.** О проблеме биоиндикации техногенного загрязнения окружающей среды // Проблемы природопользования, устойчивого развития и техногенной безопасности регионов. Матер. III Междунар. конф. – Д., 2005. – Ч. 2. – С. 284.
7. **Равич-Щербо М. И.** Физическая и коллоидная химия / М. И. Равич-Щербо, В. В. Новиков. – М.: Высшая школа, 1975. – С. 37–43.
8. **Современные методы исследования** и оценки засухо- и жаростойкости растений / И. А. Григорюк, В. И. Ткачев, С. В. Свинская, Н. Н. Мусиенко. – К.: Наук. світ, 2003. – 139 с.
9. **Fried R.** Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide dismutase // Biochem. – 1975. – Vol. 57, N 3. – P. 657–660.

Надійшла до редколегії 30.05.06.