

УДК 632.954+551.577.38
© 2014

Г.С. РОССИХІНА-ГАЛИЧА,
здобувач

**Ю.В. ЛИХОЛАТ,
О.М. ВІННИЧЕНКО,
Ю.І ГРИЦАН,**
доктори біологічних наук

МАТЕМАТИЧНЕ
МОДЕЛЮВАННЯ ПРИ
ДОСЛІДЖЕННІ СТІЙКОСТІ
КУКУРУДЗИ ТА ПШЕНИЦІ
ДО КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ
ПОСУХИ ТА ГЕРБІЦИДІВ

Дніпропетровський національний
університет імені О. Гончара–
Дніпропетровський державний
аграрний університет

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

Ключові слова: посуха, гербіциди, супероксиддисмутаза, пшениця, кукурудза, паростки, двофакторний експеримент, індекс стійкості.

Одним із характерних екстремальних проявів довкілля є посуха, яка супроводжується значними втратами рослинної продукції, у тому числі і зернових культур. Більшість наукових публікацій присвячена жаро- і посухостійкості рослин [1, 3, 5–7], при цьому спостерігається суттєвий дефіцит застосування математичного моделювання досліджуваних процесів. Для екосистем високоурбанізованих регіонів характерна комбінована дія на рослини типових посух на тлі різноманітних ксенобіотиків, зокрема гербіцидів. Оскільки посухи призводять до суттєвих втрат сільськогосподарської продукції, методологічне забезпечення всебічного дослідження біологічної й агрономічної стійкості рослин до посухи є задачею державної важливості.

У зв'язку з викладеним **мета даної роботи** – дослідити посухостійкість рослин з урахуванням впливу ксенобіотиків, а також виявити біохімічний механізм комбінованого екзогенного впливу перелічених факторів на зернові культури.

Методика досліджень. Безпосередня оцінка рівня агрономічної стійкості рослин щодо дії посухи є трудомісткою задачею. Тому в селекційній та інтродукційній практиці широко застосовуються непрямі лабораторні методи оцінки біологічної стійкості щодо фізіологічних, анатомічних, морфометричних і біохімічних показників. Толерантність зернових культур щодо екзогенної дії двох факторів – посухи і залишкових гербіцидів – досліджували у модельному експерименті із застосуванням загальноприйнятої методики [8, 9].

Тест-об'єкти на ювенільному етапі онтогенезу піддавали крізь кореневу систему дозованим щодо рівня та тривалості роздільному й комбінованому впливам посухи та гербіциду. Потім вимірювали модуль зсуву параметра реакції мішені щодо інгібіторної дії стрес-факторів з подальшим визначенням індексу толерантності тест-об'єктів.

Як тест-об'єкт використовували витримані вісім діб у дистильованій воді проростки кукурудзи (*Zea mays* L., гібрид Кадр 267МВ)

і пшениці (*Triticum durum* L., сорт Лада). Заданий рівень посухи імітували шляхом зневоднення клітин тест-об'єктів протягом двох діб (дев'ята й десята доби ювенільного етапу онтогенезу) в розчині сахарози у дистильованій воді з визначеним рівнем підвищеного осмотичного тиску P [4]. Як ксенобіотик використовували ґрунтовий гербіцид фронт'єр класу хлорацетанілідів визначеної концентрації C , яким впливали протягом дев'ятої й десятої діб онтогенезу щодо тест-об'єктів.

Індекс толерантності зернової культури до екзогенного роздільного та комбінованого впливів факторів визначали відношення модулів зсуву параметра реакції мішені на інгібіторну дію факторів щодо контрольної та досліджуваної рослин. Як мішень інгібіторної дії підвищеного осмотичного тиску та гербіциду використовували один з основних ферментів антиоксидантної системи захисту рослин – супероксиддисмутази (СОД), а як параметр реакції мішені, критерій оцінки толерантності тест-об'єктів, ототожненого з фізіологічною активністю досліджуваних рослин, – модуль зсуву ферментативної ак-

тивності $|AA|$ за термін дії стрес-факторів. Наведені фактори варіювалися на нижньому ($P = 1$ атм; $C = 0$ мг/л) і верхньому ($P = 15$ атм; $C = 100$ мг/л) рівнях. Вплив факторів P і C на активність СОД *in vivo* оцінювали ступенем інгібування процесу оновлення нітротетразолія синього в системі фенозинметасульфат – $NADH^+$ – нітротетразолій синій [10].

Під час розв'язання рівнянь регресії, які характеризують залежність $|AA|$ від P , C , були наведені кодовані чисельні визначення рівнів факторів: замість 1 атм для нижнього рівня P приймали значення -1 , замість 15 атм для верхнього рівня P – значення $+1$; замість 0 мг/л для нижнього рівня C – значення -1 , замість 100 мг/л для верхнього рівня C – значення $+1$.

Підтвердження правомірності застосування отриманих моделей для опису залежності реакції мішені на вплив досліджуваних факторів виконували за рахунок позитивних результатів постановки дослідів у центрі експерименту ($P = 8$ атм; $C = 50$ мг/л; кодові чисельні позначення рівнів факторів – $P = 0$,

1. План проведення і результати двофакторного експерименту з двома рівнями факторів

Тест-об'єкти	Фактор	Осмотичний тиск, атм.	Концентрація гербіциду, мг/л	Модуль зсуву ферментативної активності $ AA $, ум.од./г наважки · хв	Рівняння залежності $ AA $ від P, C
	Позначення змінних	P	C		
	Нижній рівень (-)	1,0	0		
	Верхній рівень (+)	15,0	100,0		
Кукурудза	Дослід 1	-	-	$ AA_k = 4,59$	$ AA = 6,40 + 1,21P + 0,75C + 0,15PC$ ($ AA_0 = 6,54$)
	Дослід 2	+	-	$ AA_p = 6,71$	
	Дослід 3	-	+	$ AA_c = 5,79$	
	Дослід 4	+	+	$ AA_{p+c} = 8,50$	
Пшениця	Дослід 1	-	-	$ AA_k = 3,45$	$ AA = 6,48 + 1,86P + 1,63C + 0,46PC$ ($ AA_0 = 6,67$)
	Дослід 2	+	-	$ AA_p = 6,25$	
	Дослід 3	-	+	$ AA_c = 5,79$	
	Дослід 4	+	+	$ AA_{p+c} = 10,43$	

$C = 0$, що відповідає початку координат, який знаходиться у центрі експерименту) з подальшою перевіркою 0-гіпотези: $|\Delta A_0| = b_0$, де b_0 – вільний член рівнянь, що описують залежність $|\Delta A|$ від P, C для кукурудзи й пшениці [2]. Статистичну обробку експериментальних даних виконували на 5%-вому рівні значущості, при цьому помилка вимірювань не перевищувала його 5 %.

Результати досліджень та їх обговорення. План проведення й результати експерименту наведені у табл. 1, де $|\Delta A_K|, |\Delta A_P|, |\Delta A_C|, |\Delta A_{P+C}|$ – модулі зсуву активності СОД в умовах відсутності впливу (контроль), роздільного й комбінованого впливів на рослину підвищеного осмотичного тиску і гербіцидного впливу.

Описувана отриманими рівняннями регресії поверхня відгуку мішені відносно комбінованої дії факторів складається з прямих ліній, тому що за будь-якого фіксованого значення P або C дані рівняння стають лінійними, при цьому характерною особливістю є більш висока чутливість досліджуваних тест-об'єктів до дії посухи порівняно з гербіцидом.

Уся поверхня відгуку криволінійна, оскільки рівняння містять складові $0,15 PC$ (кукурудза) і $0,46 PC$ (пшениця), які визначають ефект взаємодії факторів P і C . За наявності цієї взаємодії характеризувати вплив

одного з взаємодіючих факторів на стійкість рослини можливо з указанням рівня другого фактора. Однією з найбільш реальних гіпотез відносно біологічної суті ефекту взаємодії факторів P і C є те, що під впливом фактора P змінюються склад і концентрація іонів у клітинах, у тому числі H^+ , легшають процеси виходу іонів із клітин. Під впливом фактора C , який викликає проникнення гербіцида у клітини кореневої системи рослини, деформуються мембрани і локалізовані в них H^+ насоси. При цьому змінюється видільна активність кореневої системи і рН інкубаційного середовища. У зв'язку з проблематичністю реєстрації модуля зсуву рН (ΔpH) у субклітинних часточках *in vivo* вивчення ефекту взаємодії факторів P і C виконувалось при вимірюванні рН *in vitro*. Отримані при цьому емпіричні результати наведені у табл. 2.

Під впливом змін іонного складу й концентрації іонів H^+ у клітинах змінюється активність ферментів, особисто СОД, які здійснюють регуляцію метаболізму клітини, тобто її біохімічних процесів. Це пов'язано з присутністю в активних центрах ферментів кислотних і основних груп, що беруть участь у каталізі. У разі виходу наведених вище змін у клітинах за межі стійкості рослини щодо впливу факторів P і C гальмується клітинне ділення і особисто розтягнення. Динаміка гальмування залежить від ступеня стійкості

2. Залежність рН прикореневої зони тест-об'єктів від рівня факторів

Тест-об'єкт	Фактор	Осмотичний тиск P , атм	Концентрація гербіцида C , мг/л	$ \Delta pH $
	Нижній рівень (-)	1,0	0	
	Верхній рівень (+)	15,0	100,0	
Кукурудза	Дослід 1	-	-	0,30
	Дослід 2	+	-	2,07
	Дослід 3	-	+	0,72
	Дослід 4	+	+	2,43
Пшениця	Дослід 1	-	-	0,38
	Дослід 2	+	-	2,09
	Дослід 3	-	+	0,77
	Дослід 4	+	+	2,53

БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

3. Індекси толерантності досліджуваних рослин щодо роздільного та комбінованого впливу осмотичного тиску і гербіциду

Тест-об'єкт	Індекс толерантності			
	$I_p = \frac{ \Delta A_k }{ \Delta A_p }$	$I_c = \frac{ \Delta A_k }{ \Delta A_c }$	$I_p + c = \frac{ \Delta A_k }{ \Delta A_p + c }$	$I_p + c = I_p \cdot I_c$
Кукурудза	0,68	0,79	0,54	0,54
Пшениця	0,55	0,59	0,33	0,32

досліджуваних рослин до дії різних факторів. Результати порівняння показників (табл. 3) підтверджують доцільність запропонованого

в роботі визначення кінцевого значення стійкості рослини до посухи з урахуванням певної концентрації ґрунтового гербіциду.

Висновки

Отримані результати підтверджують доцільність урахування інгібіторної дії ґрунтових гербіцидів у процесі оцінки посухостійкості зернових культур. Наведений у роботі варіант інтерпретації біохімічної сутності ефекту взаємодії факторів, вияв-

леного за математичного моделювання досліджуваного процесу, створює передумови для удосконалення методологічного забезпечення досліджень потенційної посухостійкості зернових сільськогосподарських рослин у селекційній й інтродукційній практиці.

Бібліографія

1. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений / П.А. Генкель. – М.: Наука, 1982. – 279 с.
2. Максимов В.Н. Многофакторный эксперимент в биологии / В.Н. Максимов. – 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. Равич-Щербо М.И. Физическая и коллоидная химия / М.И. Равич-Щербо, В.В. Новиков. – М.: Высшая школа, 1975. – С. 37–43.
5. Современные методы исследования и оценки засухо- и жаростойкости растений / [Григорюк И.А., Ткачев В.И., Свинская С.В. и др.] – К.: Науковий світ, 2003. – 139 с.
6. Пат. 45786 Україна, МКВ7 А 01 G 7/00. Способ выбора посухостойких сортов озимой пшеницы / Жук О.И., Григорюк И.П. – Опубл. 15.04.2002, Бюл. № 4.
7. Пат. 2062564 Россия, А01Н1(04). Способ оценки устойчивости растений к засухе северного и южного типов на ранних этапах онтогенеза / Радченко О.П., Гельвердиева Г.Г. – Опубл. 27.06.1996, Бюл. № 18.
8. Пат. 19103 Україна, МПК А 01 G 7/00. Способ визначення посухостійкості рослин / Россихіна Г.С., Попов В.Я. – Опубл. 15.12.2006, Бюл. № 12.
9. Пат. 23651 Україна, МПК А 01 G 7/00. Способ визначення посухостійкості рослин / Россихіна Г.С., Попов В.Я., Вінниченко О.М., Більчук В.С. – Опубл. 11.06.2007, Бюл. № 8.
10. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide dismutase / R. Fried // Biochem. – 1975. – Vol. 57, № 3. – P. 657–660.

Рецензент – доктори біологічних наук, професори В.М. Зверковський, В.І. Чорна