

УДК 633/635:581.1

I. O. Oginova

Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара

ОСНОВНІ ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ЗМІНИ У КОРЕНЕВИХ МЕРИСТЕМАХ КУЛЬТУРНИХ РОСЛИН НА ФОНІ ГЕРБІЦИДІВ

Установлено, що на фоні гербіцидів у кореневих меристемах кукурудзи відбуваються суттєві цитогенетичні зміни, спрямовані на реалізацію стратегії уникання шкідливого впливу факторів довкілля. Оптимізація стану культурних рослин може забезпечуватися відповідно добраними агротехнічними заходами.

I. O. Oginova

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

MAIN CYTOGENETIC CHANGES IN ROOTS' MERISTEMS OF CULTIVATED PLANTS UNDER HERBICIDES TREATMENT

The herbicides treatment entails essential cytogenetic changes in maize root meristems. It is directed on realisation of strategy of the avoidance of the environment factors' deleterious influence. Optimisation of cultivated plants state can be ensured by appropriate land treatments.

Вступ

Функціонування агрофітоценозів базується на різних типах взаємодій між рослинами, які спрямовуються не тільки на формування спільного середовища існування, а й на забезпечення пріоритетних умов у конкуренції за поживні речовини, стійкості до екстремальних зовнішніх впливів тощо. Додаткове навантаження на фітоценози створюють різноманітні гербіциди, які, крім досить умовного винищення бур'янів, певною мірою змінюють і чимало фізіологічних параметрів культурних рослин [1; 3; 9–11]. Суттєву роль у їх адаптації до напружених умов довкілля відіграє адекватне функціонування систем надійності рослинного організму [2], особливо таких регуляторних центрів як апікальні меристеми [8]. Рослини досить легко змінюють свою програму розвитку [5], що посилює їх залежність від середовища, зокрема на ранніх стадіях онтогенезу. Головні процеси підтримання гомеостазу розгортаються у цей час у генетичному апараті меристематичних тканин [4]. У зв'язку з цим достатньо важливим для визначення оптимального режиму функціонування агрофітоценозу (у теоретичному та практичному значенні) є з'ясування реакцій апікальних меристем культурних рослин на різні агротехнічні заходи.

Матеріал і методи досліджень

Експеримент проводили у Дніпропетровському районі центральної ґрунтово-кліматичної зони Дніпропетровської області. Для цього регіону характерна середня багаторічна норма опадів 515 мм, у тому числі за вегетаційний період кукурудзи – 224 мм із дефіцитом вологості близько 8 мм. Температурний режим складається таким

чином: середньорічна температура підтримується на рівні $+8^{\circ}\text{C}$, перевищення температурного мінімуму для кукурудзи ($+10^{\circ}\text{C}$) триває протягом 165–170 діб; характерною є посуха навесні та на початку літа. Ґрунтовий покрив у районі досліджень представлений чорноземом звичайним середньосуглинистим малогумусним.

Протягом п'яти років досліджували різні фізіологічні та цитогенетичні ефекти таких гербіцидів як ерадикан (6–7–8 л/га), 2,4-Д (1,5–2,0–2,5 л/га), атразин (4–6–8 кг/га), діален (1,5–2,0–2,5 л/га), примекстра (5–6–8 л/га), пропахлор (6–8–10 кг/га), сурпас (6–7–8 л/га), ласо (5–6–7 л/га), майазин (5–6–7 л/га), аденіт (5–6–7 л/га) та різні варіанти їх сполучень. Для нормалізації стану кукурудзи (гібрид Дніпровський 303) використовували гумат натрію буровугільного походження із розрахунку 8–10 л 2,5 % розчину на 1 т насіння. Фіксацію кореневих меристем здійснювали у розчині Карнуа з наступним гідролізом у 1 N соляної кислоти ($+60^{\circ}\text{C}$) і фарбуванням у реактиві Шифа за Фельгеном. Виготовляли постійні давлені препарати, на яких підраховували мітотичний індекс, рівень соматичних мутацій (розсіяні метафази, мости в анафазах і телофазах тощо), визначали вміст ДНК і розподіл клітин за періодами клітинного циклу методом логарифмічного екрана на фотометричному мікроскопі. Стан хроматину оцінювали за результатами цитофотометричних вимірювань інтерфазних ядер кореневих меристем після щохвилинного гідролізу протягом 30 хвилин за наведеною вище схемою.

Одержані результати обробляли статистично з рівнем надійності 95 %. Для встановлення напрямку цитогенетичних змін у кореневих меристемах кукурудзи під впливом гербіцидів та різної обробки ґрунту використовували метод планованого факторного експерименту, який в умовах невизначеності дозволяє скласти певне уявлення про механізми досліджених процесів [6].

Результати та їх обговорення

Розвиток культурних рослин у стресових умовах докільця значною мірою зумовлюється ефективністю функціонування їх регуляторних центрів, зокрема це стосується кореневих меристем, які забезпечують ростові процеси за рахунок поділу клітин. Унаслідок цього швидкість росту коренів корелює з рівнем мітотичного індексу у цих тканинах. Тривале (протягом 2 і 5 років) використання гербіцидів спричиняє суттєві зміни у кореневих меристемах кукурудзи. Зокрема, на стадії 2–3 листків у цих тканинах майже вдвічі зменшується рівень проліферації з накопиченням клітин у метафазі. Такий метафазний блок супроводжується зростанням (удвічі–втричі) кількості соматичних мутацій. Ці процеси посилюються у посуху й дещо послаблюються у відносно вологі роки. Така реакція на мінливі кліматичні умови формувалася протягом тривалої еволюції рослин, базуючись на гетерогенності відповідних структур, а також їх здатності відновлювати свої функції після тимчасового впливу екстремальних факторів зовнішнього середовища. Подібні адаптивні процеси розгортаються й у відповідь на антропогенні впливи. Зокрема, якщо кліматичні умови залишаються сприятливими для нормального протікання онтогенезу рослин, а гербіциди використовуються недовго і в оптимальних дозах, то вже на стадії 4–5 листків у кукурудзи спостерігається певна нормалізація функціонування кореневих меристем: мітотичний індекс підвищується, а рівень соматичних мутацій суттєво знижується.

Натомість, тривале використання хімічних засобів боротьби з бур'янами у поєднанні з несприятливими погодними умовами спричиняє неспроможність репаративних систем відновити функціонування меристематичних тканин. Оскільки вони є доміантними регуляторними центрами, то відповідних негативних змін зазнає весь рослинний організм, продуктивність якого суттєво зменшується [8]. Певною мірою виправити ситу-

ацію дозволяють різні біологічно активні речовини [11], до яких, зокрема, відноситься й гумат натрію. Він досить ефективно запобігає суттєвому пошкодженню меристематичних тканин за рахунок того, що має високу адсорбційну здатність (зменшує рівень токсикантів у ґрунті) і містить чимало різних вітамінів, амінокислот і мікроелементів, які можуть використовуватися рослинним організмом для задоволення нагальних потреб [7].

Доведено, що висока інтенсивність поділу клітин кореневих меристем навіть протягом трьох перших мітозів забезпечує пріоритетний розвиток у майбутньому онтогенезі [12]. Вплив на ці процеси різних агротехнічних заходів досліджували за допомогою методу планованого факторного експерименту. Одержано математичні моделі, у яких параметром оптимізації (Y) слугував мітотичний індекс у кореневих меристемах, фактором X_1 – тип оранки (безполицева і полицева), фактором X_2 – гербіциди у різних дозах (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив різних зовнішніх факторів на рівень мітотичного індексу у кореневих меристемах кукурудзи

Термін використання гербіцидів	Стадія розвитку кукурудзи	Математична модель	Рівень надійності, %
2 роки	2–3 листки	$Y = 41,84 - 1,00x_1 - 3,50x_2 - 3,67x_1x_2$	95
	4–5 листків	$Y = 46,25 - 1,59x_1 - 7,75x_2 - 2,92x_1x_2$	90
5 років	2–3 листки	$Y = 58,08 + 1,42x_1 - 3,75x_2 - 2,08x_1x_2$	95
	4–5 листків	$Y = 45,99 + 1,67x_1 - 4,33x_2 - 6,33x_1x_2$	95

Аналіз наведених моделей дозволив установити, що перехід від полицевої до безполицевої оранки на фоні короткочасного (2 роки) використання гербіцидів негативно позначається на проліферативній активності кореневих меристем. Відповідний ефект має тенденцію до зростання у часі. При цьому на тлі меншої дози гербіцидів відповідний перехід навіть збільшує мітотичний індекс майже на 13 %. Натомість збільшення норми внесення хімічних засобів боротьби з бур'янами спричиняє гальмування поділу клітин на 22 %. Це свідчить про те, що інтенсивне використання гербіцидів краще здійснювати на фоні безполицевої обробки ґрунту, а для низьких доз доцільнішою буде полицева оранка.

Обчислення окремих ефектів фактора X_2 (гербіциди) дозволило дійти висновку, що зростання дози їх внесення на фоні полицевої оранки майже не позначається на стані кореневих меристем, а на тлі безполицевої обробки ґрунту мітотичний індекс зменшується більше ніж на третину. За рахунок взаємодії факторів X_1 та X_2 спостерігається додаткове зниження цього показника ще на 18 %. Із часом (до фази 4–5 листків) цей ефект дещо зменшується, що свідчить про можливість переборювання рослинами негативних наслідків зовнішнього стресу.

Такі результати дозволяють стверджувати, що некоректно підібрані агротехнічні заходи можуть мати наслідки, полярно протилежні очікуваним, і замість стимуляції чи стабілізації ростових процесів культурних рослин призводити до їх суттєвого гальмування. Тривале використання різних типів оранки та гербіцидів (5 років) видозмінює ефекти цих антропогенних впливів на АФЦ. Зокрема, зменшений рівень використання хімічних речовин при переході від полицевої до безполицевої оранки на стадії 2–3 листків у кукурудзи відзначається стимуляцією мітотичного індексу в кореневих меристемах на 12 %. Цей ефект посилюється у часі, сягаючи на стадії 4–5 листків майже 35 %, що свідчить про спроби рослин активно опиратися екстремальним умовам довкілля. Але коли рівень гербіцидів сягає максимальних значень, системи надійності рослинного організму виявляються нездатними подолати такий стрес і реа-

лізується стратегія уникання за допомогою гальмування ростових процесів. Так, на фоні високих доз гербіцидів перехід від полицевої обробки ґрунту до безполицевої супроводжується суттєвим зменшенням мітотичного індексу, який зростає в онтогенезі рослин (від 2,5 % на стадії 2–3 листків до 20 % на стадії 4–5 листків у кукурудзи).

Одержані результати дозволяють зробити висновок про те, що за умови тривалого використання гербіцидів не слід використовувати їх у високих дозах, особливо на фоні полицевої оранки. Така вимога зумовлена тим, що при переході від низьких до високих норм внесення хімічних засобів боротьби з бур'янами рівень мітотичного індексу у часі знижується майже наполовину із додатковим гальмування клітинного поділу на 27 % унаслідок невідповідного сполучення агротехнічних заходів. У зв'язку з цим було доцільним конкретизувати наслідки встановлених негативних ефектів і визначити можливі мутагенні ефекти досліджених факторів. Відповідні результати наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Математичні моделі залежності рівня соматичних мутацій (Y) від типу обробки ґрунту (X_1) та гербіцидів (X_2)

Термін використання гербіцидів	Стадія розвитку кукурудзи	Математична модель	Рівень надійності, %
2 роки	2–3 листки	$Y = 5,44 + 0,99x_1 + 1,51x_2 + 0,82x_1x_2$	95
	4–5 листків	$Y = 7,76 + 1,59x_1 + 3,45x_2 + 1,07x_1x_2$	95
5 років	2–3 листки	$Y = 7,78 + 0,47x_1 + 2,97x_2 + 0,71x_1x_2$	95
	4–5 листків	$Y = 8,62 + 0,48x_1 + 4,41x_2 + 1,83x_1x_2$	90

В усіх варіантах одержані математичні моделі мають принципово однаковий вигляд, що дозволяє говорити про наявність загальної біологічної реакції культурних рослин на досліджені фактори. На фоні незбалансованої агротехніки суттєво зростає рівень соматичних мутацій у кореневих меристемах кукурудзи. Певна специфічність характерна лише для кількісного вираження відповідних ефектів: якщо на фоні низької дози гербіцидів перехід від полицевої до безполицевої оранки спричиняє зростання рівня мутацій із 6 до 68 % (стадія 2–3 листків у кукурудзи), то на тлі полицевої обробки ґрунту збільшення норми внесення гербіцидів (перехід від мінімальної до максимальної доз) підвищує кількість соматичних мутацій на 25 %. Ситуація суттєво погіршується при застосуванні полицевої оранки: високі дози хімічних засобів боротьби з бур'янами призводять до посилення їх мутагенного ефекту і кількість мутацій збільшується майже на 87 %. Із часом (стадія 4–5 листків) відповідне зростання рівня мутацій сягає 116 %, а спільний ефект досліджених факторів створює додаткове навантаження на меристеми, підвищуючи кількість мутацій ще на 30 %. На п'ятий рік використання гербіцидів реакції корневих меристем кукурудзи на антропогенні впливи виглядають аналогічно, відзначаючись лише кількісним посиленням негативних ефектів.

Результати свідчать, що невідповідне поєднання декількох агротехнічних засобів догляду за посівами може суттєво ускладнювати ріст і розвиток кукурудзи, призводячи до посилення генетичної нестабільності популяцій культурних рослин. Оскільки клітинному поділу завжди передують процеси в інтерфазних ядрах, передумовою порушень процесів мітозу має бути відповідний перерозподіл клітин за періодами інтерфази.

Проведення відповідних досліджень дозволило встановити, що на фоні високих доз гербіцидів спостерігається накопичення клітин у G_1 -періоді, кількість яких збільшується у 1,5 раза. Приблизно настільки ж зменшується кількість клітин у S -періоді. Це свідчить про утворення блока G_1-S , що й реалізується потім у загальному зменшенні кількості клітинних поділів. Такий перебіг подій відображає тенденцію до реалізації

стратегії уникання шкідливої дії екстремальних факторів за рахунок переходу частини клітин до стану спокою. Додатковим аргументом на користь цього припущення є дані, одержані при вимірювання кількості ДНК в інтерфазних ядрах і визначення її стану на тлі гербіцидів. Унаслідок їх аналізу встановлено, що хімічний стрес провокує зменшення активних фракцій хроматину та стимулює його гетерохроматинізацію [7]. Це призводить до гальмування основних функцій меристем, що призупиняє протікання подальших стадій онтогенезу та не дозволяє культурним рослинам реалізувати свої потенційні можливості в оптимальному режимі.

Висновки

Недостатньо добре підібрані агротехнічні заходи спричиняють суттєві негативні зміни розвитку культурних рослин, які полягають у частковій гетерохроматинізації генетичного матеріалу та утворенні блока G_1-S в інтерфазних клітинах кореневих меристем. Це може стати значимою причиною зниження мітотичного індексу та накопичення соматичних мутацій і слугує ознакою реалізації адаптивної стратегії, спрямованої на уникання стресового впливу екзогенних факторів за допомогою тимчасового гальмування онтогенезу. Оптимальне функціонування апікальних меристем культурних рослин у агрофітоценозах можна забезпечити коректним застосуванням відповідних засобів їх вирощування: високі дози гербіцидів краще поєднувати з безполіцевою оранкою, а низькі – із поліцевою. Доречним є використання фізіологічно активних гумусових речовин.

Бібліографічні посилання

1. **Василюк О. М.** Вплив біологічно активних речовин на активність каталази кукурудзи різних генотипів на фоні дії аденіту / О. М. Василюк, О. М. Вінниченко // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2004. – Вип. 12, т. 1. – С. 26–30.
2. **Гродзинский Д. М.** Надежность растительных систем. – К.: Наукова думка, 1983. – 368 с.
3. **Заморуєва Л. Ф.** Комплексний вплив гербіциду ділену С та кадмію на склад ліпідів і вільних жирних кислот при проростанні насіння озимої пшениці / Л. Ф. Заморуєва, І. О. Філонік // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2004. – Вип. 12, т. 1. – С. 72–75.
4. **Иванов В. Б.** Пролиферация клеток в растениях / Итоги науки и техники. Серия цитология. – М.: ВИНТИ, 1997. – Т. 5. – 219 с.
5. **Ивановская Е. В.** Цитоэмбриологическое исследование дифференцировки клеток растений. – М.: МГК, 1993. – 152 с.
6. **Максимов В. Н.** Многофакторный эксперимент в биологии. – М.: МГУ, 1990. – 219 с.
7. **Огинова И. А.** Нормализация состояния хроматина гуматом натрия на гербицидном фоне / Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – Д.: ДДАУ, 1992. – С. 63–67.
8. **Полевой В. В.** Физиология роста и развития растений / В. В. Полевой, Т. С. Саламатина. – Л.: ЛГУ, 1991. – 240 с.
9. **Россихіна Г. С.** Стан антиоксидантної системи *Zea mays* під впливом гербіцидів // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2004. – Вип. 12, т. 1. – С. 149–154.
10. **Россихіна Г. С.** Вплив фронт'єру на активність ліпоксигенази зерна кукурудзи на ранніх етапах пророщування рослин / Г. С. Россихіна, В. М. Глибока // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2007. – Вип. 15, т. 1. – С. 140–144.
11. **Рябченко Н. А.** Влияние регуляторов роста растений на возможность снижения инсектицидной нагрузки в агроценозах озимой пшеницы / Н. А. Рябченко, В. В. Мочалов, С. М. Лисицкая // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2006. – Вип. 14, т. 1. – С. 160–164.
12. **Demarly Y.** Heterosis in out-pollinating species // Heterosis in plant breeding. – Budapest, 1976. – P. 183–196.

Надійшла до редколегії 14.03.2008