

УДК 633.15:58.04:581.142:547.587

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗАЛЕЖНОСТІ ФІТОТОКСИЧНОСТІ ГЕРБІЦИДУ КРОСУ ТА НАКОПИЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПЛУК У ПРОРОСТКАХ КУКУРУДЗИ

© 2012 р. **В. С. Феденко, С. А. Шемет, В. С. Стружко**

Науково-дослідний інститут біології

Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара

(Дніпропетровськ, Україна)

Досліджували вплив гербіциду кросу на ростові процеси та накопичення фенольних сполук у коренях проростків кукурудзи. Показано, що дозова залежність росту кореня та пагона має вигляд модифікованої експоненти. Встановлено, що підвищене накопичення фенольних сполук відповідає періодичній функції залежно від концентрації гербіциду.

Ключові слова: *Zea mays L., гербіцид крос, фенольні сполуки*

Використання гербіцидів із вибірковою фітотоксичністю для знищення бур'янів пов'язано із проблемою стійкості культурних рослин до цих ксенобіотиків (Monaco et al., 2002). Пристосування рослин до токсичної дії ксенобіотиків відбувається за рахунок змін різних метаболічних систем організму, у тому числі вторинних сполук фенольної природи (Dixon, Paiva, 1995; Winkel-Shirley, 2002). Захисний ефект фенолів як неспецифічних антиоксидантів полягає у знешкодженні активних форм кисню (АФК), вміст яких підвищується за умов стресорного впливу (Kranter et al., 2010). Інша функція цих вторинних метаболітів за дії гербіцидів виявляється в регуляції ростових процесів рослин (Nemat Alla, Younis, 1995).

У зв'язку з цим, привертають увагу гербіциди класу сульфонілсечовин, які за сайтом дії відносять до інгібіторів ацетолатсинтази (АЛС) – ферменту біосинтезу амінокислот із розгалуженим ланцюгом (валін, лейцин, ізолейцин) (Mallory-Smith, Retzinger, 2003). Обробка рослин сульфонілсечовинами також підвищує активність ключового ферменту фенілпропаноїдного метаболізму фенілаланінамоніліази та вміст гідроксикоричних кислот (Suttle et al., 1983). Ці фенілпропаноїди виявляють ріст-

нгібуючий ефект (Dos Santos et al., 2004; Zanardo et al., 2009). Вважають, що пригнічення ростових процесів сульфонілсечовинами пов'язано із підвищеним накопиченням гідроксикоричних кислот (Orcaray et al., 2011). Інгібуючий ефект цих фенольних метаболітів пов'язують із підсиленням процесом лігніфікації у зв'язку із трансформацією в окиснені форми за умов підвищеного рівня АФК (Orcaray et al., 2011).

Встановлено також, що обробка рослин екзогенними феруловою та *n*-кумаровою кислотами спричиняє фізіологічний ефект, подібний до гербіцидних інгібіторів АЛС (Orcaray et al., 2011). Ці результати свідчать про можливість створення нових біогербіцидів на основі природних продуктів. Такі сполуки можуть бути альтернативою синтетичним інгібіторам АЛС. Їх створення сприятиме зниженню антропогенного навантаження на агрофітоценози та розвитку органічного землеробства (Dayan et al., 2009).

Незважаючи на важливу роль фенольного метаболізму у формуванні фітотоксичного ефекту гербіцидних препаратів на основі сульфонілсечовин, залишається недослідженим дозовий ефект інгібіторів АЛС на накопичення цих вторинних сполук. З урахуванням можливостей математичного моделювання для вирішення проблем фізіології рослин (Торнли, 1982), складність та різноспрямованість метаболічних змін фенольних сполук може бути досліджена

Адреса для кореспонденції: Феденко Володимир Савелійович, НДІ біології Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна;
e-mail: opticlub@ukr.net

на основі функціональної залежності, параметри якої використані як критерії для диференційної діагностики токсичної дії хімічних стресорів (Феденко, Стружко, 2009). Таку залежність слід розглядати у контексті багатофазного характеру реакцій рослинного організму відповідно до ступеня стресорного впливу (Calabrese, 2008), що також визначається відповідною математичною моделлю (Декл. пат. 71291).

У зв'язку з цим вважали за доцільне провести порівняльний аналіз різних фізіолого-біохімічних показників на рівні їх функціональних залежностей від дози хімічного стресора. Вибір кросу серед гербіцидів класу сульфонілсечовин пов'язаний із практичним застосуванням препарату при вирощуванні кукурудзи (Мордерер, 2000), а також із відсутністю досліджень впливу цього ксенобіотика на метаболізм фенольних сполук цієї культури.

Таким чином, метою роботи було проведення порівняльного аналізу функціональних залежностей фітотоксичності гербіциду кросу та накопичення фенольних сполук у коренях проростків кукурудзи.

МЕТОДИКА

Вплив гербіциду кросу (діючі речовини – хлорсульфурон та хлорсульфоксим) досліджували на проростках кукурудзи (*Zea mays* L.) гібрида Дніпровський 265 у модельному експерименті. Насіння пророщували 10 діб у рулонах фільтрувального паперу на розчинах кросу з концентрацією в діапазоні 2,5-100 мг/л та воді (контроль) за температури 22-24°C (фотоперіод – 16 годин). Ефект токсичної дії кросу оцінювали за довжиною коренів та пагонів проростків, які використовували для розрахунку дозових функціональних залежностей (Декл. пат. 71291). Для дослідження координаності росту визначали співвідношення довжини пагона і довжини кореня та розраховували дозову регресивну залежність цього показника (Пат.

58614).

Вміст розчинних фенольних сполук у повітряно-сухих коренях (мкМ хлорогенової кислоти/г сухої речовини) визначали за методом, описаним нами раніше (Феденко, 2000). На основі експериментальних результатів встановлювали параметри функціональної залежності вмісту фенольних сполук від концентрації кросу (Пат. 85040).

Адекватність функціональних залежностей і рівнянь регресії визначали за величиною коефіцієнта детермінації r^2 (Лакин, 1990). Статистичну обробку експериментальних даних проводили на 5%-му рівні значущості, похибка вимірювань не перевищувала 5%.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Індекс толерантності знижувався при підвищенні концентрації кросу у середовищі кореневого живлення рослин (таблиця). Розрахована на основі цих результатів функціональна залежність лінійної довжини кореня проростків кукурудзи (I_k , % до контролю) від концентрації кросу (C_k , мг/мл) апроксимується модифікованою експонентою (1):

$$I_k = 32 \exp[-0,062(C_k - 2,5)(1 - 0,181(C_k - 2,5)^{1/3})],$$

$$r^2 = 0,96, p = 0,001 \quad (1)$$

За наявності лише фази пригнічення залежність складається з одного блоку (Декл. пат. 71291). Значення коефіцієнта (-0,062) у рівнянні (1) характеризує підсилення пригнічуючого ефекту на ріст кореня в діапазоні концентрації токсиканту, а величина коефіцієнта (-0,181) свідчить про відносно послаблення пригнічуючого ефекту із зростанням дози ксенобіотика. Графічно функціональна залежність (1) представлена на рис. 1.

За усіх доз токсиканту ступінь інгібування росту пагона був суттєво меншим порівняно з коренем (таблиця). Розрахована за цими да-

Показники росту проростків кукурудзи за дії кросу

Концентрація кросу, мг/мл	Довжина кореня		Довжина пагона	
	мм	% до контролю	мм	% до контролю
Контроль	146,3±11,3	100	87,2±5,3	100
2,5	46,9±2,4	32,0	80,6±6,5	92,4
5	36,9±3,4	25,2	55,0±6,6	63,0
10	31,6±2,9	21,6	55,6±4,6	63,7
25	18,7±2,3	12,8	20,5±2,5	23,5
50	16,9±1,9	11,6	19,2±2,3	22,1
100	17,1±2,3	11,7	15,2±2,4	17,4

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗАЛЕЖНОСТІ ФІТОТОКСИЧНОСТІ

ними функціональна залежність росту пагона (l_n , % до контролю) від концентрації токсиканту (0-100 мг/л) представлено двома блоками (рівняння 2):

$$l_n = 100\exp[-0,075C_k(1 - 0,165C_k^{1/3})] + 100C_k\exp[-2,51(C_k - 1,28)^2], \quad (2)$$

$$r^2 = 0,96, p = 0,001$$

На відміну від дозової залежності лінійного розміру кореня, другий блок рівняння (2) відповідає фазі стимулювання, яка визначена на основі математичної моделі (Декл. пат. 71291) шляхом апроксимації за межами мінімальної концентрації кросу (2,5 мг/л), що використана у модельному експерименті. При цьому величини коефіцієнтів (1,25 і 1,92 відповідно) визначали концентрацію з максимальним стимулюючим ефектом та граничну дозу токсиканту, до якої спостерігається цей ефект. Графічне відобра-

ження залежності (2) наведено на рис. 2. Раніше підсилене пригнічення ростових процесів для кореня порівняно із пагоном при обробці рослин сульфонілсечовинами пояснювали суттєвішим зростанням вмісту фенольних метаболітів із рістінгібуючим ефектом у коренях (Orcaray et al., 2011), а також підвищеним ступенем метаболізації цих ксенобіотиків у пагонах (Cotterman, Saari, 1992).

Зміни координованого росту надземної та кореневої системи рослин залежно від фітотоксичності гербіциду охарактеризовано співвідношенням довжини пагона і довжини кореня (рис. 3). Більш значне пригнічення росту кореня порівняно із пагоном призводить до підвищення цього показника відносно контролю. Регресивна залежність співвідношення лінійних розмірів органів (l_n/l_k) від концентрації токсиканту має поліноміальний характер (рівняння 3):

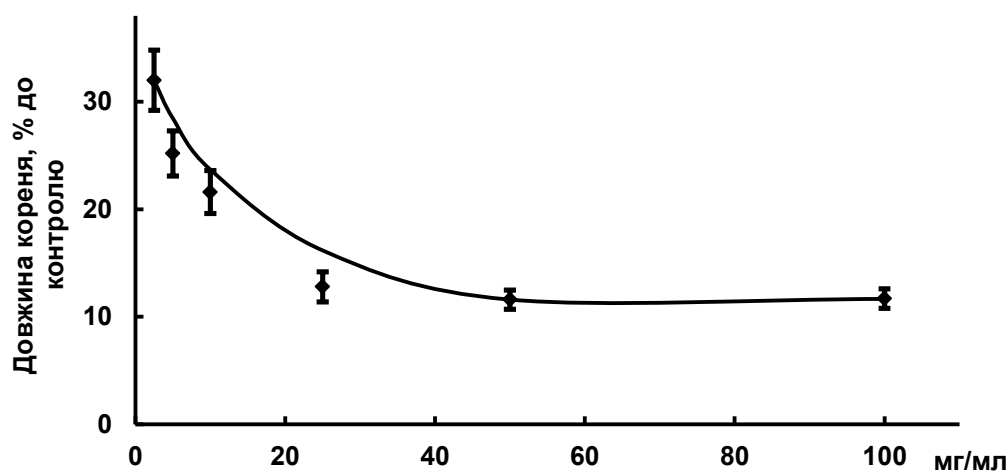


Рис. 1. Залежність лінійного розміру кореня проростків кукурудзи від концентрації кросу (мг/мл).

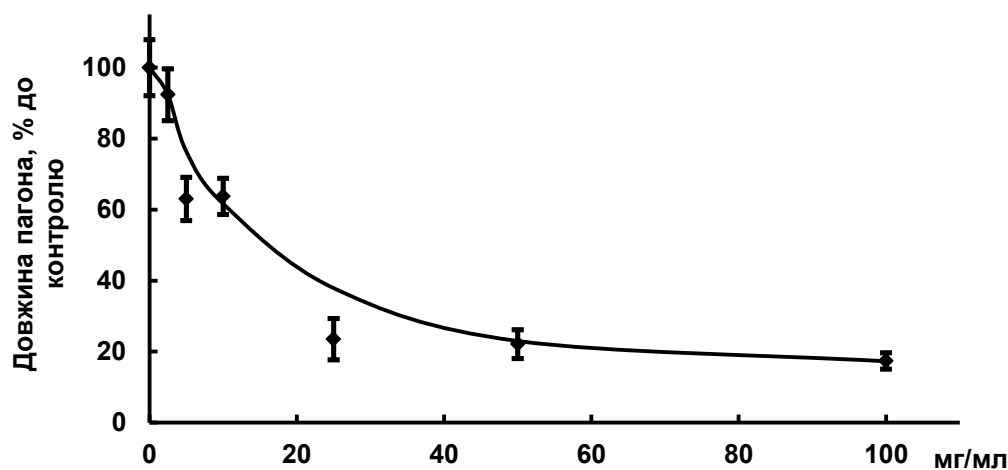


Рис. 2. Залежність лінійного розміру пагона проростків кукурудзи від концентрації кросу (мг/мл).

$$l_n/l_k = 1,72 - 1,94 \cdot 10^{-2} C_k + 1,12 \cdot 10^{-2} C_k^2, \\ r^2 = 0,81, p = 0,02 \quad (3)$$

Максимальне значення l_n/l_k встановлено за наявності концентрації кросу 10 мг/л в середовищі кореневого живлення (рис. 3). Зниження цього показника із підвищенням дози відповідає суттєвому підсиленню фітотоксичності ксенобіотика із порушенням координованого росту органів (Пат. 58614).

Зміни показників росту за токсичної дії кросу супроводжуються підвищенням сумарного вмісту фенольних сполук у коренях рослин (рис. 4). За даними Dragisic-Maksimovic et al. (2008), для складу фенольних метаболітів проростків кукурудзи характерна наявність коніферилового

спирту та похідних гідроксикоричних кислот (ізоферулової, хлорогенової, кофейної, кумарової). Максимальне підвищення накопичення цих фенольних метаболітів спостерігалось за концентрації гербіциду 25 мг/л, що спричиняло значне пригнічення росту кореня і пагону, а також порушення координованості ростових процесів. Розрахована за методом (Пат. 85040) функціональна залежність накопичення фенольних сполук (C_ϕ , % до контролю) від концентрації кросу складалась із двох блоків (рівняння 4):

$$C_\phi = 107,1 + 0,395 C_k - 0,005 C_k^2 - \\ 7,1 \sin\left(1,57 + \frac{6,28 C_k}{6,345 + 0,378 C_k}\right), \quad (4) \\ r^2 = 0,81, p = 0,02$$

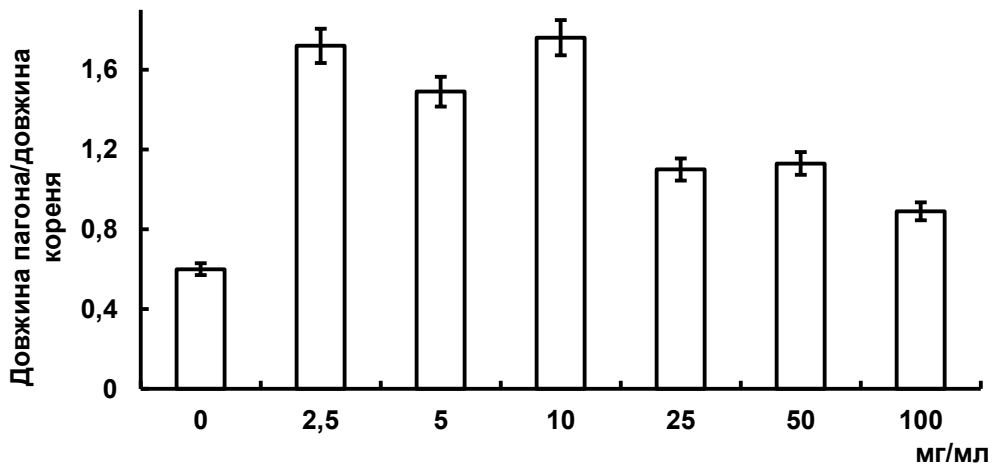


Рис. 3. Співвідношення довжин пагона і кореня проростків кукурудзи за дії різних концентрацій кросу (мг/мл).

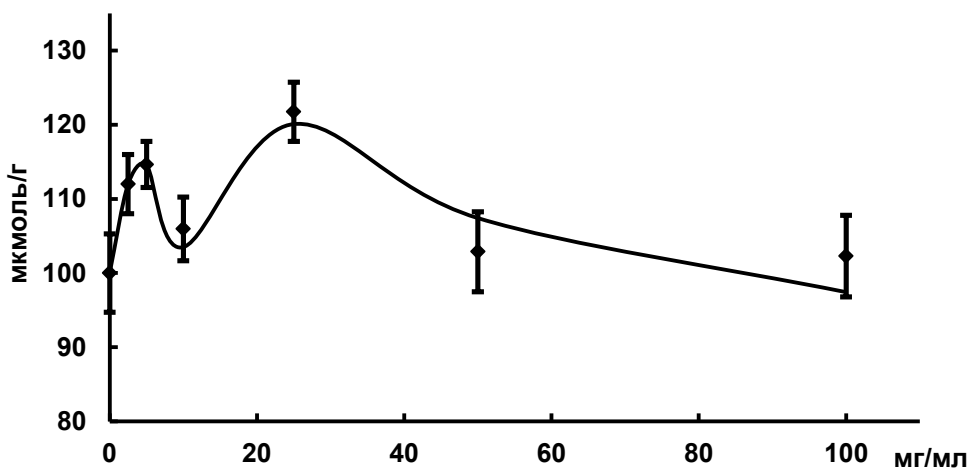


Рис. 4. Залежність накопичення фенольних сполук (мкмоль/г) у коренях проростків кукурудзи від концентрації кросу (мг/мл).

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗАЛЕЖНОСТІ ФІТОТОКСИЧНОСТІ

Перший блок – базова функція (поліном другого ступеня), що задає спрямованість змін цієї залежності. Другий блок – періодична функція (синусоїда), що підтверджувалося відповідним характером розташування експериментальних точок у факторному просторі (рис. 4). Позитивний знак коефіцієнта 0,395 свідчить про спрямованість базової функції до підвищення вмісту фенолів при зростанні концентрації гербіциду. Значення коефіцієнта 1,57 характеризує початкову фазу коливань. Величини коефіцієнтів 6,345 і 0,378 визначають відповідно сталу і змінну складові періоду функціональної залежності. Слід зазначити, що встановлена нами тенденція узгоджується із даними (Suttle et al., 1983; Nemat Alla, Younis, 1995; Daniel et al., 1999) щодо підвищеного накопичення фенольних метаболітів у разі обробки різних рослинних об'єктів сульфонілсечовинами. Однак, на відміну від встановлення цих метаболічних змін за окремих концентрацій гербіцидів, нами запропонована модель дозової залежності (рівняння 4), яка апроксимує виявлену тенденцію в діапазоні концентрації ксенобіотика відповідно до функціонального стану рослин. Крім того, доцільно підкреслити, що виявлена періодична функціональна залежність не є винятковою при математичному моделюванні процесів, пов'язаних з цими вторинними метаболітами, оскільки синусоїдальні криві спостерігали раніше для дозового ефекту фенолів на активність рослинної пероксидази (Malarchyk et al., 2004).

Аналізуючи отримані результати, слід зазначити, що дозовий ефект реакції відповіді рослин на дію хімічного стресора може бути визначений на основі математичних моделей на відміну від встановлення змін фізіолого-біохімічних показників за окремих концентрацій ксенобіотика. Розроблені математичні моделі представлені різними функціями – модифікована експонента для показників росту та залежність періодичного характеру для накопичення фенольних сполук. Така відмінність пов'язана із різним характером прояву реакції відповіді на стресорний вплив. У разі показників росту, що інтегрально відображають функціональний стан організму, математична модель апроксимує реакцію відповіді з наявністю двох фаз: стимулювання за низьких доз ("hormesis") та пригнічення за токсичних доз стресора (Cedergreen et al., 2005; Calabrese, 2008). Складний характер накопичення фенольних сполук на фоні органічного токсиканту може бути пов'язаний із наступними чинника-

ми. По-перше, підвищення вмісту цих вторинних метаболітів як антиоксидантів може виявлятися як неспецифічна реакція відповіді на стресорний вплив (Winkel-Shirley, 2002). По-друге, спрямованість змін залежить від сайту дії конкретного токсиканту на метаболічні перетворення фенолів (Daniel et al., 1999). При цьому тенденція підвищеного накопичення фенольних антиоксидантів знижує чутливість культурних рослин до дії гербіцидів, що використовується при розробці антидотів (Cummins et al., 2006). Розробка функціональних залежностей відповідає сучасному напрямку – математичному моделюванню реакцій відповіді організму на стресорний вплив (Cedergreen et al., 2005), росту і розвитку рослин (Prusinkiewicz, 2004) та біохімічних процесів (Байрамов, 2005), що може бути використано для розробки стратегії застосування гербіцидних препаратів (Mallory-Smith, Retzinger, 2003) та біогербіцидів нового класу на основі природних сполук (Dayan et al., 2009).

Таким чином, залежності росту кореня і пагона проростків кукурудзи від концентрації гербіциду кросу мають вигляд модифікованої експоненти. Інгібування ростових процесів супроводжується підвищенням накопиченням фенольних сполук з періодичною функціональною залежністю від дози ксенобіотика.

ЛІТЕРАТУРА

- Байрамов Ш.К. Новые математические модели биохимических осцилляторов // Биохимия. – 2005 – Т. 70, № 12. – С. 1673-1681.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
- Мордерер Е.Ю. Избирательная фитотоксичность гербицидов. – Киев: Логос, 2000. – 240 с.
- Торнли Дж.Г.М. Математические модели в физиологии растений. – Киев: Наук. думка, 1982. – 312 с.
- Феденко В.С. Взаимосвязь спектральных характеристик и содержание фенольных соединений в растительных экстрактах // Физиология и биохимия культ. растений. – 2000. – Т. 32, № 3. – С. 236-239.
- Феденко В. С., Стружко В. С. Накопичення фенольних сполук у проростках кукурудзи за токсичної дії іонів металів // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2009. – Вип. 2 (17). – С. 56-61.
- Декл. пат. № 71291, Україна, МКВ⁷ А 01 G 7/00. Спосіб визначення впливу хімічних речовин на

- функціональний стан рослин / В.С. Стружко, В.С. Феденко. – Опубл. 15.11.2004, Бюл. № 11.
- Пат. № 58614*, Україна, МПК⁸ G 01 N 33/24. Спосіб визначення фітотоксичності фактора середовища / В.С. Феденко, С.А. Шемет, Т.В. Кунат. – Опубл. 26.04.2011, Бюл. № 8.
- Пат. № 85040*, Україна, МПК⁸ А 01 G 7/00. Спосіб диференційної діагностики впливу ксенобіотиків на стійкість рослин / В.С. Феденко, В.С. Стружко. – Опубл. 25.12.2008, Бюл. № 24.
- Calabrese E.J.* Hormesis: Why it is important to toxicology and toxicologists // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2008. – V. 27, № 7. – P. 1451-1474.
- Cedergreen N., Ritz C., Streibig J.C.* Improved empirical models describing hormesis // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2005. – V. 24, № 12. – P. 3166-3172.
- Cotterman J.C., Saari L.L.* Rapid metabolic inactivation is the basis for cross-resistance to chlorsulfuron in diclofop-methyl-resistant rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) Biotype SR4/84 // *Pestic. Biochem. Physiol.* – 1992. – V. 43. – P. 182-192.
- Cummins I., Brazier-Hicks M., Stobiecki M., Franski R., Edwards R.* Selective disruption of wheat secondary metabolism by herbicide safeners // *Phytochemistry.* – 2006. – V. 67, №16. – P. 1723-1730.
- Daniel O., Meier M.S., Schlatter J., Frischknecht P.* Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides // *Environ. Health Persp.* – 1999. – V. 107, № S1. – P. 109-114.
- Dayan F.E., Cantrell C.L., Duke S.O.* Natural products in crop protection // *Bioorg. Med. Chem.* – 2009. – V. 17. – P. 4022-4034.
- Dixon R.A., Paiva N.T.* Stress-induced phenylpropanoid metabolism // *Plant Cell.* – 1995. – V. 7. – P. 1085-1097.
- Dos Santos W.D., Ferrarese M.L.L., Finger A., Teixeira A.C.N., Ferrarese-Filho O.* Lignification and related enzymes in *Glycine max* root growth-inhibition by ferulic acid // *J. Chem. Ecol.* – 2004. – V. 66. – P. 25-30.
- Dragisic-Maksimovic J., Maksimovic V., Zivanovic B., Hadzi-Taskovic S., Vuletic M.* Peroxidase activity and phenolic compounds content in maize root and leaf apoplast, and their association with growth // *Plant. Sci.* – 2008. – V. 175. – P. 656-662.
- Kranner I., Colville L.* Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination // *Environ. Exp. Bot.* – 2011. – V. 72, № 1. – P. 93-105.
- Malareczyk E., Kochmanska-Rdest J., Pazdzioch-Czochra M.* Effect of low and very low doses of simple phenolics on plant peroxidase activity // *Non-linearity Biol. Toxicol. Med.* – 2004. – V. 2, № 2. – P. 129-141.
- Mallory-Smith C.A., Retzinger E.J.* Revised classification of herbicides by site of action for weed resistance management strategies // *Weed Technol.* – 2003. – V. 17, № 3. – P. 605-619.
- Monaco T.J., Weller S., Ashton F.M.* Weed science. Principles and practice. – N.Y.: John Wiley & Sons, Inc, 2002. – 700 p.
- Nemat Alla M.M., Younis M.E.* Herbicide effects on phenolic metabolism in maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) seedlings // *J. Exp. Bot.* – 1995. – V. 46. – P. 1731-1736.
- Orcaray L., Igal M., Zabalza A., Royuela M.* Role of exogenously supplied ferulic and p-coumaric acids in mimicking the mode of action of acetolactate synthase inhibiting herbicides // *J. Agric. Food Chem.* – 2011. – V. 59, № 18. – P.10162-10168.
- Prusinkiewicz P.* Modeling plant growth and development // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2004. – V. 7. – P. 79-83.
- Suttle J.C., Swanson H.R., Schreiner D.R.* Effect of chlorsulfuron on phenylpropanoid metabolism in sunflower seedlings // *J. Plant Growth Regul.* – 1983. – V. 2. – P. 137-149.
- Winkel-Shirley B.* Biosynthesis of flavonoids and effects of stress // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2002. – V. 5, № 3. – P. 218-223.
- Zarando D.I.L., Lima R.B., Ferrarese M.L.L., Bubna G.A., Ferrarese-Filho O.* Soybean root growth inhibition and lignification induced by p-coumaric acid // *Environ. Exp. Bot.* – 2009. – V. 66. – P. 25-30.

Надійшла до редакції
04.04.2012 p.

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗАЛЕЖНОСТІ ФІТОТОКСИЧНОСТІ

FUNCTIONAL RELATIONS OF PHYTOTOXICITY OF HERBICIDE CROSS AND PHENOLICS ACCUMULATION IN MAIZE SEEDLINGS

V. S. Fedenko, S. A. Shemet, V. S. Struzhko

*Biology Research Institute
of Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University
(Dnipropetrovsk, Ukraine)*

Herbicide Cross influence on growth and phenolics accumulation in maize seedlings roots was investigated. Dose-response dependence of root and shoot growth was shown to be exponential with modifications in relation. Increased phenolics accumulation at higher herbicide concentrations was described by periodical function.

Key words: *Zea mays L., herbicide Cross, phenolic compounds*

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЗАВИСИМОСТИ ФИТОТОКСИЧНОСТИ ГЕРБИЦИДА КРОССА И НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРОРОСТКАХ КУКУРУЗЫ

В. С. Феденко, С. А. Шемет, В. С. Стружко

*Научно-исследовательский институт биологии
Днепропетровского национального университета им. Олесь Гончара
(Днепропетровск, Украина)*

Исследовали влияние гербицида кросса на ростовые процессы и накопление фенольных соединений в корнях проростков кукурузы. Показано, что дозовая зависимость роста корня и побега имеет вид модифицированной экспоненты. Установлено, что повышенное накопление фенольных соединений в зависимости от концентрации гербицида соответствует периодической функции.

Ключевые слова: *Zea mays L., гербицид кросс, фенольные соединения*