

CROP PRODUCTION

DOI: <https://doi.org/10.23649/jae.2022.6.26.09>

Baranov S.G.^{1*}, Vinokurov I.Yu.²

¹ ORCID: 0000-0002-7778-4689;

² ORCID: 0000-0003-1423-2323;

¹ Vladimir State University named after A.G. and N.G. Stoletov, Vladimir, Russia;

^{1,2} Verkhnevolzhsky Agrarian Scientific Center, Novy, Russia

* Corresponding author (bar.serg58[at]gmail.com)

Received: 29.08.2022; Accepted: 05.10.2022; Published: 19.10.2022

COMPARISON OF DEVELOPMENTAL STABILITY OF BARLEY AND OATS DEPENDING ON FERTILIZATION DOSAGE

Research article

Abstract

The effect of 2 doses of fertilizer on the fluctuating asymmetry (FA) and the shape of the leaf plate of oats and barley was studied. The leaves were collected from plants grown on gray forest soils of the Suzdal Opole (Vladimir Oblast, Russia). The first dose for oats was N₃₀ P₃₀ K₃₀ (for crop rotation N₃₂₀ P₁₆₀ K₃₀₀), the second dose was N₄₅ P₄₅ K₄₅, (for crop rotation N₄₉₅ P₂₄₅ K₃₈₅). The first dose for barley was N₄₅ P₄₅ K₄₅, (for rotation N₂₈₅ P₂₂₅ K₂₂₅), the second dose was N₄₅ P₄₅ K₄₅ (for rotation – N₃₁₅ P₂₅₅ K₂₅₅). Marks (50 pairs) were applied to the scanned image of leaves and morphogeometric (Procrustean) analysis of variance was carried out, followed by the determination of fluctuating asymmetry by the Goodall's F-criterion. Additional parameters were the distances of the Procrustean space between the centers of the XY coordinate sets of the covariance matrix. The fertilizer dose affected the shape of oat leaf plates ($p < 0,0001$) stronger than the shape of barley plates ($p = 0,01$). Directional asymmetry was more characteristic of oat leaves. Fluctuating asymmetry was higher in barley leaves in control plants ($F = 138,6$; $p < 0,0001$), and in oats – in leaves that developed under an increased dose of fertilizer ($F = 53,5$; $p < 0,0001$). Thus, an increased dose of fertilizer caused a decrease in the developmental stability of oat plants and an increase in that of barley. The authors state that the use of second-order leaves seems justified, since they do not have the high directional asymmetry inherent in flag leaves.

Keywords: fluctuating asymmetry, leaf plate, oats, barley, geometric morphometry method, fertilizer doses.

Баранов С.Г.^{1*}, Винокуров И.Ю.²

¹ ORCID: 0000-0002-7778-4689;

² ORCID: 0000-0003-1423-2323;

¹ Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых, Владимир, Россия;

^{1,2} Верхневолжский аграрный научный центр, Новый, Россия

* Корреспондирующий автор (bar.serg58[at]gmail.com)

Получена: 29.08.2022; Доработана: 05.10.2022; Опубликована: 19.10.2022

СРАВНЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ ЯЧМЕНЯ И ОВСА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДОЗЫ УДОБРЕНИЯ

Научная статья

Аннотация

Исследовано влияние 2-х доз удобрения на флуктуирующую асимметрию (ФА) и форму листовой пластины овса и ячменя. Листья собирались с растений, выращенных на серых лесных почвах Суздальского Ополья (Владимирская область, Россия). Первая доза для овса составила N₃₀P₃₀K₃₀ (за ротацию севооборота N₃₂₀P₁₆₀K₃₀₀), вторая доза – N₄₅P₄₅K₄₅, (за ротацию севооборота N₄₉₅P₂₄₅K₃₈₅). Первая доза для ячменя составила N₄₅P₄₅K₄₅, (за ротацию N₂₈₅P₂₂₅K₂₂₅), вторая доза – N₄₅P₄₅K₄₅ (за ротацию – N₃₁₅P₂₅₅K₂₅₅). На сканированное изображение листьев наносились метки (50 пар) и проводился морфогометрический (Прокрустов) дисперсионный анализ с последующим определением флуктуирующей асимметрии F-критерием Гудолла. Дополнительными показателями служили расстояния Прокрустова пространства между центрами множеств координат ХУ ковариационной матрицы. Доза удобрения влияла на форму листовых пластин овса ($p < 0,0001$) сильнее, чем на форму пластин ячменя ($p = 0,01$). Направленная асимметрия была более характерна для листьев овса. Флуктуирующая асимметрия была более высокой в листьях ячменя в контрольных растениях ($F = 138,6$; $p < 0,0001$), а у овса – в листьях, развивавшихся при повышенной дозе удобрения ($F = 53,5$; p

<0,0001). Таким образом, повышенная доза удобрения вызывала снижение стабильности развития в растениях овса и повышение стабильности развития у ячменя. Авторы констатируют, что использование листьев второго порядка представляется обоснованным, т.к. они не обладают высокой направленной асимметрией, присущей флаговым листьям.

Ключевые слова: флуктуирующая асимметрия, листовая пластина, овес, ячмень, метод геометрической морфометрии, дозы удобрения.

1. Введение

Уровень стабильности развития определяется по величине флуктуирующей асимметрии (ФА) билатеральных структур. Как популяционное свойство, стабильность развития активно изучается среди различных растений, включая сельскохозяйственные культуры [1], [2], [3], [4]. Для определения ФА обычно используется метод нормирующей разности величины билатерального признака, например ширины листовой пластины. Как правило, используется верхний (флаговый) лист, примыкающий к колосу. Эта листовая пластина защищает и питает колос, соответственно служит серьезным фактором, влияющим на стабильность развития популяции. Связь формы и асимметрии флаговой пластинки с продуктивностью пшеницы получена на различных сортах [2], [3], [4], на растениях ржи такой зависимости получено не было [5].

В некоторых работах проведен анализ площади листовых пластин разного уровня и их фотосинтетическая активность, а также обосновывается влияние этих факторов и внешнего стресса (засуха) на процесс созревания зёрен и биохимические продуктивные показатели зерна [6], [7], [8].

Практический интерес, представляет ранняя индексация величины урожая и свойства зерна на фоне эпигенетических процессов формирования злака. Известно, что у дикорастущих растений отклонение в стабильности развития довольно значительное, например, у березы повислой отклонение достигает 40–70% от величины разности парных билатерально симметричных признаков. У культурных злаков с узкой нормой реакции продуктивности ожидаем и более узкий диапазон колебания индекса флуктуирующей асимметрии.

В нашу задачу входило изучение межвидовой, а также внутривидовой (внутрисортовой) флуктуационной изменчивости в зависимости от количества вносимого удобрения. С этой целью использовался овес (*Avena sativa L.*), сорт «Опольный» и ячмень *Hordeum vulgare L.* (1753), сорт «Суздалец». Для определения уровня реакции стабильности развития использовались две дозы удобрения. Первая доза удобрения для овса составила $N_{30}P_{30}K_{30}$ (за ротацию севооборота $N_{320}P_{160}K_{300}$), вторая доза – $N_{45}P_{45}K_{45}$, (за ротацию севооборота $N_{495}P_{245}K_{385}$). Первая доза удобрения для ячменя составила $N_{45}P_{45}K_{45}$, (за ротацию $N_{285}P_{225}K_{225}$), вторая доза – $N_{45}P_{45}K_{45}$ (за ротацию - $N_{315}P_{255}K_{255}$). Индексы указывают на объем вещества в кг вносимого на 1га.

2. Материалы и методы

Эксперимент проводился на территории Федерального Аграрного Научного Центра (г. Суздаль, Владимирская обл.) с координатами 56,2157°N; 40,5166°E. Были использованы агротехнологии и системы севооборота, официально принятые для выращивания изучаемых культур.

Площадь каждой делянки составляла 35м² (5×7). Обе дозы вносились непосредственно перед посевом. Делянки овса и ячменя располагались не далее, чем 100м друг от друга и отделялись межевыми полосами (1м) от контрольных растений, выращенных без удобрений. Сбор листовых пластин проводили 27 июля 2022г. в фазе восковой спелости. Всего с учётом контроля было получено шесть выборок (3 овса и 3 ячменя).

Строение флаговых листьев ячменя не позволяло использовать их для определения ФА (рис. 1а). У этой культуры флаговые листья плотно прилегают к колосу и образуют трубку. Верхняя треть листа образует добавочный лист, поэтому для определения ФА и стабильности развития ячменя мы использовали второй лист, более широкий и поставляющий большую часть ассимилянтов в колос.

У листовых пластин овса была явно заметна направленная асимметрия (НА), что увеличивало длину кривой на стороне с большей длиной (рис. 1б). Следовательно, направленная асимметрия в пластинах этой культуры была ожидаема.

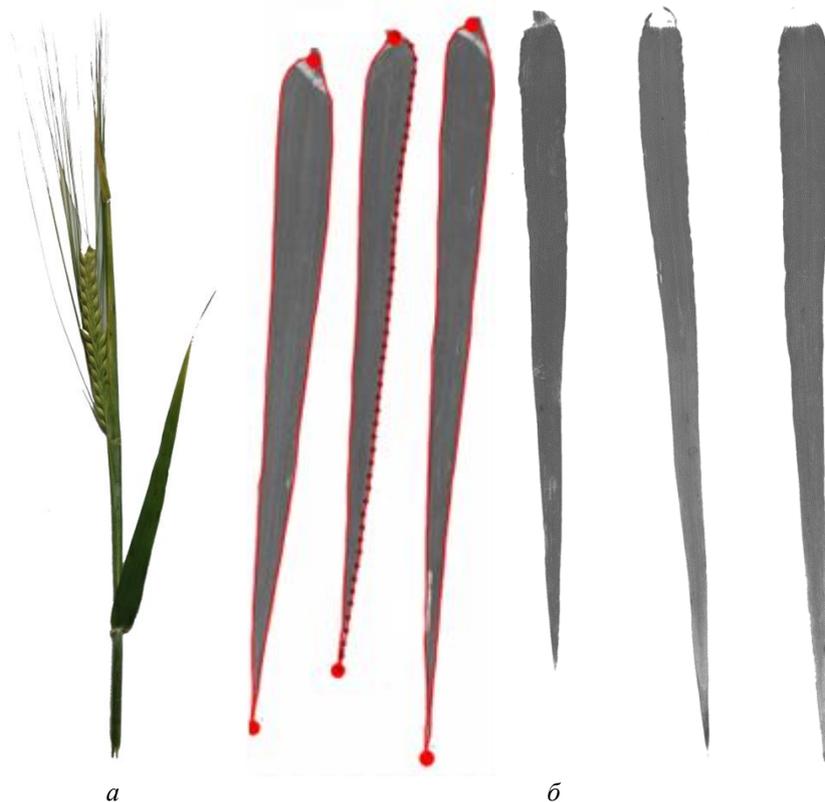


Рис. 1 – Изучаемые культуры:
а – колос ячменя; *б* – флаговые пластины овса с нанесенными метками (слева) и вторые листовые пластины ячменя (справа)

Листовые пластины сразу после сбора наклеивались на бумагу нижней стороной вверх и сканировались с мерной линейкой сканером Canon MF 3010 с разрешением 300 dpi (300 пикселей на дюйм). Отбраковывались мелкие и поврежденные пластины. Общее количество пластин овса в выборке было 21, у ячменя – по 15 пластин. Выбраковка проводилась так, чтобы длина пластин не различалась в трех выборках в однофакторном дисперсионном анализе.

Геометрическая морфометрия флуктуирующей, направленной асимметрии и формы листовой пластины выполнялась пакетом программ TPS [9] и MorphoJ [10]. По краю листовой пластины наносились метки (50 меток с каждой стороны).

Для этого сначала наносились 15–20 точек, формировалась ломаная кривая, которая разбивалась на 50 меток, лежащих на крае пластины с равным интервалом. В основании и верхушке листа отмечались две осевые непарные метки. ФА определялась по различию дисперсии 50 парных меток. Для этого выполнялся обобщенный Прокрустов анализ (GPA), основанный на 2-х факторном дисперсионном анализе. Источник вариации «лист» отражал индивидуальную изменчивость пластины, «сторона» – присутствие направленной асимметрии, а источник вариации «лист × сторона» – на присутствие ФА. Уровень флуктуационной изменчивости, так же как уровень НА (генетический компонент) и индивидуальная изменчивость пластины определялись по критерию F Гудолла и по уровню вероятности *p*.

Наибольшее различие в дисперсии меток было в основании и в верхней части листа. Во избежание излишнего асимметричного проявления первые и последние три пары меток были исключены из анализа.

Кроме анализа асимметрии проводился анализ формы пластин в выборках. Изменчивость формы определялась при помощи центроидных расстояний от меток усредненной фигуры до ее геометрического центра.

Для межвыборочного сравнения формы и асимметрии использовался ковариационный анализ (CVA), а единицей измерения служили Прокрустовы дистанции – расстояния между центрами множеств значений координат XY меток. Первый (главный) компонент представлял наибольшую долю дисперсии меток (около 70%).

Пермутационное размножение значений координат в выборках составляло 10 000 повторностей, а уровень значимости α был выбран на уровне 95%.

3. Результаты и обсуждение

Обобщенный Прокрустов анализ.

Длина листовых пластин ячменя была меньше, чем у овса (соответственно, $12,5 \pm 0,43$ и $18,04 \pm 0,37$ см; $p < 0,05$). Изменчивость формы пластин определялась по различию в центроидных расстояниях. Она значительно различалась во всех выборках ($p < 0,0001$).

Индивидуальное различие отклонения координат в выборках было не значимым ($p > 0,05$; таб.1).

Таблица 1 – Различие в форме (лист), в направленной асимметрии (сторона) и во флуктуирующей асимметрии (лист × сторона)

Источник вариации	овес					ячмень			
	Effect	SS	MS	df	F	SS	MS	df	F
Контроль	лист (1)	0,02	0,0000	1520	1,00 ^{ns}	0,002	0,00000	1400	0,14 ^{ns}
	сторона (2)	0,01	0,0001	76	9,68 ^{***}	0,003	0,00003	100	2,78 ^{***}
	(1)×(2)	0,02	0,0000	1520	13,10 ^{***}	0,017	0,00001	1400	138,55 ^{***}
	ошибка (3)	0,01	0,0000	9576	-	0,001	0,00000	9000	-
1-я доза	(1)	0,373	0,0002	1520	12,77 ^{***}	0,010	0,00001	1400	0,82 ^{ns}
	(2)	0,011	0,0001	76	7,37 ^{***}	0,001	0,00001	100	1,51 ^{**}
	(1)×(2)	0,029	0,0000	1520	1,39 ^{***}	0,013	0,00001	1400	51,33 ^{***}
	(3)	0,132	0,0000	9576	-	0,002	0,00000	9000	-
2-я доза	(1)	0,015	0,0000	1520	0,63 ^{ns}	0,005	0,00000	1400	0,36 ^{ns}
	(2)	0,008	0,0001	76	6,33 ^{***}	0,002	0,00002	100	2,32 ^{***}
	(1)×(2)	0,024	0,0000	1520	53,51 ^{***}	0,015	0,00001	1400	47,66 ^{***}
	(3)	0,003	0,0000	9576	-	0,002	0,00000	9000	-

Примечание: SS – сумма квадратов; df – степень свободы; MS – средний квадрат; F – критерий Гудолла; *** – $p < 0,0001$; ** – $p < 0,001$

Исключением была выборка «овес-1-я доза» ($p < 0,0001$). В остальных выборках различие координатах меток было не существенным и p приближалось к единице. Ошибка измерения была невысокой в подавляющем числе выборок, поэтому показатели обоих видов асимметрии были высоко значимыми ($p < 0,0001$). Например, «овес-2-я доза» показал ФА с критерием $F = 53,5$ (в контроле – $F = 13,1$). В листьях ячменя 2-я доза показала критерий $F = 47,7$, что было значительно меньше, чем в контроле – $F = 138,6$. Направленная асимметрия была выше в листьях овса – $F = 6,3-9,7$; в листьях ячменя – $F = 1,5-2,8$.

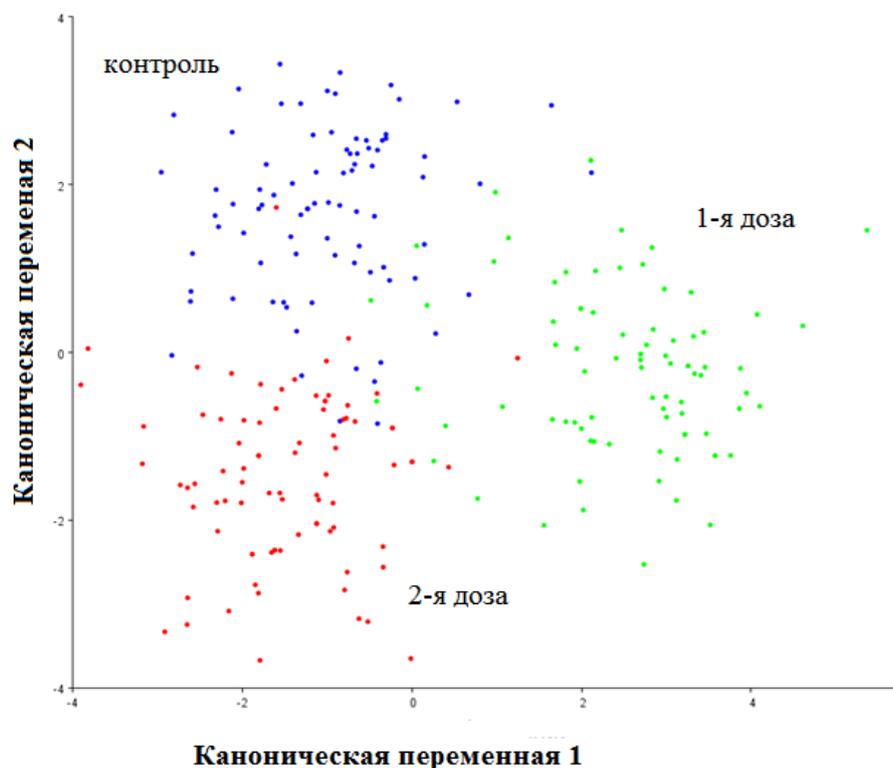
Определение различия в форме и асимметрии с помощью морфогометрических расстояний.

Канонический вариационный анализ выполнялся на основе ковариационных матриц координат ХУ меток. Матрица симметрии показывала корреляционные коэффициенты между всеми парами меток и сообщала о различии в форме. В табл.2 показаны расстояния между центрами значений в Прокрустовом усреднённом пространстве и их статистическая значимость.

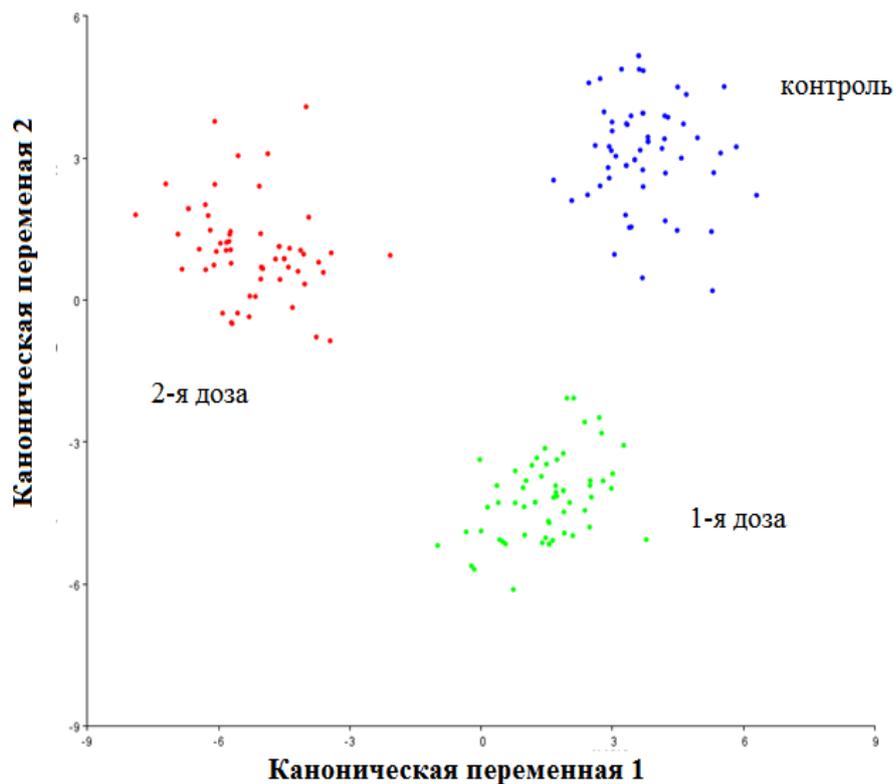
Таблица 2 – Прокрустовы расстояния между центрами множеств симметричного компонента (изменчивость формы)

	овес		ячмень		
	1 доза	2 доза	1 доза	2 доза	контр.
1 доза	x	x	1 доза	x	x
2 доза	0,016 ($p=0,0004$)	x	2 доза	0,003 ($p=0,191$)	x
контр.	0,016 ($p=0,0002$)	0,008 ($p < 0,0001$)	контр.	0,004 ($p=0,01$)	0,003 ($p=0,01$)

Наиболее контрастное разделение по форме пластин было характерно для выборки «овес контроль – 2-я доза» ($p < 0,001$; см также рис. 2а). Для ячменя различие в форме также было между контрольными растениями и растениями, полученными на удобрениях ($p=0,01$; см также рис. 2б). Различие между двумя культурами можно объяснить различием в физиологии и биохимии ассимилятов флаговых листьев и вторых листьев и генетическими особенностями двух культур.



а



б

Рис. 2 – Изменчивость формы (симметричный компонент):
а – овес; б – ячмень

Матрица антисимметрии сообщила о парном различии билатерально симметричных меток (табл. 3). Как и в матрице симметрии, здесь использовались первые компоненты дисперсии. Наиболее контрастное разделение в асимметрии было характерно для ячменя (см также рис. 3б). Пара множеств: контроль – 1-я доза и контроль – 2-я доза показала самое высокое прокрустово расстояние 0,011 и 0,012; $p < 0,001$. Для овса наибольшее различие в асимметрии было между контролем и 1-й дозой (см также рис. 3а).

Таблица 3 – Прокустовы расстояния между центрами множеств асимметричного компонента

овес			ячмень		
	1 доза	2 доза		1 доза	2 доза
1 доза	х	х	1 доза	х	х
2 доза	0,006 ($p=0,017$)	х	2 доза	0,004 ($p=0,1$)	х
контр.	0,008 ($p=0,001$)	0,004 ($p=0,083$)	контр.	0,011 ($p<0,0001$)	0,012 ($p<0,0001$)

Листовые пластины ячменя показали большее различие в асимметрии, несмотря на меньшие размеры листьев, разделение множеств также показало высокую изменчивость в выборках (рис. 3).

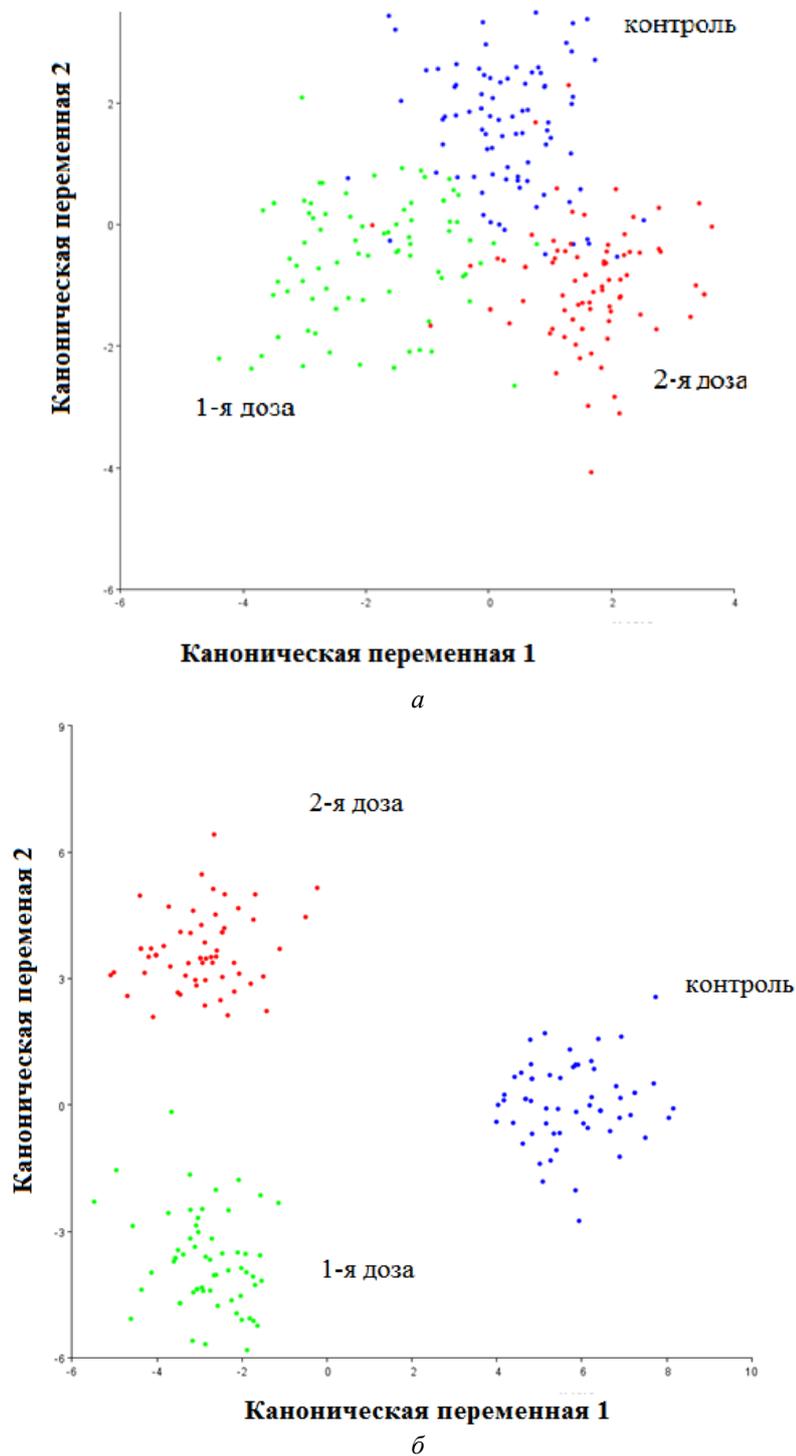


Рис. 3 – Изменчивость асимметрии (асимметричный компонент):
а – овес; б – ячмень

Таким образом, второй лист проявил высокие асимметричные свойства и мог использоваться при изучении стабильности развития ячменя.

Известно, что овес менее требователен к почве по сравнению с ячменём, а ячмень более требователен к влаге, например, в фазе налива зерна. Такие экологические требования также могут объяснять межвидовое различие в асимметрии. Лето 2022 года было достаточно жаркое, и могло повлиять на снижение стабильности развития ячменя, особенно в контрольной группе растений. Большая склонность ячменя к кущению также говорит в пользу высокой асимметричности листьев и этот нюанс нельзя оставлять незамеченным при сравнении двух культур, принадлежащих к одному семейству.

4. Заключение

Формирование анатомических структур происходит с широким диапазоном изменчивости, в том числе, флуктуационной изменчивости, т. е. с высоким стандартным отклонением величины ФА. Одинаковые размеры листовых пластин позволили сравнить ФА и внутривидовую флуктуационную изменчивость и стабильность развития.

Морфологическая особенность флаговых листьев овса – направленная асимметрия, снижавшая величину ФА и, очевидно, снижавшая дифференциацию множеств значений в Прокрустовом пространстве.

Вторая (повышенная) доза могла способствовать неравномерному росту клеток в листовых пластинах овса, что объясняет высокое присутствие флуктуирующей асимметрии, по сравнению с контрольной выборкой. Наоборот, контрольные растения ячменя показали более высокую нестабильность развития. Удобрение могло стабилизировать биохимические процессы в этой относительно требовательной культуре. В результате обе дозы удобрения могли вызвать снижение нестабильности развития, т. е. снижение величины ФА.

В качестве рекомендации мы предлагаем использовать оба листа (флаговый и второй) в сравнении или использовать суммарное значение индексов ФА обоих типов листьев.

Conflict of Interest

None declared.

Конфликт интересов

Не указан.

References

1. Устюжанина О.А. Влияние разных минеральных фонов на урожайность и коэффициент флуктуирующей асимметрии для озимой и яровой пшениц / О.А. Устюжанина, Л.А. Соколова, А.С. Голофеева и др. // Проблемы региональной экологии – 2017 – № 3. – С. 99–102
2. Баранов С.Г. Опыт тестирования стабильности развития пшеницы в агроценозах Владимирского Ополья / С.Г. Баранов, Т.С. Бибик, И.Ю. Винокуров // Успехи современного естествознания – 2018 – №12. – С. 51–55 DOI: 10.17513/use.37007
3. Baranov S.G. Does Fertilizer Influence Shape and Asymmetry in Wheat Leaf? / S.G. Baranov, I.Yu. Vinokurov, M.V. Schukin et al. // Computer Science – On-line Conference – Springer. Cham. – 2020. – pp. 153–160 DOI: 10.1007/978-3-030-51971-1_12
4. Baranov S.G. Two kinds of asymmetry in spring wheat leaf blade / S.G. Baranov, I.Yu. Vinokurov, I.E. Zykov et al. // IOP Conference – Series: Earth and Environmental Science – IOP Publishing. – 2021. – V. 839 – P. 032037 DOI: 10.1088/1755-1315/839/3/03203770
5. Baranov S.G. Evaluation of shape and asymmetry in rye leaf. / S.G. Baranov, I.E. Zykov, D.D. Kuznetsova et al. // IOP Conference – Series: Earth and Environmental Science – IOP Publishing – 2020 – V. 548. – №3. – P.032001 DOI: 10.1088/1755-1315/548/3/032001
6. Borrell A.K. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? / A.K. Borrell, G.L. Hammer, R.G. Henzell // Dry matter production and yield – Crop science – 2000 – 40(4) – pp. 1037–1048
7. Ma J. Flag leaf size and posture of bread wheat: genetic dissection, QTL validation and their relationships with yield-related traits / J. Ma, Y. Tu, J. Zhu et al. // Theoretical and Applied Genetics – 2020 – 133(1) – pp. 297–315
8. Fleitas M.C. Breadmaking quality and yield response to the green leaf area duration caused by fluxapyroxad under three nitrogen rates in wheat affected with tan spot / M.C. Fleitas, M. Schierenbeck, G.S. Gerard et al. // Crop Protection – 2018 – 106 – pp. 201–209
9. Rohlf F.J. The tps series of software / F.J. Rohlf // Hystrix – 2015 – 26(1) – p. 9
10. Klingenberg C.P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics / C.P. Klingenberg // Mol. Ecol. Res. – 2011 – No 11 – pp. 353–357 DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x

References in English

1. Ustyuzhanina O.A. Vliyanie raznyh mineral'nyh fonov na urozhajnost' i koeffitsient fluktuiruyushchej asimmetrii dlya ozimoy i yarvoj pshenic [The influence of different mineral backgrounds on the yield and the coefficient of fluctuating asymmetry for winter and spring wheat] / O.A. Ustyuzhanina, L.A. Sokolova, A.S. Golofteeva et al. // Problemy regional'noj ekologii [Problems of regional ecology]. – 2017 – № 3. – pp. 99–102 [in Russian]
2. Baranov S.G. Opyt testirovaniya stabil'nosti razvitiya pshenicy v agroecenozah Vladimirskogo Opolya [The experience of testing the stability of wheat development in the agroecenoses of the Vladimir Opole] / S.G. Baranov, T.S. Bibik, I.Yu. Vinokurov // Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya [Successes of modern natural science] – 2018 – № 12. – pp. 51–55. DOI: 10.17513/use.37007 [in Russian]
3. Baranov S.G. Does Fertilizer Influence Shape and Asymmetry in Wheat Leaf? / S.G. Baranov, I.Yu. Vinokurov, M.V. Schukin et al. // Computer Science – On-line Conference – Springer. Cham. – 2020. – pp. 153–160 DOI: 10.1007/978-3-030-51971-1_12

4. Baranov S.G. Two kinds of asymmetry in spring wheat leaf blade / S.G. Baranov, I.Yu. Vinokurov, I.E. Zykov et al. // IOP Conference – Series: Earth and Environmental Science – IOP Publishing. – 2021. – V. 839 – P. 032037 DOI: 10.1088/1755-1315/839/3/03203770
5. Baranov S.G. Evaluation of shape and asymmetry in rye leaf. / S.G. Baranov, I.E. Zykov, D.D. Kuznetsova et al. // IOP Conference – Series: Earth and Environmental Science – IOP Publishing – 2020 – V. 548. – №3. – P.032001 DOI: 10.1088/1755-1315/548/3/032001
6. Borrell A.K. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? / A.K. Borrell, G.L. Hammer, R.G. Henzell // Dry matter production and yield – Crop science – 2000 – 40(4) – pp. 1037–1048
7. Ma J. Flag leaf size and posture of bread wheat: genetic dissection, QTL validation and their relationships with yield-related traits / J. Ma, Y. Tu, J. Zhu et al. // Theoretical and Applied Genetics – 2020 – 133(1) – pp. 297–315
8. Fleitas M.C. Breadmaking quality and yield response to the green leaf area duration caused by fluxapyroxad under three nitrogen rates in wheat affected with tan spot / M.C. Fleitas, M. Schierenbeck, G.S. Gerard et al. // Crop Protection – 2018 – 106 – pp. 201–209
9. Rohlf F.J. The tps series of software / F.J. Rohlf // Hystrix – 2015 – 26(1) – p. 9
10. Klingenberg C.P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics / C.P. Klingenberg // Mol. Ecol. Res. – 2011 – No 11 – pp. 353–357 DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x