

О.Д. ЧЕРГІНА, кандидат сільськогосподарських наук
Л.І. БУБЛИК, доктор сільськогосподарських наук, професор
Інститут захисту рослин НААН

ВПЛИВ РІЗНОПОЛЯРНИХ ПЕСТИЦИДІВ НА АКТИВНІСТЬ ОКИСНО-ВІДНОВНИХ ФЕРМЕНТІВ В ЗЕРНОВИХ КОЛОСОВИХ КУЛЬТУРАХ

Досліджено вплив різнополярних пестицидів на показники метаболізму зернових колосових культур (вміст нітратів, нітратредуктазна активність, активність окисно-відновних ферментів). Встановлено кореляційну залежність активності пероксидази, каталази та нітратредуктазної активності пшениці озимої та ячменю ярого від полярності сполук. Малополярні фунгіциди беноміл, епоксиконазол, тіофанат-метил впливали на активність окисно-відновних ферментів аналогічно біорегулятору Емістиму С, але активність була меншою. Активність окисних ферментів майже однаково змінювалась при застосуванні пестицидів окремо і в суміші з анолітом АНК.

зернові колосові культури, пестициди, окисно-відновні ферменти, нітратредуктазна активність

Удосконалення всього комплексу заходів захисту урожаю зернових колосових культур від шкідливих організмів є дуже актуальною і важливою проблемою. Прирости врожаю за комплексного застосування пестицидів та біорегуляторів росту вищі, ніж при внесенні їх окремо. Рослини пшениці озимої на фоні комплексного застосування засобів хімізації більш повно використовують азот добрив та ґрунту. В результаті — посилюється формування кореневої системи та листового апарату, підвищується інтенсивність метаболічних процесів. Все це сприяє формуванню високого врожаю зерна. Величина збереженого врожаю зерна пшениці озимої від застосування комплексу засобів захисту рослин та незначних доз біорегуляторів може досягти 50% від загального урожаю і становити 30,6 ц/га. Це дає змогу впливати на біологічну систему «рослина — фітофаг — патоген»: зменшити пестицидний прес на навколишнє середовище, підвищити продуктивність посівів і поліпшити якість зерна. На сучасному етапі механізм дії біорегуляторів пов'язують, головним чином, з перестройкою гормонального балансу в клітинах рослин, що обробляються [19]. При застосуванні біорегулятора природного походження Емістим С, що міс-

тять збалансований комплекс фітогормонів, мікроелементів, жирних кислот та інших полярних сполук, відмічено антистресову дію його на рослини, яка пов'язується з підвищенням вмісту в них специфічних клітинних білків-лектинів [16]. Але, на сьогодні дослідження в цій області покищо знаходяться на стадії пошуку та розробок. Розуміння закономірностей динаміки пестицидів, часу їх зберігання в різних середовищах, дії на компоненти зернового агроценозу на процеси, від яких залежить якість продукції, також особливо важливе для їх безпечного застосування.

Фізіологічно активні речовини впливають на фізіолого-біохімічні процеси: окисно-відновні та активність ключового ферменту азотного обміну (відновлення нітратів) — нітратредуктази, що в свою чергу, як й інші фактори, викликають перебудову у метаболізмі рослинної клітини. Вияснення цих складних питань необхідне для спрямованого використання окремих речовин з метою регуляції росту, розвитку рослин, одержання високого урожаю і покращення якості сільсько-господарської продукції.

Пероксидаза та каталаза входять до складу антиоксидантної системи рослини і утилізують активні форми кисню, що утворюються у відповідь на дію несприятливих факторів і є токсичними для клітини. Внаслідок широкої субстратної специфічності найбільш вразлива пероксидазна система, яка бере участь в різних фізіолого-біохімічних процесах. Достатньо вказати деякі з них: антиоксидантна функція-утилізація пероксиду водню, процеси фотосинтезу та дихання в хлоропластах і мітохондріях [1].

Пероксидаза — це фермент зі змішаними функціями, здатний гідрокислювати тирозин, каталізувати реакції окислення різних неорганічних та органічних сполук. Для рослинних пероксидаз відомо два типи окисних реакцій, в яких роль акцептора електронів виконують або пероксид водню («класична» пероксидазна реакція), або молекулярний кисень (оксидазна функція пероксидази). Особливості будови та стабільність ферменту дозволяють віднести фермент пероксидазу до стрес-білків рослин, які беруть участь в захисті клітини від різних діючих факторів [12]. Цей фермент часто називають «аварійним ферментом» [3, 13, 7]. Пероксидазну функцію в рослинах виконує і нітратредуктазна система [11, 8], вважається можливим утворення пероксидазного комплексу з нітратами [6].

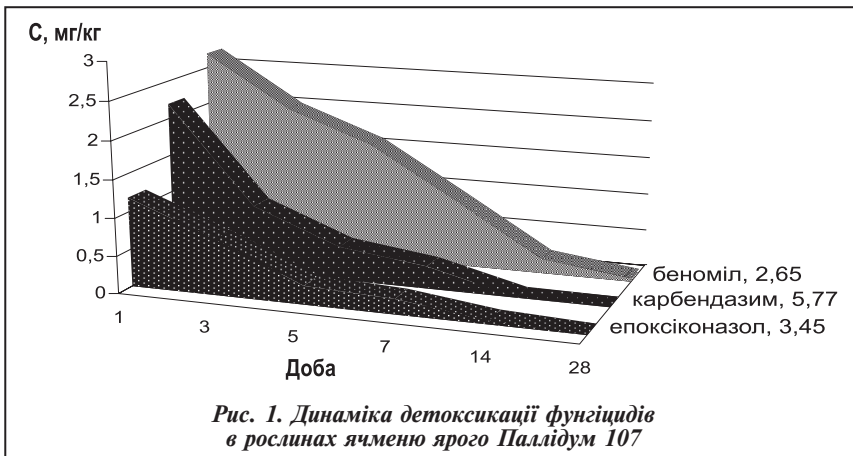
Виходячи з наведеного, дослідження по вивченню процесів зміни активності пероксидази та каталази в пшениці озимій та ячмені ярому під впливом пестицидів, а саме фунгіцидів, є актуальним та важливим.

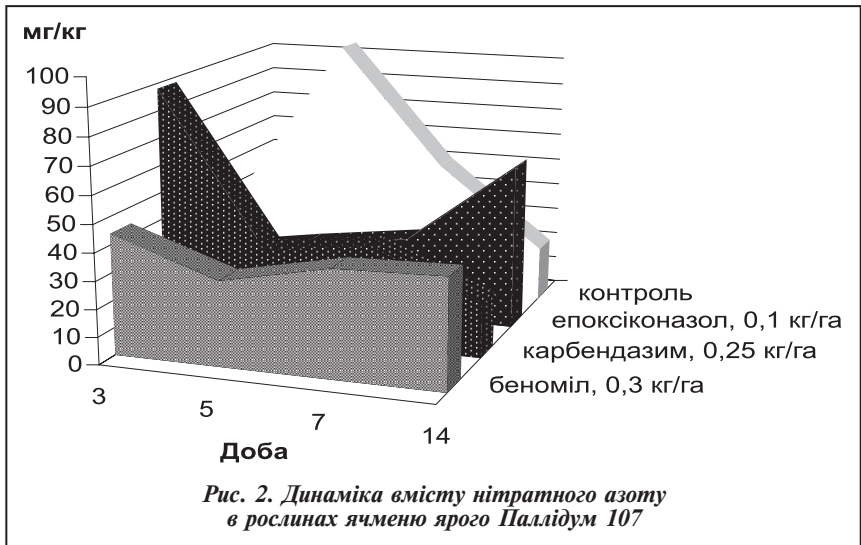
Мета досліджень — вивчення динаміки детоксикації сучасних пестицидів та виявлення їх впливу на метаболізм рослин зернових колосових культур в Лісостепу України.

Методика досліджень. Дослідження провадили в 2008—2013 рр. на базі Національного наукового центру «Інститут землеробства НААН» (с.м.т. Чабани) в Лісостепу України.

Об'єктами досліджень були: пшениця озима сортів Поліська-90 та Київська-8; ячмінь ярий — Пеяс та Паллідум-107. Обприскували рослини фунгіцидами у фазу виходу в трубку та колосіння-цвітіння. Динаміку вмісту фунгіцидів вивчали за офіційно затвердженими методиками з використанням методів тонкошарової та газорідинної хроматографії [4]. Вміст нітратного азоту в зелених листках пшениці озимої визначали потенціометричним методом [5]. Активність окисно-відновних ферментів в листках зернових культур визначали в одній наважці за методикою Починка [9].

Результати досліджень. За результатами досліджень швидкість детоксикації пестицидів та їх вплив на активність ферментів в рослинах зернових колосових культур залежить від полярності пестицидних сполук. Період виявлення пестицидів залежить як від фізико-хімічних властивостей сполук, так і від норми їх застосування. Приведено динаміку детоксикації фунгіцидів беномілу, епоксиконазолу та карбендазиму (величина дипольного моменту μ відповідно дорівнює 2,65, 3,46 та 5,77 Дебай) (рис. 1) та вміст нітратного азоту в рослинах ячменю ярого сорту Паллідум 107 (рис. 2). За майже однакової початкової концентрації беномілу (н.в. 0,3 кг/га) і карбендазиму (н.в. 0,25 кг/га), на 3-тю добу після застосування, більш полярного карбендазиму знаходиться в рослинах вдвічі менше, ніж беномілу. Кількість їх в ячмені на рівні МДР (для беномілу 0,5 мг/кг, для карбендазиму — 0,2 мг/кг) виявляється на 14-ту та 7-му добу, відповідно. Епоксиконазол, що застосовується з втричі меншою нормою витрати (0,1 кг/га за діючою





речовиною) має більшу полярність ($\mu = 3,46$ Дебай), ніж беноміл і швидше розпадається та виявляється на рівні МДР (не допускається при межі визначення ТШХ 0,05 мг/кг) вже на 14-ту добу після обробки.

Як показник змін нітратредуктазної активності вміст нітратного азоту навпаки був вдвічі більшим при застосуванні карбендазиму ніж при застосуванні беномілу. На кінець другого тижня (на 14-ту добу) вміст нітратного азоту зрівнявся з контролем, а при застосуванні беномілу знаходився на одному рівні і становив 3—4 мг/кг. При застосуванні епоксиконазолу ($\mu = 3,45$ дебай) з вдвічі меншою нормою витрати (0,10 кг/га) найбільший вміст нітратного азоту спостерігався на 14-ту, в той час як на контролі — на 5-ту добу.

Літературні дані показують, що характер дії різних препаратів на азотний метаболізм рослинних організмів неоднаковий. Він залежить, як від властивостей препаратів, так і від видових та вікових особливостей рослин [2].

Враховуючи важливість пероксидази та інших окисних ферментів у механізмі адаптації рослин до різних видів стресів [15], можна сказати, що стимуляція або пригнічення залежить від концентрації, токсичності речовини, тривалості дії, видової специфічності та періоду вегетації рослини. В пшениці озимій у фазу виходу в трубку (V етап органогенезу) при застосуванні біорегулятора Емістим С, активність окисно-відновних ферментів була вищою, ніж в контролі (табл. 1). Аналогічна закономірність зміни активності ферментів виявлена також при застосуванні препарату Рекс Т (діюча речовина епоксикона-

1. Динаміка активності окисних ферментів в рослинах пшениці озимої та ячменю ярого

Препарат, діюча речовина, норма витрати	Активність окисних ферментів на добу після обприскування							
	Ячмінь ярий, сорт Пеас				Пшениця озима, сорт Поліська-90			
	1 05.06.04 (вихід в трубку)	7 11.06.04 (прапорцевий листок)	14 18.06.04 (коłosіння — цвітіння)	1 02.06.04 (коłosіння)	7 08.06.04 (цвітіння)	14 15.06.04 (цвітіння — початок формування зерна)		
Контроль	$\frac{147,6}{510,0}$	$\frac{63,2}{540,0}$	$\frac{263,5}{874,0}$	$\frac{611,4}{456,0}$	$\frac{493,3}{506,0}$	$\frac{560,8}{480,0}$		
Абакус, 12,5% к.е., 1,5 л/га епоксиконазол	$\frac{141,3}{498,0}$	$\frac{139,0}{520,0}$	$\frac{200,3}{920,0}$	$\frac{548,2}{488,0}$	$\frac{527,1}{510,0}$	$\frac{611,4}{480,0}$		
Рекс Дуо, 49,7% к.е., 0,6 л/га епоксиконазол+іофанат- метил	$\frac{139,1}{510,0}$	$\frac{63,2}{540,0}$	$\frac{265,6}{912,0}$	$\frac{527,1}{496,0}$	$\frac{413,2}{496,0}$	$\frac{560,8}{540,0}$		
АНК, 10 л/га + біогумус Вітогран, 15 л/га	$\frac{143,4}{580,0}$	$\frac{126,5}{510,0}$	$\frac{189,7}{930,0}$	$\frac{605,3}{520,0}$	$\frac{453,1}{502,0}$	$\frac{549,3}{493,0}$		
Рекс Дуо, 0,3 л/га + аноліт АНК, 10 л/га + біогумус Вітогран, 15 л/га	$\frac{147,6}{510,0}$	$\frac{143,4}{530,0}$	$\frac{210,8}{936,0}$	$\frac{493,3}{508,0}$	$\frac{434,3}{492,0}$	$\frac{653,6}{460,0}$		
Примітка. В чисельнику — активність пероксидази, мкМоль окисленого гваяколу; в знаменнику — активність каталази, мкМоль розкладеного пероксиду водню.								

2. Вплив біологічно активних речовин на активність окисних ферментів в рослинах зернових культур у фазі виходу в трубку

Варіант	Діюча речовина	Дипольний момент, $\mu \pm 0,02$	Норма витрати: препарат (діюча речовина, кг/га)	Пероксидаза, мкМоль окисленого гваяколу	Каталаза, мкМоль розкладеного H_2O_2	Поліфенолоксидаза, мкМоль окисленої аскорбінової кислоти
<i>Пшениця озима, сорт Київська-8</i>						
Контроль	—	—	—	558,7	278,0	10,0
Емістим С	Збалансов. комплекс фітогормонів	≥ 6	5мл/га (0,05 г/га)	811,7	330,0	15,0
Топсін М, 70% з.п.	Тіофанат-метил	4,78	1,2 кг/га (0,84)	495,5	268,0	15,0
Рекс Т, 12% к.е.	Епоксиконазол	3,46	0,7 л/га (0,08)	685,2	128,0	12,5
<i>Ячмінь ярий, сорт Паллідум 107</i>						
Контроль	—	—	—	400,3	212,0	12,5
Фундазол, 50% з.п.	Беноміл	2,65	0,6 кг/га (0,3)	360,4	382,1	15,0
Тіл, 25% к.е.	Пропіконазол	2,74	0,5 л/га (0,125)	440,3	290,4	12,5
Феразим, 50% к.с.	Карбендазим	5,77	0,6 л/га (0,3)	510,5	360,2	10,1
Примітка. Активність ферментів визначали на 14-ту добу після застосування пестицидів та біорегулятора Емістиму С.						

зол), що збігається з літературними даними [18]. Н.Б. Проніна розглядає збільшення гідроксильоючої активності пероксидази як одну із захисних відповідних реакцій, направлених на ліквідацію фітотоксичних бар'єрів, причому найбільшу активацію ферменту встановлено в рослинах найбільш стійких до препарату, що застосовують [11].

За результатами досліджень (табл. 1, 2) активність окисних ферментів в рослинах, як пшениці озимої, так і ячменю ярого, майже однаково змінювалась при застосуванні пестицидів окремо і в суміші з препаратом АНК. Останній застосовували в суміші з препаратами з метою зменшення норми витрати фунгіцидів в захисті пшениці озимої у фазу колосіння і ячменю ярого у фазу виходу в трубку від борошністої роси, септоріозу листя та колосу. Аноліт АНК — електрохімічний активний розчин з рН 6,8. Широкий спектр діючих речовин (гідропероксида, озон, кисневі сполуки хлору) зумовлюють бактерицидну, спороцидну активність аноліту АНК (до 5-ти діб). Розчин відноситься до 4-го класу (малонебезпечних) сполук. За ГОСТ 12.1.007-76 має мінімальний токсичний вміст хлориду натрію в початковому розчині (від 2 до 3 грамів на літр водопровідної води) [10].

Встановлено також обернений взаємозв'язок між активностями окисних ферментів — при підвищенні активності пероксидази в рослинах активність каталази знижується. Таким чином, здійснюється регуляція процесів вільнорадикального окислення і деградації надлишків пероксидів у рослинах в процесі росту [17, 14].

ВИСНОВКИ

Пестициди, як фізіологічно-активні речовини, впливають на активність окисно-відновних процесів в рослинах зернових колосових культур, що сприяє підвищенню життєздатності рослин та їх конкурентоспроможності в агробіоценозі. Активність ферментів залежить від полярності діючої речовини препаратів. При застосуванні полярного біорегулятора Емістим С активність ферментів була найвищою. Збільшення пероксидазної активності в тканинах свідчить про ефективність використання системних (малополярних) пестицидів та інших сполук з метою підвищення імунітету рослин [14].

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. *Андреева В.А.* Фермент пероксидаза / В.А. Андреева. — М.: Наука, 1988. — 128 с.
2. Берим Н.Г. Биологические основы применения инсектицидов / Н.Г. Берим. — Л.: Колос, 1971. — С. 12—16.
3. *Марютин Ф.Н.* Влияние химических препаратов на активность окислительно-восстановительных ферментов в растениях и на развитие мучнистой росы пшеницы / Ф.Н. Марютин, Гао Сюс Вень // Вісник ХДАУ: Зб.наук.пр. — 1997. — № 2. — С. 85—90.

4. *Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде.* — Москва, 1982. — Ч. XII. — С. 86—89; Киев. — Сб. № 26. — С.191—194; Сб. № 28. — С. 128—131.
5. *Методические указания по определению нитратов и нитритов в продукции растениеводства.* — Москва, 1989.
6. *Михлин Д.М.* / Д.М. Михлин, З.С. Броневицкая // Докл. АН СССР. — 1949. — С. 329.
7. *Мостов'як І.І.* Активність окисно-відновних ферментів / І.І. Мостов'як // Захист рослин. — 2002. — №2. — С. 6—7.
8. *Нитратвостанавливающаяся* активность растительной пероксидазы / Я.В. Пейве и др. // Физиология растений. — 1972. — №19. — Вып. 2. — С. 340.
9. *Починок Х.Н.* Методы биохимического анализа растений / Х.Н. Починок. — К.: Наукова думка, 1976. — С. 175—176.
10. *Прилуцкий В.И.* Электрохимически активированная вода: аномальные свойства, механизм биологического действия / В.И. Прилуцкий, В.М. Бахир. — М., 1997. — С. 153—154.
11. *Пронина Н.Б.* Физиолого-биохимические особенности ответных реакций растений на действие гербицидов / Н.Б. Пронина // Применение пестицидов и их воздействие на сельскохозяйственные культуры и сорные растения при интенсивной химизации сельского хозяйства: Сб. н. тр. ТСХА. — М., 1986.
12. *Савич И.М.* Пероксидазы — стрессовые белки растений / И.М. Савич // Усп.совр. биол.—1989. — Т. 107, № 3. — С. 406—417.
13. *Садвакасова Г.Г.* Некоторые физико-химические и физиологические свойства пероксидазы растений / Г.Г. Садвакасова, Р.М. Кулаева // Физиология и биохимия культ. растений. — 1987. — №2. — С. 107.
14. *Сергієнко В.Г.* Вплив біологічних препаратів на активність окисно-відновних ферментів рослин томатів / В.Г. Сергієнко, О.Д. Чергіна // Захист і карантин рослин. — Міжвід. темат. наук. зб. — К., 2011. — В. 57. — С. 179—188.
15. *Соломенко Л.И.* Динамика фосфорорганических инсектицидов и их влияние на метаболизм растений озимой пшеницы при токсикации всходов : автореф. дис.... канд.биол.наук /Л.И. Соломенко. — К, 1990. — 24 с.
16. *Хайруллин Р.М.* Исследование роли лектинов пшеницы в защитных реакциях растений при грибном патогенезе : авторефер. дисс. ... канд. биол. наук / Р.М. Хайруллин. — Казань, 1994. — 25 с.
17. *Школьник М.Я.* Микроэлементы в жизни растений / М.Я. Школьник. — Л. — 1974. — 342 с.
18. *Benton J.M.* The plant growth regulator activity of the fungicide

epoxiconazole on *Galium aparine* L. / J.M. Benton, A.H. Cobb // *Plant Growth Regul.* — 1995. — 17, №2. — P. 149—155.

19. Nagl W. Genome changes induced by auxin — herbicides in seedlings of *Zea mays* L. / W. Nagl // *Envir. Exper. Bot.* — 1988. — V. 28, № 3. — P. 197—206.

Чергина Е.Д., Бублик Л.И. Влияние разнополярных пестицидов на активность окислительно-восстановительных ферментов в зерновых колосовых культурах

Исследовано влияние разнополярных пестицидов на показатели метаболизма (содержание нитратов, нитратредуктазную активность, активность окислительно-восстановительных ферментов) зерновых колосовых культур. Установлена корреляционная зависимость активности пероксидазы, каталазы и нитратредуктазной активности озимой пшеницы и ярового ячменя от полярности пестицидов. Малополярные фунгициды беномил, эпоксиконазол, тиофанат-метил влияли на активность окислительно-восстановительных ферментов аналогично биорегулятору Эмистима С, но активность была меньше. Активность окислительно-восстановительных ферментов почти не изменялась при применении пестицидов отдельно и в смеси с анолитом АНК.

Chergina H.D., Bublik L.I. Effect of heteropolar pesticides on the activity of redox enzymes in cereals

The influence of heteropolar pesticides on the metabolic indices (nitrates, nitratoreduktazna activity and activity of redox enzymes) of cereals was investigated. The correlation dependence of activity of peroxidase, catalase and nitratoreduktase in winter wheat and spring barley from polarity of compounds was established. Low-polar fungicides benomyl, epoxiconazol, tiofanat-methyl impact on activity of redox enzymes similar to bioregulators emistim C, but the activity was lower. The activity of redox enzymes almost equally varied in the application of pesticides individually and in mixture with anolyte ANK.