

О.В. БАЛЮХ, кандидат сільськогосподарських наук
Інститут захисту рослин НААН

ВПЛИВ ПРОТРУЄННЯ НАСІННЯ ФУНГІЦИДАМИ НА АКТИВНІСТЬ ОКСИДОРЕДУКТАЗНИХ ФЕРМЕНТІВ У РОСЛИНАХ ЛЮПИНУ

Досліджено вплив протруєння насіння фунгіцидами на активність пероксидази та каталази в рослинах люпину. Застосування малополярних фунгіцидів утримує рівень пероксидази в проростках на достатньо високому рівні впродовж 20–30 діб, що забезпечує захист рослин від хвороб на початкових етапах розвитку. Зростання пероксидазної активності та відповідні зміни активності каталази можуть вказувати на розвиток захисних адаптивних реакцій рослин.

люпин, протруєння насіння, фунгіциди, пероксидаза, каталаза

Люпин є цінною кормовою культурою і добрим попередником для ряду інших культур у сівозміні. Незважаючи на важливе кормове і агротехнічне значення люпину, обсяги його вирощування на сьогоднішній день залишаються незначними, що можна пояснити недостатньою кількістю розробок зональних технологій вирощування культури. Одним з факторів, які впливають на продуктивність і реалізацію агробіологічного потенціалу люпину, є ураження збудниками хвороб. Технології вирощування потребують таких систем захисту від шкідливих організмів, які здатні своєчасно і надійно контролювати їх розвиток та здатні максимально мобілізувати весь потенціал захисних сил організму на усіх етапах росту і розвитку рослин, і впровадження яких буде економічно виправданим та екологічно безпечним. Донині в технології вирощування зернобобових культур протруєння насіння є обов'язковим, оскільки дає можливість захистити молоді проростки рослин на ранніх етапах онтогенезу. Актуальним є прогнозування забруднення агроценозів пестицидами, для чого необхідне вивчення їх токсичної дії на живі організми, взаємодії з об'єктами навколишнього середовища та встановлення критеріїв екотоксичної дії пестицидів сучасного асортименту [1, 5, 6].

Фунгіциди є фізіологічно активними речовинами. Окрім своєї прямої дії — захисту сільськогосподарських культур від збудників хвороб, фунгіциди діють і на саму рослину, впливаючи на фізіологічні та біохімічні показники. Проникаючи в клітини рослини, вони стимулюють

вільнорадикальне окислення, що призводить до небезпечних процесів: окислювальна модифікація білка і нуклеїнових кислот, окислення ліпідів та ін. У відповідь на стрес активуються системи захисту рослинного організму (ферменти каталаза, пероксидаза, поліфенолоксидази), спрямовані на гальмування вільно-радикального окислення та підтримання функціональної активності клітини [3, 10]. За даними ряду авторів, фунгіциди з класів триазоли і стробілурини мають властивості хімічних імунізаторів і характеризуються мульти-протекторним впливом на рослини, оскільки оброблені ними рослини менше пошкоджуються під впливом не лише біотичних, але й таких абіотичних факторів як високі і низькі температури, озон, засуха тощо [9, 11—13].

Одним з критеріїв оцінки гомеостазу рослин є активність окисно-відновних ферментів. Пероксидаза — основний дихальний і ключовий фермент фотосинтезу, надзвичайно чутливий до будь-яких впливів на рослинний організм (ураження патогенами, обробка елісаторами, вплив високих температур тощо), завдяки чому її часто називають “аварійним ферментом”. Активація пероксидази у відповідь на стреси є одним з ключових процесів у формуванні і розвитку захисних реакцій в рослинних клітинах. Вона бере участь у двох основних захисних реакціях рослин — лігніфікації клітинних стінок для механічної ізоляції патогена та утворенні активних форм кисню (АФК), які з одного боку є продуктом нормального функціонування електрон-транспортних ланцюгів дихання і фотосинтезу, а з іншого виступають в ролі вторинних індукторів в супероксидсинтазній сигнальній системі та запуску реакції надчутливості, приймають участь в синтезі спеціальних білків стійкості. Роль каталази в організмі полягає у прискоренні реакцій розкладу отруйної для клітин сполуки — пероксиду водню, яка утворюється в результаті біохімічних реакцій окислення органічних сполук та в процесі дихання, на воду і молекулярний кисень. Динаміка оксидазної активності — неспецифічне явище, однак є характерним відображенням всіх процесів, пов’язаних з накопиченням активних форм кисню, процесами стійкості рослин до несприятливих факторів [2, 4, 7].

Отже, вивчення змін ферментативної активності пероксидази та каталази в рослинах при застосуванні фунгіцидів для захисту культури від хвороб сходів є актуальним, що й зумовило мету досліджень.

Методика досліджень. Дослідження проводили у 2009—2012 рр. в лабораторії аналітичної хімії пестицидів Інституту захисту рослин НААН в комплексі з відділом захисту рослин від шкідників та хвороб Національного наукового центру «Інститут землеробства НААН». Вирощували люпин жовтий сорту Обрій. Об’єктами досліджень були комбіновані препарати: Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (карбоксин, 500 г/л + тирам, 500 г/л), Максим Стар 025 FS, т.к.с. (флудиоксоніл, 18,7 г/л + ципроконазол, 6,25 г/л), Ламардор 400 FS, т.к.с. (тебуконазол, 150 г/л

+ протіоконазол, 250 г/л), Дивіденд Стар 036 FS, т.к.с. (дифеноконазол, 30 г/л + ципроконазол, 6,25 г/л), Кінто Дуо, к.с. (тритіконазол, 20 г/л + прохлораз, 60 г/л). Визначення вмісту фунгіцидів в рослинах проводили з використанням фізико-хімічних методів аналізу за методиками, офіційно затвердженими Міністерством екології та природних ресурсів України, та методиками, розробленими в лабораторії аналітичної хімії пестицидів. Активність пероксидази визначали колориметричним, каталази — титриметричним методами через 10, 14, 20, 30 діб після сівби [8].

Результати досліджень. На сьогодні асортимент фунгіцидів включає сполуки контактного та системного механізму дії, що належать до різних хімічних класів. Кожний пестицид має свою будову молекули, що зумовлює його фізико-хімічні і токсикологічні властивості, які важко оцінити за одним критерієм. Інтегральним показником властивостей сполуки є дипольний момент (μ), який визначали методом тонкошарової хроматографії. Досліджувані фунгіциди належать до малополярних сполук з μ від 2 до 6 Дебай (табл. 1).

Результати досліджень свідчать, що вміст фунгіцидів в рослинах люпину протягом вегетаційного періоду залежить як від фізико-хімічних властивостей сполук, так і норми їх застосування, що зумов-

1. Вміст фунгіцидів в рослинах люпину за протруювання насіння (Київська обл., ННЦ «ІЗ НААН», сорт Обрій, 2008—2010 рр.)

Препарат, кг, л/т діюча речовина, кг/т (норма витрати)	$\mu \pm 0,05Д$	Вміст мг/кг на ... добу після сівби (фенофаза)				
		10 (сходли)	14 (1–2 листків)	20 (3–4 листків)	30 (7–8 листків)	40 (стеблуння)
<i>Вітавакс 200 ФФ, в.с.к.</i> (2,5) карбоксин (0,5) тирам (0,5)	3,00 3,34	1,10 0,92	0,89 0,72	0,66 0,50	0,40 0,28	0,24 0,15
<i>Ламардор 400 FS, т.к.с.</i> (0,2) протіоконазол, (0,050) тебуконазол (0,030)	4,45 4,30	0,92 0,35	0,69 0,28	0,46 0,19	0,23 0,11	0,11 0,06
<i>Максим Стар 025 FS, т.к.с.</i> (2,0) флудиоксоніл (0,038) ципроконазол (0,013)	3,28 4,43	0,30 0,40	0,23 0,30	0,16 0,20	0,09 0,10	0,03 0,05
<i>Дивіденд Стар 036FS, т.к.с.</i> (1,5) ципроконазол (0,009) дифеноконазол (0,045)	4,43 4,65	0,28 0,58	0,21 0,41	0,14 0,24	0,07 0,10	0,03 0,04
<i>Кінто Дуо к.с.</i> (2,0) прохлораз (0,120) тритіконазол (0,040)	4,75 4,90	1,80 0,68	1,20 0,49	0,66 0,30	0,24 0,14	0,09 0,06

лює початкову кількість (вихідний токсичний потенціал) пестициду. Близькі за полярністю карбоксин і тирам, які застосовувались з нормою витрати 0,5 кг/т за діючою речовиною, виявляли в рослинах до фази стеблуння і їх кількість за цей час зменшилася в 4,5 та 6 разів, відповідно. До фази стеблуння виявляли в рослинах і сполуки з класу триазолів (ципроконазол, тебуконазол, протіоконазол), які застосовувались із значно меншими нормами витрати (0,009; 0,030; 0,050 кг/т відповідно) — їх кількість зменшилася в 6–9 разів. Кількість більш полярних прохлоразу та тритіконазолу, які застосовували з нормою витрат 0,12 кг/т та 0,04 кг/т, відповідно, зменшилася в середньому в 10–20 разів за цей же період. Отже, при зростанні полярності сполук зменшення їх вмісту відбувається з більшою швидкістю.

На фоні такого пестицидного навантаження спостерігали диференційовану чутливість ензиматичних систем антиоксидантного захисту (каталази, пероксидази) стосовно досліджуваних фунгіцидів. В 10-денних сходах люпину найвищою активність пероксидази була у варіантах із застосуванням комбінованих препаратів на основі триазолу: Кінто Дуо, Дивіденд Стар та Ламардор — 9%, 13% та 17% до контролю, відповідно (табл. 2). До фази 3–4-х листків вміст ферменту в рослинах за варіантами зростав в середньому у 1,2–1,4 раза. До 30-ї доби (фаза 7–8 листків) активність пероксидази в усіх варіантах дещо знижується, однак перевищує відповідний показник контролю на 11–43%. Отже, обробка насіння досліджуваними фунгіцидами утримує рівень пероксидази на достатньо високому рівні впродовж 20–30 діб (до фази 7–8 листків), що дає змогу рослинам захиститись від хвороб на початкових етапах розвитку.

Зміна активності каталази під впливом досліджуваних фунгіцидів відбувалась за хвильовим процесом (табл. 3). При застосуванні комбінації тритіконазолу з менш полярним прохлоразом (препарат Кінто Дуо) каталазна активність за відносно високого вмісту діючих речовин на 10-ту добу перевищувала контрольний показник на 29%, а починаючи з 14-ї доби — зменшувалася вдвічі. Аналогічні закономірності динаміки активності ферменту спостерігаються у варіантах із застосуванням препаратів Вітавакс 200 ФФ та Ламардор 400 FS. При застосуванні малополярного ципроконазолу у комбінації з менш полярним флудиоксонілом (препарат Максим Стар) або з близьким за полярністю дифеноконазолом (препарат Дивіденд Стар) каталазна активність до 30-ї доби наближається до рівня контролю. Коливальні характеристики каталазної активності можна пояснити формуванням адаптаційних механізмів для підтримки гомеостазу рослинного організму в умовах дії фунгіцидів.

Це підтверджує закономірність: зміна каталазної активності на етапах онтогенезу обернено пропорційна пероксидазній активності.

2. Вплив фунгіцидів на активність пероксидази в рослинах люпину за протруєння насіння (Київська обл., ННЦ «ІЗ НААН», сорт Обрій, 2009—2010 рр.)

Варіант	Активність пероксидази на ... добу після сівки (фенофаза)											
	10 (сходи)		14 (1—2 листків)		20 (3—4 листків)		30 (7—8 листків)					
	мкМоль*	% до контр.	мкМоль	% до контр.	мкМоль	% до контр.	мкМоль	% до контр.				
1. Контроль (без обробки)	194,4±9,5	100	463,2±15,6	100	312,6±10,5	100	356,3±13,5	100				
2. Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. 2,5 л/т	203,7±10,0	105	583,4±20,2	126	421,2±18,7	135	395,2±15,6	111				
3. Максим Стар 025 FS, т.к.с. 2,0 л/т	168,8±13,5	87	532,5±14,3	115	589,7±20,5	189	402,6±25,4	113				
4. Ламардор 400 FS, т.к.с. 0,2 л/т	227,0±12,5	117	564,8±16,1	122	440,0±25,1	141	480,6±18,3	135				
5. Дивіденд Стар 036 FS, т.к.с. 1,5 л/т	219,2±11,5	113	514,0±13,2	111	405,6±16,8	130	409,4±17,9	115				
6. Кінто Дуо, к.с. 2,0 л/т	211,5±11,1	109	546,3±15,0	118	630,2±24,6	202	413,0±16,0	116				

Примітка. * — мкМоль гваяколу/г сирової речовини, хв

3. Вплив фунгіцидів на активність каталази в рослинних лопину за протруєння насіння (Київська обл., ННЦ «ІЗ НААН», сорт Обрій, 2009–2010 рр.)

Варіант	Активність каталази на ... добу після сівби (фенофаза)											
	10 (сходи)		14 (1–2 листків)		20 (3–4 листків)		30 (7–8 листків)					
	мкМоль*	% до контр.	мкМоль	% до контр.	мкМоль	% до контр.	мкМоль	% до контр.				
1. Контроль (без обробки)	350,2±18,6	100	200,0±18,5	100	188,5±15,8	100	240,2±18,9	100				
2. Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. 2,5 л/т	255,6±20,0	73	228,3±17,6	114	129,7±15,0	69	283,2±19,3	118				
3. Максим Стар 025 FS, т.к.с. 2,0 л/т	241,5±15,6	69	333,6±25,8	90	255,7±22,6	136	264,0±17,5	110				
4. Ламардор 400 FS, т.к.с. 0,2 л/т	304,1±17,6	87	122,2±18,1	61	94,3±17,2	50	192,2±19,7	83				
5. Дивіленд Стар 036 FS, т.к.с. 1,5 л/т	511,0±14,9	146	270,3±20,3	135	340,3±25,2	120	172,8±14,6	72				
6. Кінто Дуо, к.с. 2,0 л/т	451,5±22,5	129	116,7±22,4	58	114,7±14,8	61	132,1±13,2	55				

Примітка. * — мкМоль розкладеного перекису водню/г сирової речовини, хв

Подібні зміни активності пероксидази і каталази пояснюються тим, що їх функціонування пов'язане з перекисом водню, вміст якого контролюють обидва ферменти. До фази 7—8 листків, коли вміст фунгіцидів мінімальний, активність ферментів наближається до рівня контролю, що пов'язано з відновленням рослинного організму. Відхилення в активності пероксидази і каталази може бути використано не тільки для характеристики фізіологічного стану рослин, але й для оцінки впливу регуляторів росту, погодних умов і дає змогу припустити, що вплив фунгіцидів є стресовим фактором, який запускає розвиток захисних адаптивних реакцій рослин.

ВИСНОВКИ

Застосування системних фунгіцидів з класу триазолів для захисту сходів люпину є стресовим фактором для рослин і стимулює зростання активності пероксидази та коливання каталазної активності. Зміна активності оксидоредуктазних ферментів свідчить про розвиток захисних адаптивних реакцій рослин. Обробка насіння малополярними фунгіцидами утримує рівень пероксидази в проростках на достатньо високому рівні протягом 20—30-ти діб, що підвищує їх стійкість проти хвороб на початкових етапах розвитку.

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. Бублик Л.І. Екотоксикологічний моніторинг пестицидів в агроценозах / Л.І. Бублик // Інтегрований захист рослин на початку ХХІ століття : матеріали Міжнар. наук.-практ. конференції, 1—5 лист. 2004 р. — К.: Колобіг, 2004. — С. 571—580.
2. Горовой Л.Ф. Индуцированная устойчивость и разработка препаратов нового поколения для защиты растений / Л.Ф. Горовой // Інтегрований захист рослин на початку ХХІ століття: матеріали Міжнародної науково-практ. конфер. — К.: Колобіг, 2004. — С. 161—169.
3. Грицаєнко З.М. Активність окисно-відновних ферментів в рослинах озимої пшениці після різних попередників при застосуванні хімічних та біологічних препаратів / З.М. Грицаєнко, І.Б. Леонтюк // Вісник УДАУ. — Умань. — 2006. — № 1—2. — С. 9—13.
4. Колупаев Ю.Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции / Ю.Е. Колупаев // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія. — 2007. — Вип. 3 (12). — С. 6—26.
5. Корнейчук Н.С. Грибные болезни люпинов: Монография / Н.С. Корнейчук. — К.: Колобіг, 2010. — 376 с.
6. Люпин (*Lupinus L.*) / [С.В. Пида, С.П. Машковська, І.П. Григорюк, Б.Є. Якубенко]. — К.: Логос, 2004. — 42 с.
7. Минабаев Ф.В. Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе / Минабаев

ев Ф.В., Гордон Х.Л. // Физиология растений. — 2003. — Т. 50. — № 3. — С. 459—464.

8. Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений / Х.Н. Починок. — К.: Наукова думка, 1976. — 336 с.

9. Прусакова Л.Д. Применение производных триазола в растениеводстве / Л.Д. Прусакова, С.И. Чижова // Агрохимия. — 1998. — № 10. — С. 37—44.

10. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция / Ф.М. Шакирова. — Уфа: Гилем, 2001. — 160 с.

11. Fletcher R.A. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants / R.A. Fletcher, A. Gilley, T.D. Davis [et al.] // Horticultural Review. — 2000. — Vol. 24. — P. 55—138.

12. Garcia P.C. The role of fungicides in the physiology of higher plants: implications for defense responses / P.C. Garcia, R.M. Rivero, J.M. Ruiz, L. Romero // Botanical Review. — 2003. — Vol. 69. — Issue 2 — P. 162—172.

13. Venacio W.S. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants / W.S. Venacio, M.A. Tavares Rodrigues, E. Begliomini // UEPG Ci. Exatas Terra, Agr. Sci. Eng., Ponta Grossa. — 2003. — Vol. 9. — Issue 3. — P. 59—68.

Балюх О.В. Влияние протравливания семян фунгицидами на активность оксидоредуктазных ферментов в растениях люпина

Исследовано влияние протравливания семян фунгицидами на активность пероксидазы и каталазы в растениях люпина. Применение малополярных фунгицидов удерживает уровень пероксидазы в проростках на достаточно высоком уровне в течение 20—30 суток, что обеспечивает защиту растений от болезней на начальных этапах развития. Рост пероксидазной активности и соответствующие изменения активности каталазы могут свидетельствовать о развитии защитных адаптивных реакций растений.

Balyuh O. Effect of seed treatment by fungicides on the activity of oxidoreductases enzymes in lupine

The activity of peroxidase and catalase by the influence of seed treatment by fungicides in lupine it was investigated. The use of low-polar fungicides, was keeping the peroxidase in seedlings at a high level for 20—30 days, which protects plants from disease in the early stages of development. Growth of peroxidase activity and the corresponding changes in the activity of catalase may indicate the development of protective adaptive responses of plants.