

8. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Практик. пособие / Под ред. Н.С. Егорова. – 2-е изд. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. – 215 с.
9. Берестецкий О.О. Простой метод выявления фитотоксичных речовин, утворюваних мікроорганізмами / Берестецкий О.О. // Мікробіол. журн. – 1972. – Т. 34, – №6. – С. 798-799.
10. Erdey L. Colorimetric definition of small quantity of phosphates / Erdey L., Fleps V., Bodor E. // Acta chimica academiae scientiarum Hungaricae. – 1954. – Vol. 5, №1. – S.65-80.
11. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / [Пименова М.Н., Гречушкина Н.Н., Азова Л.Г. и др.]; под ред. Н.С. Егорова. – [3-е изд.]. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – С. 117-129.
12. Насіння цукрових буряків. Методи визначення схожості, одноростковості та доброякісності: ДСТУ 2292-93 (ГОСТ 22617.2-94). – [Чинний від 1996-01-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 1996. – 11 с. – (Національний стандарт України).
13. Производство и применение сухих бактериальных удобрений в СССР / [Ю.С. Бородулина, С.П. Самсонова, Е.А. Крончауз и др.] – М., 1972. – 90 с.

Аннотація

Волкогон В.В., Токмакова, Л.М., Пищур И.Н., Саблук В.Т., Грищенко О.Н.

Эффективность совместной обработки семян сахарной свеклы Полимиксобактерином, инсектицидом Семафор 20 ST и фунгицидом Превикур 607 СЛ

Показано возможность применения Полимиксобактерина совместно с протравителями семян сахарной свеклы инсектицидом Семафор 20 ST и фунгицидом Превикур 607 СЛ. Установлено, что указанные протравители не влияют отрицательно на жизнеспособность и функциональную активность бактерий Paenibacillus polymyxa KB, биоагента микробного препарата Полимиксобактерина.

Ключевые слова: протравители, микробные препараты, сахарная свекла

Annotation

Volkogon V., Tokmakova L., Pyschur I., Sabluk V., Gryschenko O.

The effectiveness of combined treatment of sugar beet seeds with polimikrobakterin, insecticide Semaphore 20 ST and fungicide Previkur 607 SL

The possibility of application of polimiksobakterin together with sugar beet seed protectants insecticide Semaphore 20 ST and fungicide Previkur 607 SL was shown. It was established that the named protectants did not produce negative any influence on the viability and functional activity of the bacteria Paenibacillus polymyxa KB, bio agent of the microbic preparation polimiksobakterin.

УДК:543.544:632.95+582.683.2

І.В. КРУК, аспірант

О.Д. ЧЕРГІНА, кандидат с.-г. наук

Інститут захисту рослин НААН

ТОНКОШАРОВА ХРОМАТОГРАФІЯ (ТШХ) ЯК МЕТОД КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ПРОТРУЮВАННЯ ПЕСТИЦИДАМИ НАСІННЯ ТА ТОКСИКАЦІЇ СХОДІВ РІПАКУ

За алгоритмом систематичного аналізу різнополярних пестицидів розроблено методику одночасного визначення протруйників насіння ріпаку різних хімічних класів та призначення: інсектицидів – клотіанідину і бета-цифлутрину (препарат Модесто, 48% т.к.с.) та фунгіциду – тираму. Доведено, що ТШХ є універсальним експрес-методом, що дозволяє контролювати якість протруєння насіння та токсикацію сходів з високою чутливістю та точністю.

Ключові слова: ТШХ, протруйники, контроль, токсикація сходів, якість, ріпак

Вступ. Застосування пестицидів було і залишається одним з основних прийомів інтенсифікації сільськогосподарського виробництва, тобто одним із способів управління якістю агроценозів, який враховує економічну доцільність і екологічну безпеку [1-2]. Питання безпеки надійно вирішується нормуванням вмісту залишків пестицидів у природних середовищах, продуктах харчування та відповідною регламентацією хімічних обробок сільськогосподарських культур на основі даних екотоксикологічного моніторингу пестицидів в агроценозах. Достовірність результатів моніторингу залежить, в певній мірі, від методу, за яким отримана інформація. Асортимент пестицидів поповнюється новими сполуками різних органічних класів, що застосовуються у різних комбінаціях та технологіях. Дотепер найбільш поширеним прийомом є протруювання насіння препаратами різного функціонального призначення, що забезпечує захист сходів та зменшення пестицидного навантаження. Тому залишається актуальною та невирішеною проблема аналізу сумішей пестицидів, склад яких лімітується технологією вирощування культури [3-5].

Мета досліджень полягала в розробці методу контролю якості протруювання насіння та токсикації сходів ріпаку при одночасному застосуванні інсектицидів клотіанідину і бета-цифлутрину та фунгіциду тираму.

Матеріали та методика досліджень. Фізико-хімічний метод аналізу - тонкошарова хроматографія, оптимальні умови визначення пестицидів (вилучення, очистки, якісного та кількісного визначення) обрано в залежності від їх полярності (за величиною дипольних моментів сполук) та властивостей матриць (за вмістом жироподібних сполук) за алгоритмом систематичного аналізу пестицидів в агроценозах [6,7].

Протруєне насіння. Наважку 0,2 г протруєного насіння ріпаку поміщають у бюкс з щільно притертою кришкою, заливають 1 мл ацетону і струшують протягом однієї години. Екстракт після відстоювання переносять у мірну пробірку на 5 мл, промивають пробу ацетоном, доводячи об'єм до 1 мл. Аліквоту (0,1-5,0 мкл) наносять на хроматографічну пластинку.

Умови хроматографування. Для тонкошарової хроматографії застосовують пластинки з силікагелем КСК (типу Sorbfil або Silufol-УФ254). Готують стандартний розчин, який містить 1,0 мг/мл клотіанідину, 0,20 мг/мл бета-цифлутрину, 0,24 мг/мл тираму. На дві паралельні пластинки на відстані 20 мм від нижнього краю на лінії старту наносять: на першу 0,5; 1,0 і 2,0 мкл екстракту та поруч стільки ж стандартного розчину, що містить відповідно 0,5; 1,0; 2,0 мкг клотіанідину, 0,1; 0,2; 0,4 мкг бета-цифлутрину і 0,12; 0,24; 0,48 мкг тираму; на другу 2,0; 3,0 і 5,0 мкл екстракту та поруч стільки ж стандартного розчину, що містить відповідно 2,0; 3,0; 5,0 мкг клотіанідину, 0,4; 0,6; 1,0 мкг бета-цифлутрину і 0,48; 0,52; 1,20 мкг тираму. Хроматографують пластинку в рухомій фазі гексан-ацетон (3:2 об/об). Після того, як фронт розчинника підніметься на 10 см, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі до повного видалення розчинника. Пластинки поміщають під хроматоскоп (УФ- 254), відмічають зони локалізації пестицидів олівцем, потім обприскують із пульверизатора специфічним реагентом. Ідентифікацію проводять за величиною R_f , кількісне визначення - за площами хроматографічних зон проби і стандартних розчинів за загально прийнятою формулою :

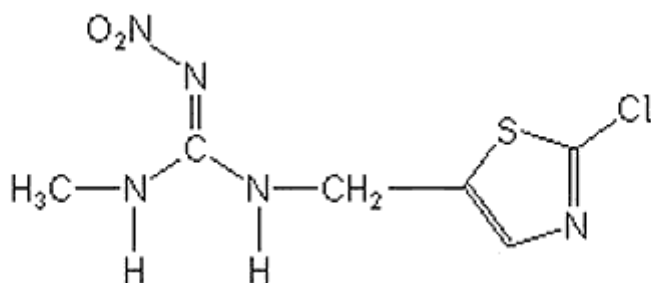
$$X = \frac{C_{cm} V_2 S_{np}}{S_{cm} V_1 P}, \quad (1)$$

де: C_{cm} - кількість в стандартному розчині, мкг;
 S_{cm} - площа плями в стандартному розчині, мм²;
 S_{np} - площа плями в досліджуваному екстракті, мм² ;
 V_1 - об'єм екстракту, нанесеного на пластинку, мкл;
 V_2 - загальний об'єм екстракту після концентрування, мл;
P - наважка проби, що аналізується, г.

Зелена маса. Наважку рослин ріпаку 10 г подрібнюють і поміщають в конічну колбу зі шліфом на 500 мл, приливають 20 мл 20% водного розчину ацетону, закривають скляною пробкою і струшують протягом 30 хвилин. Екстракт зливають в круглодонну колбу на 250 мл крізь лійку з паперовим фільтром та шаром безводного сульфату натрію (5-7 г). Повторюють операцію. Екстракти об'єднують, переносять в ділільну лійку та екстрагують пестициди гексаном (3 x 10 мл). Концентрують на ротаційному випарнику до об'єму 0,2-0,5 мл, упарюють досуха на повітрі. Залишок переносять кількісно в пробірку і доводять об'єм до 1 мл ацетоном. Аліквоту (10-50 мкл) наносять на пластинку. Умови хроматографування як при аналізі насіння.

Результати досліджень. За алгоритмом систематичного аналізу різнополярних пестицидів, що враховує властивості матриць та фізико-хімічні властивості пестицидів за полярністю, підібрані оптимальні умови одночасного визначення (спосіб екстракції, очистки екстрактів, розділення, ідентифікації та кількісного визначення) методом ТШХ протруйників насіння озимого ріпаку - клотіанідину, бета-цифлутрину та тираму.

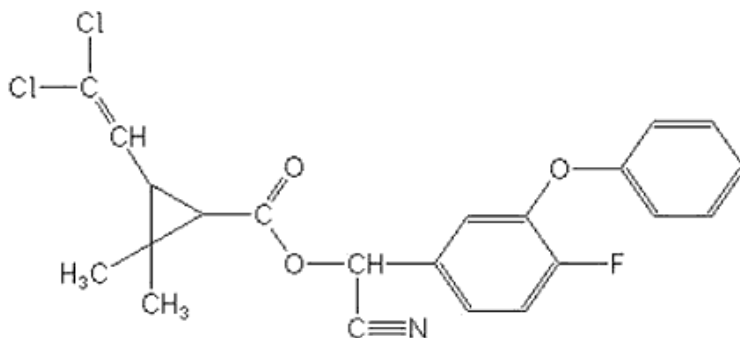
Клотіанідин містить у структурі тiazоловий цикл і його відносять до похідних гуанідину:



М.м. 249,7

Клотіанідин — малополярна сполука (величина дипольного моменту $\mu=5,43$ Д, розчинність у воді – 0, 327 г/л) має широкий спектр і забезпечує тривалий період захисної дії. Завдяки системним властивостям, інсектицид розподіляється по рослині з коренів до наземної частини.

Бета-цифлутрин належить до класу піретроїдів:

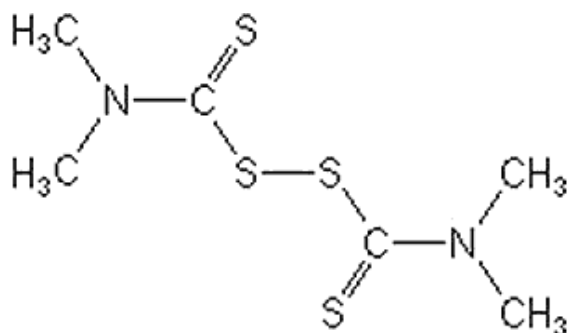


М.м.434,29

Це неполярна сполука (величина дипольного моменту $\mu=1,13$ Д, розчинність у воді – 0, 000002 г/л) контактної дії. Ефективний інсектицидний протруйник насіння озимого ріпаку контактної-системної дії Модесто, 48% т.к.с – це комбінація цих двох інсектицидів (клотіанідину, 400 г/л та бета-цифлутрину, 80 г/л), що забезпечують надійний захист посівів від рапсової блішки до стадії 2-х справжніх листків. Норма витрати 12,5 л/т . Препаративна форма препарату Модесто (текучий концентрат суспензії) сприяє надійному утриманню діючих речовин на насінні і таким чином – максимальному використанню їх за призначенням без забруднення навколишнього середовища.

Для знешкодження грибкових захворювань при протруюванні насіння ріпаку до препарату Модесто додається фунгіцид тирам, з нормою витрати 12 кг/т.

Структурна формула:



М.м.240.43

Тирам відноситься до малополярних сполук ($\mu=3,35\text{Д}$, при 20°C розчинність у воді $0,016\text{ г/л}$) характеризується контактною дією і забезпечує захист від збудників, які знаходяться на поверхні насіння та у ґрунті, що контактує з насінною. Тобто полярність сполук зумовлює не тільки їх фізико-хімічні, але й токсиколого-гігієнічні властивості та механізм дії. В залежності від цілей та завдань досліджень полярність пестицидів є визначальним при виборі методу та умов аналізу їх в об'єктах агроценозів.

Основним інструментом аналітичної хімії пестицидів продовжують залишатися хроматографічні методи (ТШХ, ГРХ, ВЕРХ). ТШХ є зараз самим розповсюдженим методом моніторингу пестицидів в агроценозах. Крім того, ТШХ - ефективний засіб для підтвердження результатів, які отримані за допомогою ГРХ і ВЕРХ при визначенні залишкових кількостей в харчових продуктах, кормах та навколишньому середовищі. Цьому сприяють і останні удосконалені методи, пов'язані з впровадженням різноманітного обладнання і пристроїв для нанесення проб на хроматографічні пластинки, денситометричною оцінкою хроматограм і використанням більш ефективних сорбентів, різних способів очистки екстрактів.

Швидкість руху сполук в тонкому шарі адсорбенту, що характеризується величиною R_f , залежить від дипольного моменту сполуки $|\mu|$ та діелектричної проникності рухомої фази $|\epsilon|$, і описується рівнянням [8,9]:

$$R_f = V/U = S_1t/S_2t = (\epsilon - \mu)^{1/2} / K, \quad (2)$$

де V – швидкість руху речовини; U – швидкість руху елюенту; S – відстань від старту до центру хроматографічної зони; S_2 - відстань від старту до фронту елюенту; t – час хроматографування; K – коефіцієнт адсорбції чи розподілу, що залежить від хімічної природи досліджуваної сполуки та умов хроматографування; μ – дипольний момент; ϵ – діелектрична проникність рухомої фази, розрахована за правилом адитивності.

В рухомій фазі (табл.) гексан-ацетон (3:2, об/об, $\epsilon=9,65$) величина R_f дорівнює: клотіанідину $0,32\pm 0,05$, тиразу $0,43\pm 0,05$, бета-цифлутрину $0,87\pm 0,05$, а у фазі (4:1, об/об, $\epsilon=5,77$) відповідно $0,23$; $0,43$ та $0,87$. Проявляючі реагенти є допоміжним елементом в ідентифікації сполук. Для галогенвмісних пестицидів, зокрема бета-цифлутрину, застосовували реагент на основі нітрату срібла з подальшим УФ-опроміненням хроматограми. При цьому утворюються темні плями відновленого срібла в зонах локалізації сполук. Проявлення пестицидів, що містять донорні атоми сірки, азоту, кисню, базується на осадженні срібла у вигляді малорозчинної солі, в якій катіон – комплекс срібла з нейтральною органічною молекулою, а аніон – бромфеноловий синій. Клотіанідин та тирам проявляються у вигляді плям синього кольору. Специфічним реагентом для визначення тиразу є розчин Cu^{+2} , з яким тирам створює комплекс жовто-зеленого кольору. Мінімальна кількість, що детектується, $0,05 - 0,10\text{ мкг}$ діючої речовини, середнє значення визначення більше 80% ; довірчий інтервал ($P=0,95$; $n=15$) до 10% .

Умови та метрологічні параметри визначення методом ТШХ протруйників насіння в рослинах озимого ріпаку

Пестицид	$\mu\pm 0,05Д$	$R_f \pm 0,05$		Межа визначення, мг/кг	Середнє значення, %	Стандартне відхилення, %	Довірчий інтервал (P=0,95, n=15)
		I $\varepsilon=5,77$	II $\varepsilon=9,65$				
Бета-цифлутрин	1,13	0,56	0,87	0,10	79,9	12,7	11,2
Тирам	3,34	0,26	0,43	0,05	82,0	8,0	7,0
Клотіанідин	5,43	0,23	0,32	0,05	85,2	8,4	7,5

Примітка: Рухома фаза: I - гексан-ацетон (4:1 об/об); II - гексан-ацетон (3:2 об/об)

Висновки. ТШХ є універсальним експрес-методом, що дозволяє контролювати якість протруювання насіння та токсикацію сходів ріпаку інсектицидами – клотіанідин і бета-цифлутрин (препарат Модесто, 48% т.к.с.) та фунгіцидом – тирам з високою чутливістю та точністю.

Список використаних літературних джерел

1. Трибель С.О. Захист рослин : сьогодні і завтра / С.О. Трибель // Захист рослин. – 2000. – № 2. – С. 24.
2. Бублик Л.І. Екологічні та економічні аспекти протруєння насіння зернових культур/ Л.І.Бублик, С.В. Ретьман, О.В.Шевчук // Вісник аграрної науки. – 2003. – № 1. – С. 33-37.
3. Gunter F.A., Blinn R.C. Analysis of insecticides and acaricides. – N.Y., London: Interscience, 1995. – 215 p.
4. Бублик Л.І. Методи моніторингу забруднення пестицидами ґрунту агроценозів /Л.І.Бублик, І.В. Крук, Л.С.Крук // Захист і карантин рослин: міжвідомчий тематичний науковий збірник. – 2008. – Вип. 54. – С.87-97.
5. Федоренко Н.В. Оцінка якості протруєння сільськогосподарських культур методом тонкошарової хроматографії / Федоренко Н.В., Бублик Л.І., Черв'якова Л.М., Панченко Т.П., Гаврилюк Л.Л. // Праці та повідомлення третьої міжнародної конференції «Чистота довкілля в нашому місті», 2 – 5 жовтня 2007р., м. Севастополь. – Севастополь, 2007. – С.31
6. Черв'якова Л. М. Алгоритм систематичного аналізу протруйників насіння цукрових буряків в об'єктах агроценозу / Л. М. Черв'якова // Карантин і захист рослин. – 2008. – № 12. – С. 25-27.
7. Бублик Л.І. Транслокація протруйників насіння цукрових буряків в системі «ґрунт-рослина» / Бублик Л.І., Черв'якова Л.М. // Захист і карантин рослин. – 2008. – № 54. – С. 79. – 86
8. Бублик Л.І Залежність фізико-хімічних та екотоксикологічних властивостей пестицидів від їх полярності // Захист і карантин рослин. – 2004. – Вип. 50. – С. 252-257.
9. Кавецький В.Н. Екотоксикологічна властивість пестицидів як функція фізико-хімічної будови їх молекул / В.М. Кавецький, Л.С.Крук, Л.І.Бублик // Агроекологія і біотехнологія, К., 1998. – Вип. 2. – С.85-103.

Анотація

Крук І.В., Чергіна Е.Д.

Тонкослойная хроматография как метод контроля качества протравливания пестицидами семян и токсикации всходов рапса.

Согласно алгоритма систематического анализа разнополярных пестицидов разработана методика одновременного определения протравителей семян рапса разных химических классов и назначений: инсектицидов – клотианидина, бета-цифлутрина (препарат Модесто, 48% т.к.с.) и фунгицида – тирама. Доказано, что тонкослойная

хроматография является универсальным экспресс-методом, который позволяет контролировать качество протравливания семян и токсикацию всходов с высокой чувствительностью и точностью.

Ключевые слова: ТСХ, протравители, контроль, токсикация всходов, качество, рапс

Annotation

Kruk I.V., Chergina H.D.

Thin-layer chromatography as a method of quality control of the seeds pesticides treatment and intoxication of the rape seedlings.

According to the algorithm of the systematic analysis of the bipolar pesticides the method was developed for the simultaneous determination of the seed treatment pesticides of the different chemical classes and appointments: insecticides - clothianidin, beta-cyfluthrin (Modesto, 48% FS) and fungicide-thiram. It is proved that the thin-layer chromatography is a universal rapid method which allows to control the quality of seed treatment and seedling intoxication with high sensitivity and accuracy.

Keywords: *TLC, disinfectants, control, intoxication seedling, quality, rape*

УДК 632.51:631.51.01

О.М. КУРДЮКОВА, кандидат біологічних наук, доцент

Г.В. ЛЕВЕНЦОВА, В.М. ПОЛЬОВА

Луганський національний університет ім. Т. Шевченка

ФОРМУВАННЯ БУР'ЯНЕВОГО КОМПОНЕНТА АГРОФІТОЦЕНОЗІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ОБРОБІТКУ ҐРУНТУ

Наводяться дані багаторічних польових дослідів про видовий склад та динаміку формування бур'янового компонента посівів соняшника, чорних парів та пшениці під впливом оранки, мілкого, «нульового» та комбінованого обробітку ґрунту.

Ключові слова: *обробіток ґрунту, бур'яни, видовий склад, посіви.*

Вступ. Останніми роками у Степу України при виробництві зерна та іншої продукції рослинництва особливої актуальності набувають питання економічно обґрунтованого використання матеріальних і енергетичних ресурсів.

Численними дослідями доведено, що максимальна частка їх відноситься на проведення обробітку ґрунту [3 – 6, 9, 10].

Тому при виборі тих чи інших культур і способів обробітку ґрунту під них не рідко виходять саме з економічних міркувань. Зокрема зменшення прибутковості від виробництва ряду зернових, кормових і зернобобових культур призвело до однобокого збільшення частки соняшника та пшениці озимої в структурі посівів, що нерідко не дозволяло досягти сталої продуктивності ні зернових культур, ні соняшника. Однією з причин цього є, очевидно, спрощена система обробітку ґрунту, яка призвела до зменшення родючості ґрунту й надзвичайно високої потенційної засміченості ґрунту та актуальної забур'яненості посівів. Для зменшення витрат на виробництво зернових і технічних культур все частіше в системі основного обробітку ґрунту використовують мілкий та «нульовий» обробіток його [3-6,9,10].

Що ж до економічної доцільності їх проведення під різні культури та впливу на формування бур'янового компонента агрофітоценозів у зонах і підзонах України єдиної думки поки що немає, дані різних авторів та наукових установ заперечливі, нерідко взаємовиключні.

У зв'язку з цим нами впродовж 2004 – 2011 рр. проводилося вивчення впливу різних систем обробітку ґрунту у ланці сівозміни соняшник – чорний пар – пшениця озима на деякі біологічні особливості однорічних бур'янів та заходи їх контролювання у системі основного обробітку ґрунту.