

С.П. Ожерєдов, С.І. Співак, А.І. Ємець, Я.Б. Блюм

Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ

ВПРОВАДЖЕННЯ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ СИСТЕМИ БОРОТЬБИ ЗІ ЗЛАКОВИМИ БУР'ЯНАМИ НА ПОСІВАХ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР: СКРИНІНГ ФІТОТОКСИЧНОСТІ ГРАМІНІЦИДІВ ТА ЇХ КОМПОЗИЦІЙ З ІНШИМИ ГЕРБІЦИДАМИ



Проведено скринінг фітотоксичності композицій грамініцидів з гербіцидами інших класів з метою подальшого застосування при вирощуванні озимої пшениці та інших зернових колосових культур. Показано, що композиція гербіцидного препарату Аксіал з інсектицидним препаратом Діазол (діазинон), є адитивною. Продемонстровано, що обробка препаратом Аксіал ініціює процеси запрограмованої клітинної загибелі (апоптоз) в меристематичних клітинах коренів вівса (модель однорічних злакових бур'янів), тоді як рослини пшениці є достатньо нечутливими до дії цього препарату. На підставі отриманих результатів запропоновано та передано для впровадження нові високо-ефективні гербіцидні системи боротьби зі злаковими бур'янами у посівах зернових культур.

Ключові слова: зернові культури, злакові бур'яни, гербіциди, грамініциди, інсектициди, апоптоз.

Одним із найважливіших чинників підвищення врожайності у сучасному рослинництві є впровадження ефективних технологій боротьби з бур'янами у посівах різних сільськогосподарських культур [1, 2]. Як один із важливих напрямів вирішення цієї проблеми є розробка і застосування синергічних композицій різних типів гербіцидів [3, 4]. Саме тому нами були розроблені технологічні засади застосування синергічних сумішей гербіцидів на основі похідних 2,6-динітроаніліну та таких грамініцидів, як арилоксифеноксипропіонати [5].

При розробці і впровадженні нових композицій гербіцидів слід особливо враховувати той факт, що за умов сучасного ринку продукції рослинництва в Україні особливе місце зай-

має виробництво зерна. Саме тому на чільне місце в технологіях боротьби з бур'янами виходить розробка ефективних систем їх знищення у посівах злакових культур. Серед злакових однією з основних культур у вітчизняному рослинництві є озима пшениця, а домінування зернових культур у сівозмінах у цілому обумовлює високу засміченість посівів злаковими бур'янами. Відповідно, одним з найбільш актуальних питань є пошук, розробка та впровадження високо-ефективних систем боротьби саме зі злаковими бур'янами у посівах зернових колосових культур, зокрема озимої пшениці [6].

Як відомо, ефективність гербіцидних засобів боротьби з бур'янами базується, насамперед, на їх високій селективності, що досягається шляхом ураження певних клітинних мішеней, які, з одного боку, притаманні всім рослинним організмам (ацетил-КоА-карбоксилаза, ацетолак-

татсинтаза, білки фотосистеми I і II та ін.), а з другого — внаслідок еволюційного розходження різняться за чутливістю в межах окремих таксономічних груп рослин [2]. Так, хімічні сполуки, що інгібують ацетолактатсинтазу, використовують як селективні гербіциди у посівах озимих та ярових зернових колосових культур для знищення ряду однорічних та деяких багаторічних дводольних бур'янів, у тому числі осоту рожевого (*Cirsium arvense* L), осоту жовтого (*Sonchus arvensis* L), берізки польової (*Convolvulus arvensis*), поширеного у Степу гірчаку степового (*Acroptilon repens* L) та інших видів [7]. До переліку препаратів, що інгібують активність ацетолактатсинтази, належать похідні сульфонілсечовини, імідозоліони, триазопіримідини та ін. Відомими і добре комерціалізованими в Україні представниками цього типу гербіцидів є Пік (*Syngenta*), діюча речовина просульфурон (сульфонілсечовина) [8] та Дербі (*Syngenta*), де як активний агент використовують суміш флуметсуламу з флурасуламом, що належать до сульфонамідів [2, 9].

Іншою, досить поширеною групою препаратів, які застосовують у посівах зернових культур, є сполуки, що належать до синтетичних регуляторів росту. До них відносяться похідні 2,4-дихлорфенілоцтової кислоти, бензойної кислоти та ін. Представником цієї групи препаратів є Банвел (*Syngenta*), діючою речовиною якого є дікамба [10]. Банвел рекомендовано для застосування у посівах зернових культур та кукурудзи проти однорічних та деяких багаторічних бур'янів [8].

Досить цікавим є також гербіцидний препарат Пріма (*Dow AgroScience*), до складу якого входять дві діючі речовини, що є представниками вже згаданих вище класів сполук: складний 2-етилгексилловий ефір 2,4-Д (похідна 2,4-дихлорфенілоцтової кислоти, регулятор росту) та флурасулам (сульфонамід, інгібітор ацетолактатсинтази). Даний препарат застосовується у посівах зернових культур як селективний гербіцид для боротьби з однорічними та деякими багаторічними дводольними бур'янами,

в тому числі і з стійкими до препаратів 2,4-Д та 2М-4Х (2-метил-4-хлорфеноксоцтова кислота) [11].

На сьогоднішній день найбільш ефективними гербіцидами визнані такі грамініциди, до складу яких входять похідні арилоксифеноксипропіонової кислоти, циклогександіонів або фенілпіразолу. Серед них найперспективнішим препаратом визнано Аксіал (*Syngenta*), що належить до класу фенілпірозолів (діюча речовина піноксаден) [8, 12]. Дія даного препарату полягає у інгібуванні активності ацетил-КоА-карбоксилази, відповідальної за один з етапів синтезу ліпідів, що в кінцевому результаті призводить до загибелі рослин [12, 13]. Відповідно, він може застосовуватись проти широкого спектру важливих видів диких трав, таких, як *Alopecurus myosuroides*, *Apera spica-venti*, *Avena* spp., *Lolium* spp., *Phalaris* spp. and *Setaria* spp [8, 12].

Також досить популярним рішенням при вирощуванні сільськогосподарських культур, зокрема зернових колосових, стало створення пестицидних композицій, до складу яких, крім гербіцидної складової, заради зменшення техногенного навантаження на ґрунт має входити препарат для боротьби зі шкідниками [14]. З цієї точки зору значний інтерес може представляти універсальний несистемний інсектицидний препарат Діазол (Makhteshim-Agan Company, Австралія) із вираженою контактною та кишковою дією, який застосовується для захисту сільськогосподарських посівів від багатьох видів листогризухих та сисних комах (діюча речовина діазинон — інгібітор синтезу холінестерази) [15].

Саме для подальшої практичної реалізації цих результатів було виконано науково-технічний проект «Впровадження високоефективної системи боротьби зі злаковими бур'янами на посівах зернових культур. Розділ 1. Скринінг фітотоксичності грамініцидів та їх композицій з іншими гербіцидами» (№ Держреєстрації 0109 U004231). Метою цього проекту стала розробка, випробування та впровадження високое-

фективних систем боротьби зі злаковими бур'янами на основі піноксадену з використанням гербіцидів інших класів з метою підвищення їх активності та розширення спектру дії для застосування при вирощуванні озимої пшениці та інших зернових колосових культур.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для проведення експериментів були використані такі комерційні гербіцидні препарати: Аксіал (*Syngenta*) в концентрації $1,9 \cdot 10^{-5}$ М за діючою речовиною (д.р.) піноксаденом; Банвел (*Syngenta*) — $7 \cdot 10^{-5} / 3,5 \cdot 10^{-5}$ М за д. р. дікамба; Пік (*Syngenta*) — $6 \cdot 10^{-6} / 3 \cdot 10^{-6}$ М за д.р. просульфуроном; Дербі (*Syngenta*) — д.р. флорасулам + флуметсулам — $5 \cdot 10^{-4} / 3 \cdot 10^{-6}$ М за д. р. флорасуламом; Пріма (*AgroScience*) — д.р. флорасулам + етилгексилловий ефір 2,4-Д — $1,2 \cdot 10^{-4}$ М за етилгексилловим ефіром 2,4-Д; Діазол (*Makhteshim-Agan Company*) — $3,3 \cdot 10^{-4} / 1,65 \cdot 10^{-4}$ М за д.р. діазиноном. Також були випробувані гербіцидні композиції даних препаратів, створені на основі Аксіалу. Для проведення цитологічних досліджень концентрацію препаратів зменшували у 10 разів.

Як модельні об'єкти для визначення гербіцидної активності досліджуваних препаратів та їх комбінацій використовували овес сорту «Загат» (модель злакового бур'яну) та пшеницю сорту «Хуторянка». При проведенні гербіцидних тестів використовували рослини вищезгаданих культур у фазі 2–3-х листків. Обробку об'єктів гербіцидами та їх композиціями здійснювали шляхом занурення надземної частини у розчини згідно схеми досліду на 1 хв при температурі робочого розчину 20 °С. Оцінку ефективності препаратів та їх композицій при проведенні гербіцидного тесту здійснювали за такими біометричними показниками, як ріст рослин та накопичення сухої біомаси їх надземною частиною. Біометричні показники рослин фіксували на 7-му добу після обробки препаратами. Взаємодію препаратів у складі композицій оцінювали за значенням коефіцієнта синергізму (K_c) [16, 17].

Для оцінки впливу тестованих гербіцидів та їх композицій на життєздатність клітин використовували 2–3-х денні проростки вівса та пшениці. Їх насіння пророщували у чашках Петрі на змоченому дистильованою водою фільтрувальному папері при температурі 25 °С. У подальшому проростки переносили у водні розчини, які містили діючі речовини у концентраціях відповідно до схеми досліду та витримували їх в цих умовах протягом доби при температурі 25 °С. Вплив препаратів та їх композицій на тестовані об'єкти оцінювали за такими показниками, як життєздатність та рівень ацидифікації цитоплазми (зміни pH) клітин кореневої меристеми проростків.

Визначення життєздатності клітин здійснювали шляхом подвійного фарбування коренів за допомогою 4',6-діамідино-2-феніліндолу (DAPI) в концентрації 5 мкг/мл (фарбування тотальної ДНК) та пропідіум йодиду в концентрації 25 мкг/мл (фарбування ДНК пошкоджених клітин) протягом 5–10 хв при кімнатній температурі. Для оцінки рівня ацидифікації цитоплазми досліджувані проростки фарбували акридинним оранжевим у концентрації 50 мкг/мл при 25 °С протягом 20 хв [3]. Для моделювання апоптотичних процесів (позитивний контроль) проростки обробляли 0,15 М розчином H_2O_2 [18].

Вивчення отриманого матеріалу та документування результатів досліджень проводили за допомогою конфокального лазерного скануючого мікроскопа LSM 510 META (Carl Zeiss, Німеччина). Статистичну оцінку отриманих результатів здійснювали шляхом обрахунку довірчого інтервалу та відносної похибки з використанням критерію Стьюдента [19]. Досліди проводили у 3-кратній повторності.

Визначення ефективності розроблених композицій за допомогою гербіцидного тесту. Результати тестів з визначення гербіцидної ефективності використаних у роботі препаратів відповідають характеристикам їх виробників стосовно дії цих агрохімічних засобів на злакові бур'яни. Обробка рослин вівса (модель

злакових бур'янів) розчином піноксадену (Аксіал) супроводжувалась інгібуванням їх росту та розвитку, що, в свою чергу, позначилося на продуктивності рослин (за накопиченням сухої біомаси). Так, пригнічення росту рослин вівса у даному варіанті складало 66,1 %, а зниження накопичення сухої біомаси — 43,4 % (див. табл. 1; рис. 1, а: 1, 2 (див. кольорову вклейку)). Ці дані добре підтверджують рекомендації виробника щодо використання Аксіалу проти злакових бур'янів [8]. Інші препарати, за винятком Дербі у концентрації $5,0 \times 10^{-4}$ М (Дербі 1), суттєво не впливали на ріст та розвиток рослин вівса (табл. 1; рис. 1, а). Також було зафіксовано слабку стимулюючу дію препаратів Пік та Діазол на ріст та продуктивність рослин вівса при використанні всіх розглянутих концентраціях (табл. 1; рис. 1, а:

3, 4), а також Дербі у концентрації $3,0 \cdot 10^{-6}$ М (Дербі 2) (табл. 1).

Обробка рослин пшениці Аксіалом призвела до пригнічення росту та продуктивності рослин (рис. 1, б: 2). Так, зниження продуктивності рослин пшениці на 7-му добу після обробки Аксіалом складало близько 11,8 %, а пригнічення їх росту складало близько 19,6 % відносно контролю (табл. 2). Незначний гербіцидний ефект на рослинах пшениці спостерігали також і при застосуванні інших препаратів, за винятком препаратів Банвел у концентрації $3,5 \cdot 10^{-5}$ (Банвел ½) та Діазол у концентрації $3,3 \cdot 10^{-4}$ (табл. 2). Пригнічення росту та зниження продуктивності рослин у даних варіантах не перевищувало значень похибки дослідження. Загалом, активність розглянутих нами комерційних гербіцидів при застосуванні на рослинах пшениці

Таблиця 1

Інгібування росту та зниження сухої біомаси рослин вівса на 7-му добу після обробки комерційними гербіцидами та їх композиціями

Речовина	Пригнічення росту рослин, % від контролю			Зниження накопичення сухої біомаси, % від контролю		
	факт.	очік.	K _c	факт.	очік.	K _c
Аксіал	66,1 ± 7,4			43,4 ± 7,7		
Банвел	10,7 ± 4,7			3 ± 2,6		
Банвел ½	2,9 ± 2,7			15,0 ± 5,8		
Пік	-1,9 ± 2,1			-1,4 ± 1,8		
Пік ½	-8,1 ± 4,1			-6,3 ± 3,6		
Дербі 1	44,8 ± 6,9			26,6 ± 6,1		
Дербі 2	-0,7 ± 1,1			4,4 ± 2,9		
Пріма	11 ± 4,7			18,3 ± 5,8		
Діазол	-2,9 ± 2,5			-8 ± 4,1		
Діазол ½	-1,6 ± 1,8			-7,7 ± 3,8		
Аксіал+Банвел	60,7 ± 7	69,7	0,9	49,4 ± 7,2	45,1	1
Аксіал +Банвел ½	62,9 ± 6,4	67,1	0,9	52,1 ± 7,1	51,9	1
Аксіал+Пік	63,6 ± 8,1	66,1	1	61,2 ± 8,2	43,4	1,4
Аксіал+Пік ½	64,8 ± 7,9	66,1	1	46,8 ± 8,2	43,4	1,1
Аксіал+Дербі 1	63,2 ± 7,6	81,3	0,8	39,4 ± 7,7	58,5	0,7
Аксіал+Дербі 2	60,3 ± 7,4	66,1 3	0,9	44,3 ± 7,5	45,9	1
Аксіал+Пріма	62,9 ± 7,6	69,8	0,9	50,9 ± 7,9	53,7	1
Аксіал+Діазол	63,9 ± 6,7	66,1	1	44,6 ± 6,9	43,4	1
Аксіал+Діазол ½	60 ± 6,7	66,1	0,9	42,9 ± 6,8	43,4	1

та вівса відповідає технічним характеристикам, наданим виробником.

При обробці рослин вівса Аксіалом у композиціях з препаратами, діюча речовина яких належить до синтетичних регуляторів росту, а саме з гербіцидними препаратами Банвел та Пріма, зростання гербіцидного впливу на рослини вівса не спостерігали. За всіма розглянутими показниками ефективність застосування таких типів композицій або залишалась на рівні самого Аксіалу, або ж виявлялась ще нижчою. Коефіцієнти синергізму (K_c) у даних варіантах дослідів склали від 0,9 (за впливом на ростові процеси) до 1 (за впливом на продуктивність рослин), що вказує на слабку антагоністичну взаємодію між піноксаденом та складовими даних гербіцидів (табл. 1).

Схожу залежність простежували і при застосуванні композицій Аксіалу з гербіцидним препаратом Дербі, діюча речовина якого належить до класу сульфонамідів, у всіх досліджуваних концентраціях. Ефект від застосування даної композиції не перевищував очікуваного за обома показниками, а значення K_c для даних варіантів залишались в межах 0,7–1 (табл. 1). Найменш ефективною за наслідками гербіцидної дії на рослини вівса була композиція на основі Аксіалу із додаванням препарату Дербі у концентрації $5 \cdot 10^{-4}$ М (за флуметсуламом). Коефіцієнт синергізму у даному варіанті коливався від 0,7 (пригнічення накопичення сухої біомаси) до 0,8 (пригнічення росту), що вказує на антагонізм між препаратами при їх спільному використанні у даних концентраціях. При зменшенні концентрації Дербі у складі композиції до $3 \cdot 10^{-6}$ М (за флуметсуламом) відбувалося зниження рівня антагонізму між складовими композиції, на що вказує зростання K_c до 1 (табл. 1).

Результати оцінки ефективності Аксіалу у композиції з препаратами класу інгібіторів ацетолактатсинтази виявилися неоднозначними і залежали в першу чергу від того, до якої групи відноситься діюча речовина. Так, при застосуванні Аксіалу в комбінації з препаратом Пік, діючою речовиною якого є також інгі-

бітор ацетолактатсинтази просульфурон, котрий належить до похідних сульфонілсечовини [8], спостерігалось посилення гербіцидної активності, що позначилося на продуктивності рослин вівса. Про це свідчить коефіцієнт синергізму, який в залежності від протестованих у даних варіантах дослідів концентраціях знаходився в межах 1,1–1,4 (табл. 1). Найбільш ефективною виявилась композиція, до складу якої входив просульфурон у концентрації 6×10^{-6} М (табл. 1; рис. 1, а: 5). Слід також відмітити, що у випадку композиції Аксіалу з інсектицидним препаратом Діазол, діюча речовина якого належить до фосфорорганічних сполук, гербіцидна активність такої композиції на рослини вівса зберігалась на відповідному рівні, що свідчить про сумісність даних препаратів. Раніше було продемонстровано, що такі гербіциди, як атразин, симазин, монурон та 2,4-Д проявляють синергізм при застосуванні разом з діазиноном [14]. Це дає підстави розглядати можливість застосування їх композиції для одночасної обробки посівів проти шкідливих комах та бур'янів, але необхідне проведення додаткових досліджень стосовно впливу Аксіалу на інсектицидну активність Діазолу.

При обробці пшениці препаратами Банвел, Пріма та їх композиціями з Аксіалом суттєвих відмінностей в рівнях гербіцидної активності зафіксовано не було. Застосування даних композицій призводило до пригнічення росту рослин та зниження їх продуктивності, але негативний вплив залишався у межах прогнозованого. При додаванні до Аксіалу Дербі у концентрації $5 \cdot 10^{-4}$ М (за флуметсуламом) рівень гербіцидної дії композиції на пшеницю суттєво не змінювався і був нижчим за очікуваний ефект. Зниження концентрації Дербі у складі композиції до $3 \cdot 10^{-6}$ М (за флуметсуламом) призводило до розвитку синергічного ефекту, внаслідок чого відбувалося посилення гербіцидної дії композиції на пшеницю у порівнянні з очікуваним рівнем (табл. 2).

Схожа залежність простежувалась і у варіантах дослідів з використанням композицій

Аксіалу з гербіцидним препаратом Пік. Обробка пшениці даними композиціями також призводила до зниження продуктивності рослин за сухою біомасою та пригнічення ростових процесів (табл. 2; рис. 1, б: 5). Обробка пшениці композицією Аксіалу з Діазолом також обумовлювала зниження продуктивності рослин, але суттєво не позначилась на ростових процесах (табл. 2; рис. 1, б: 6). Найбільший негативний вплив мала композиція, яка містила Діазол у концентрації $1,65 \cdot 10^{-4}$ М за діючою речовиною. В цілому можна зазначити, що обробка розглянутими комерційними гербіцидними препаратами та їх композиціями виявляла їх слабкий інгібуючий вплив на рослини пшениці, який не перевищував 30 % та не супроводжувався загибеллю рослин (табл. 2).

Таким чином, за результатами гербіцидного тесту було визначено дві найбільш перспек-

тивні композиції на основі грамініциду Аксіал (діюча речовина — піноксаден). *По-перше*, це композиція Аксіалу ($1,9 \cdot 10^{-5}$ М за діючою речовиною) з гербіцидом Пік ($6 \cdot 10^{-6}$ М за діючою речовиною просульфуроном), обробка якою дозволяє не тільки розширити спектр бур'янів, що піддаються знищенню, але й досягти підвищення гербіцидної ефективності даної композиції за рахунок синергічної взаємодії обох її компонентів. *По-друге*, на наш погляд, значний практичний інтерес представляє композиція грамініциду Аксіалу з інсектицидом Діазолом (діюча речовина — діазинонон), яка дозволяє проводити одночасну обробку проти бур'янів та шкідників без зниження ефективності гербіцидного препарату.

Визначення клітинно-біологічних механізмів дії відібраних композицій на клітинах коренової меристеми проростків вівса та пше-

Таблиця 2

Інгібування росту та зниження сухої біомаси рослин пшениці на 7-му добу після обробки комерційними гербіцидами та їх композиціями

Речовина	Пригнічення росту рослин, % від контролю			Зниження накопичення сухої біомаси, % від контролю		
	факт.	очік.	K_c	факт.	очік.	K_c
Аксіал	19,6 ± 7,7			11,8 ± 6,2		
Банвел	10,0 ± 5,7			9,3 ± 5,5		
Банвел ½	-1,9 ± 2,9			-16,1 ± 8		
Пік	6,5 ± 4,8			12 ± 6,4		
Пік ½	8,6 ± 5,4			18,8 ± 7,5		
Дербі 1	33,3 ± 7,9			30,6 ± 7,7		
Дербі 2	8,1 ± 5,1			7,8 ± 5,0		
Пріма	25,8 ± 7,4			29,6 ± 7,7		
Діазол	3,5 ± 3,6			0,3 ± 1,1		
Діазол ½	11,5 ± 5,8			6,9 ± 4,6		
Аксіал + Банвел	18,6 ± 7,8	27,6	0,7	21,7 ± 8,3	20	1,1
Аксіал + Банвел ½	18 ± 6,4	19,6	0,9	28,1 ± 7,5	11,8	2,4
Аксіал + Пік	27,4 ± 8,3	24,8	1,1	26,2 ± 8,2	22,4	1,2
Аксіал + Пік ½	31,5 ± 8,4	26,5	1,2	28,6 ± 8,2	28,4	1
Аксіал + Дербі 1	34,4 ± 8,8	46,4	0,7	33,7 ± 8,8	38,8	0,9
Аксіал + Дербі 2	31,7 ± 8,6	26,1	1,2	24,7 ± 8	18,7	1,3
Аксіал + Пріма	28,5 ± 7,5	40,4	0,7	30,9 ± 7,7	37,9	0,8
Аксіал + Діазол	23,9 ± 7,7	22,4	1,1	28,6 ± 8,2	11,8	2,4
Аксіал + Діазол ½	30,1 ± 7,3	28,9	1	36 ± 7,7	17,9	2

ниці. Оскільки результати описаних вище вегетаційних досліджень свідчать про те, що обробка вівса композиціями на основі піноксадену із додаванням просульфурону або діазинону викликає пригнічення росту, появу хлоротичних рослин та їх подальшу загибель, було зроблено припущення про можливість індукування запрограмованої клітинної загибелі (апоптозу) рослинних клітин внаслідок впливу даних гербіцидних композицій. Тому відібрані сполуки та їх композиції були протестовані на здатність викликати загибель рослинних клітин.

З цією метою застосовували подвійне фарбування клітин кореневої меристеми проростків вівса з використанням DAPI (тотальна ДНК) та пропідіум йодиду (ДНК клітин, що загинули). Як свідчать результати проведених досліджень, обробка Аксіалом обумовлює загибель клітин кореневої меристеми проростків вівса в зоні розтягу (рис. 2, а: 2 (див. кольорову вклейку)). В той же час при обробці даним препаратом проростків пшениці не було відмічено загибелі клітин кореневої меристеми (рис. 2, б: 2). Дані результати добре корелюють з результатами гербіцидного тесту (рис. 1: 2). При застосуванні препаратів Пік та Діазол на проростках пшениці лише після обробки Діазолом було зафіксовано неживі клітини в зоні розтягу кореня (рис. 2, б: 4, 5). При обробці даними препаратами проростків вівса лише використання препарату Пік обумовлювало загибель клітин (рис. 2, а: 4, 5). Застосування запропонованих композицій гербіцидів також супроводжувалося загибеллю меристематичних клітин коренів вівса (рис. 2, а: 5, 6). Водночас при використанні даних композицій для обробки проростків пшениці спостерігали появу лише незначної кількості загіблених клітин (рис. 2, б: 5, 6).

Як відомо, індукування та реалізація запрограмованої загибелі клітин супроводжується декількома характерними морфологічними та біохімічними ознаками. Одним з характерних маркерів апоптотичних процесів є ацидифікація цитоплазми, що пов'язано із зростанням в

ній протеазної та нуклеазної активності [20, 21]. Тому ацидифікацію цитоплазми визначали за допомогою фарбування досліджуваних клітин акридиновим оранжевим, який ще раніше було запропоновано використовувати як неспецифічний індикатор pH [22–24].

Як видно з результатів проведених досліджень, обробка гербіцидними препаратами Аксіал та Пік, а також їх композицією ініціює в клітинах коренів вівса процеси, що супроводжуються ацидифікацією цитоплазми. Найбільш помітною вона була на варіантах, де рослинний матеріал обробляли Аксіалом та його композицією з Піком (рис. 3, а: 2, 5 (див. кольорову вклейку)). При цьому було зафіксовано масову загибель клітин коренів проростків вівса (рис. 2, а: 2, 5). Обробка рослин пшениці даними препаратами та їх композицією також супроводжувалася ацидифікацією цитоплазми, але не призводила до загибелі клітин.

Результати тестування композиції Аксіалу з Діазолом свідчать про те, що вони також здатні індукувати процеси ацидифікації у клітинах коренів проростків як вівса, так і пшениці, але при цьому загибель клітин вдалося зафіксувати тільки у рослин вівса (рис. 3: 6). В той же час обробка проростків вівса лише Діазолом приводила до зниження значень pH цитоплазми, але не супроводжувалася загибеллю клітин (рис. 2, а: 4; рис. 3, а: 4). Застосування даного препарату на проростках пшениці викликало не лише зниження рівня pH цитоплазми, але й загибель частини клітин кореня (рис. 2, б: 4; рис. 3, б: 4).

В цілому отримані нами дані свідчать про високу чутливість рослин вівса до запропонованих для впровадження композицій на основі Аксіалу. За результатами їх застосування на даному модельному об'єкті можна стверджувати, що вони здатні індукувати процеси, які у подальшому з великою ймовірністю призводять до запрограмованої загибелі клітин. Раніше нами було продемонстровано, що Аксіал у складі синергічних композицій з динітроаніліновими гербіцидами також призводить до роз-

витку запрограмованої загибелі клітин меристематичних тканин вівса та редьки [5]. Водночас вплив описаних вище гербіцидних композицій на озиму пшеницю не є незворотнім, про що свідчить відсутність загиблих клітин, і вказує на можливість застосування їх у посівах цієї культури без значних негативних наслідків для неї.

Таким чином, за результатами проведених досліджень для боротьби з бур'янами у посівах злакових колосових культур можна рекомендувати композицію піноксадену з просульфуроном проти широкого спектра однодольних та деяких багаторічних дводольних бур'янів та з інсектицидним препаратом Діазолом проти широкого спектра однорічних злакових бур'янів та багатьох видів листогризухих і сисних комах. Очевидно, що перспективним у плані подальшого використання можна розглядати композиції піноксадену з похідними 2,4-дихлорфенілоцтової кислоти, які є адитивними і дозволяють розширити спектр дії композицій без зниження активності їх окремих складових. На основі практичних рекомендацій за результатами проведених експериментів партнерами по науково-технічному проекту з Інституту фізіології рослин та генетики НАН України були проведені польові дослідження запропонованих композицій, які лягли в основу для їх використання сільськогосподарськими виробничими компаніями України.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Appleby A.P., Müller F., Carpy S.* Weed Control. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 2002, Wiley-VCH, Weinheim // doi:10.1002/14356007.a28_165.
2. *Hardy R.W.F., Giaquinta R.T.* Molecular biology of herbicides // *BioEssays* – 2005. – Vol. 1 (4). – P. 152–156.
3. *Ожередов С.П., Емец А.И., Литвин Д.И. и др.* Антимитотическое действие новых производных 2,6-динитроанилина и их синергическая активность в композициях с граминицидами // *Цитология и генетика*. – 2010. – Т. 44, № 5. – С. 54–59.
4. *Zhang J., Allan S. Hamill and Susan E. Weaver* Antagonism and synergism between herbicides: Trends from previous studies // *Weed Technol.* – 1995. – 9, N 1. – P. 86–90.
5. *Ожередов С.П., Литвин Д.И., Снівак С.І. и др.* Випробування та впровадження синергічних композицій високоефективних гербіцидів для зернових та технічних культур // *Наука та інновації*. – 2012. – № 4, С. 17–24.
6. *Електронна енциклопедія сільського господарства: Озима пшениця / 6. Технологія вирощування / 6.5.1. Система боротьби із бур'янами на озимій пшениці.* – AgroScience.com.ua // <http://www.agroscience.com.ua/plant/golovna>.
7. *Мордерер Є.Ю., Швартай В.В.* Гербіциди. В 2-х тт. Т. 1. Механізми дії та практика застосування. – К.: Логос. – 2009. – 379 с.
8. *Johnson B., Nice G.* Weed control in wheat. In: *Purdue Univ. Weed Sci.*, 2009 // <http://www.ag.purdue.edu/btny/weedsience/Documents/WheatWeedControl09.pdf>.
9. *Georgieva T., Dimitrova M.* Effect and selectivity of herbicide Derby 175 SK on winter oat (*Avena sativa* L.) // *Plant Sci.* – 2000. – 37. – P. 509–512.
10. *Kamrin M.A.* Chapter 7. Phenoxy and benzoic acid herbicides // In: *Pesticide Profiles: Toxicity, Environmental Impact, and Fate.* – 1997. – CRC Press. – 704 p.
11. *AgroScience.com.ua* // Електронна енциклопедія сільського господарства: «Пріма»: сайт. // URL: <http://www.agroscience.com.ua>.
12. *Hofer U., Muehlebach M., Hole S., Zoschke A.* Pinoxaden – for broad spectrum grass weed management in cereal crops // *J. Plant Diseases and Protection.* – 2006. – XX. – P. 989–995.
13. *Озерова Л.В., Швартай В.В.* Механізми дії сучасних гербіцидів – інгібіторів ацетил-КоА-карбоксилази // *Физиол. и биохимия культ. раст.* – 2005. – Т. 37, № 6. – С. 486–494.
14. *Lichtenstein E.P., Liang T.T., Anderegg B.N.* Synergism of insecticides by herbicides // *Science.* – 1973. – 181, N 102. – P. 847–849.
15. *Harper B., Luukinen B., Gervais J.A. et al.* Diazinon technical fact sheet // National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. – 2009. <http://npic.orst.edu/factsheets/diazinontech.pdf>.
16. *Chuah T.S., Nor Asmah B.J., Cha T.S. et al.* The use of reduced herbicide combinations in tanr-mixes for goosegrass (*Echinochloa indica* (L.) Gaertn) control. // *J. World Appl. Sci.* – 2008. – Vol. 5, № 3. – P. 358–362.
17. *Rummens F.H.A.* An improved definition of synergistic and antagonistic effects // *Weed Sci.* – 1975. – Vol. 23, № 1. – P. 4–6.
18. *Samuilov V.D., Kiselevsky D.B., Shestak A.A. et al.* Reactive oxygen species in programmed death of pea guard cells // *Biochemistry (Moscow).* – 2008. – Vol. 73, № 10. – P. 1076–1084.
19. *Лакін Г.Ф.* Биометрия // М.: Высшая школа. – 1990. – 352 с.
20. *Абрахимова Й.Р., Абрахимов Ф.А., Хохлова Л.П.* Влияние оризалина на ультраструктурную организацию и дыхание корней разных сортов озимой пшеницы на

- фоне холодового закаливания // Физиол. раст. — 2006. — Т. 53. — С. 196—206.
21. Gaffal K.P., Friedrichs G.J., El-Gammal S. Ultrastructural evidence for a dual function of the phloem and programmed cell death in the floral nectary of *Digitalis purpurea* // Ann. Bot. — 2007. — Vol. 99. — P. 593—607.
 22. Gottlieb R.A., Giesing H.A., Zhu J.Y. Cell acidification in apoptosis: Granulocyte colony-stimulating factor delays programmed cell death in neutrophils by up-regulating the vacuolar H⁺-ATPase // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1995. — Vol. 92. — P. 5965—5968.
 23. Gunawardena A., Pearce D.M., Jackson M.B. et al. Characterisation of programmed cell death during aerenchyma formation induced by ethylene or hypoxia in roots of maize (*Zea mays* L.) // Planta. — 2001. — Vol. 212. — P. 205—214.
 24. Мpoke S.S., Wolfe J. Differential staining of apoptotic nuclei in living cells: application to macronuclear elimination in *Tetrahymena* // J. Histochem. Cytochem. — 1997. — Vol. 45, № 5. — P. 675—683.

С.П. Ожередов, С.И. Спивак, А.И. Емец, Я.Б. Блум

ВНЕДРЕНИЕ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ СИСТЕМЫ БОРЬБЫ СО ЗЛАКОВЫМИ СОРНЯКАМИ В ПОСЕВАХ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР: СКРИНИНГ ФИТОТОКСИЧНОСТИ ГРАМИНИЦИДОВ И ИХ КОМПОЗИЦИЙ С ДРУГИМИ ГЕРБИЦИДАМИ

Проведен скрининг фитотоксичности композиций граминицидов с гербицидами других классов с целью дальнейшего применения при выращивании озимой пшеницы и других зерновых колосовых культур. Показано, что композиция гербицидного препарата Аксиал с инсектицидным препаратом Диазол (диазинон) является адди-

тивной. Продемонстрировано, что обработка препаратом Аксиал инициирует процессы запрограммированной клеточной гибели (апоптоз) в меристематических клетках корней овса (модель однолетних злаковых сорняков), тогда как растения пшеницы достаточно нечувствительны к действию этого препарата. На основании полученных результатов предложены и переданы для внедрения новые высокоэффективные гербицидные системы борьбы со злаковыми сорняками в посевах зерновых культур.

Ключевые слова: зерновые культуры, злаковые сорняки, гербициды, граминициды, инсектициды, апоптоз.

S.P. Ozheredov, S.I. Spivak, A.I. Yemets, Y.B. Blume

INTRODUCTION OF THE HIGH EFFECTIVE SYSTEM OF WEEDY GRASSES CONTROL IN GRAIN CROP CULTIVATION: SCREENING OF GRAMINICIDES AND THEIR COMPOSITIONS WITH OTHER HERBICIDES FOR PHYTOTOXICITY

Screening of graminicides and their compositions with other herbicides on phytotoxicity for further winter wheat and other cereal crops treatment was carried out. We have also shown that the composition of herbicide Axial with the insecticidal agent diazinon (Diazol) is additive one. It was demonstrated that Axial treatment initiates programmed cell death in meristematic root cells of oat (annual weed model), while the wheat plants are not sensitive enough to its action. Based on the obtained results new high-performance herbicide systems of weed control in cereal crops are proposed and passed for introduction.

Key words: crops, grass weeds, herbicides, graminicides, insecticides, apoptosis.

Стаття надійшла до редакції 30.03.12

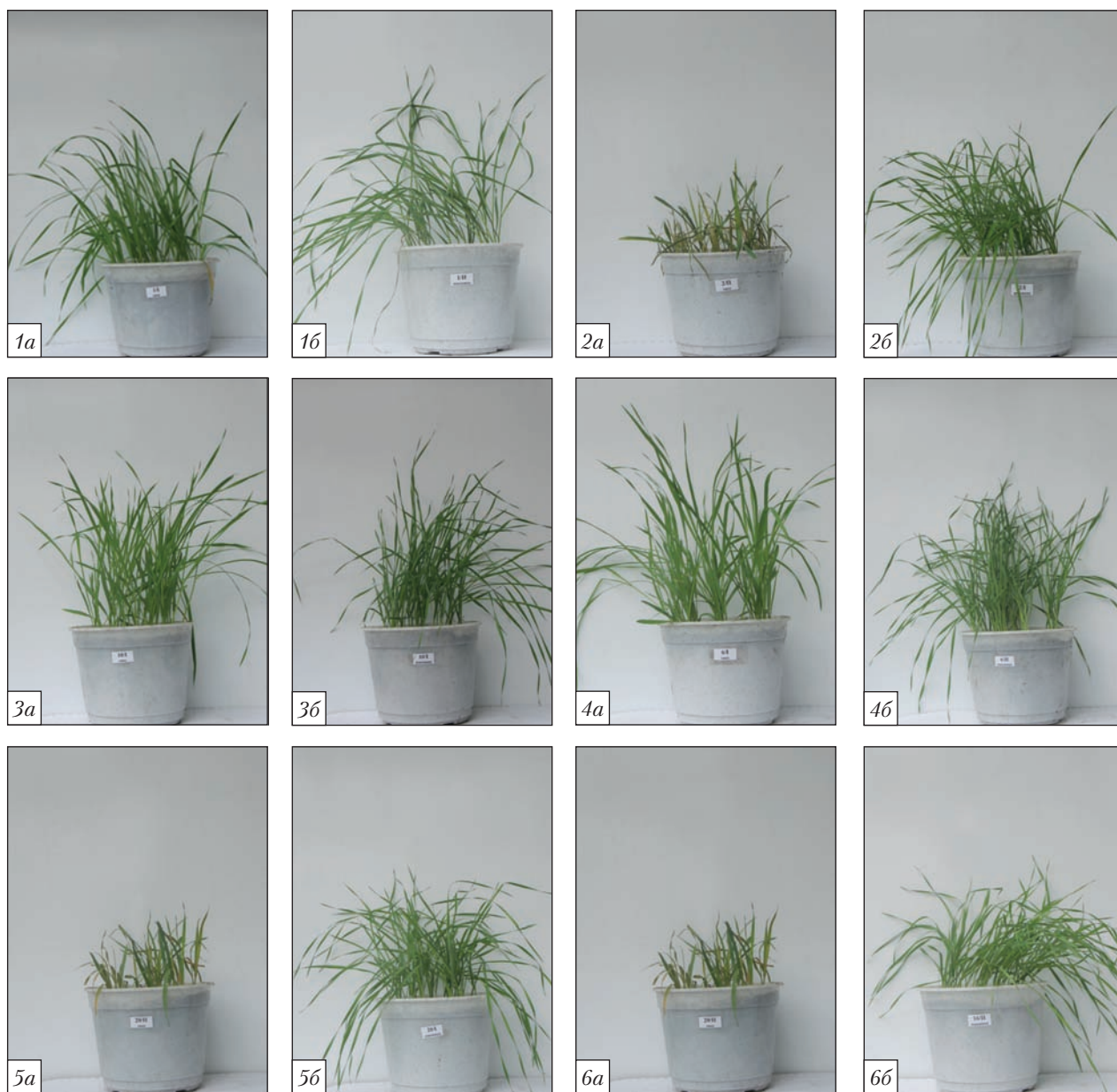


Рис. 1. Вплив комерційних препаратів та їх композицій на ріст рослини вівса (*a*) та пшениці (*б*) на 7-му добу після обробки: 1 – контроль; 2 – Аксіал; 3 – Пік; 4 – Діазол; 5 – Аксіал + Пік; 6 – Аксіал + Діазол

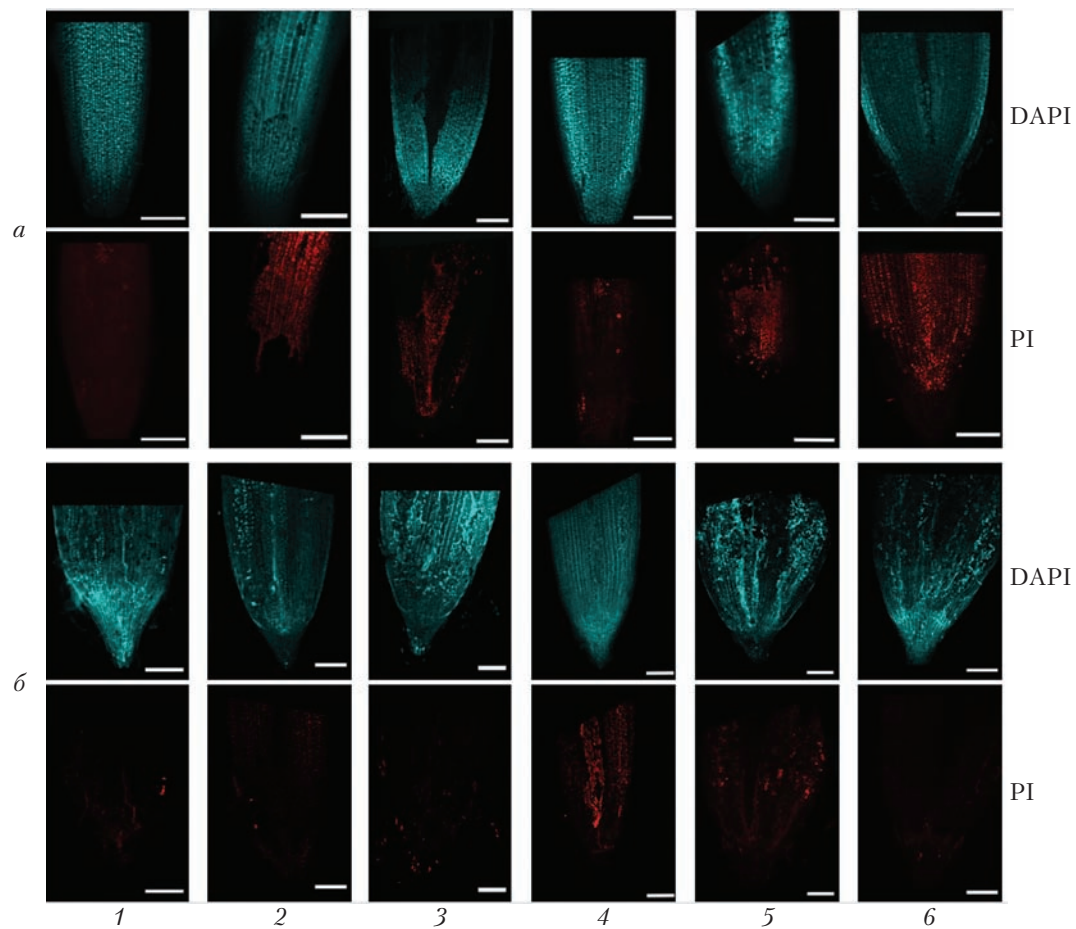


Рис. 2. Вплив обробки гербіцидами та їх композиціями на життєздатність клітин коренів проростків вівса (*a*) та пшениці (*б*): 1 – контроль; 2 – Аксіал; 3 – Пік; 4 – Діазол; 5 – Аксіал + Пік; 6 – Аксіал + Діазол; масштаб – 200 мкм

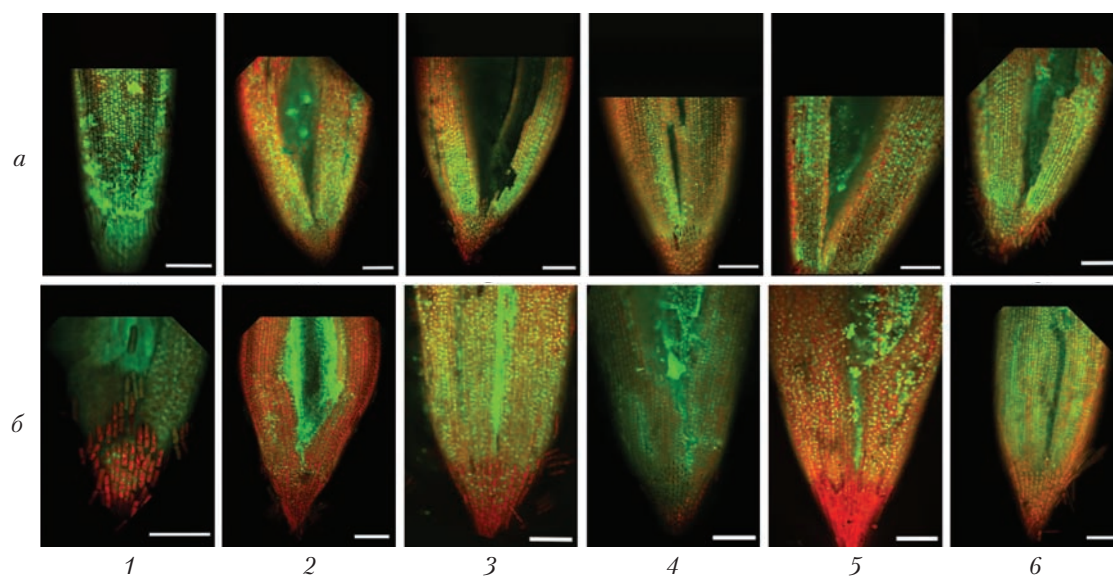


Рис. 3. Вплив обробки гербіцидами та їх композиціями на рівень pH цитоплазми клітин коренів проростків вівса (*a*) та пшениці (*б*): 1 – контроль; 2 – Аксіал; 3 – Пік; 4 – Діазол; 5 – Аксіал + Пік; 6 – Аксіал + Діазол; масштаб – 200 мкм