



Рослинництво, кормовиробництво

УДК 581.141+632.954+
+612.015.1

© 2018

ВПЛИВ ГЕРБІЦИДІВ НА ПОКАЗНИКИ УРОЖАЮ ГІБРИДА КУКУРУДЗИ ОРЖИЦЯ 237 МВ

*Н.О. Хромих¹, В.Л. Матюха², Ю.В. Лихолат³,
М.М. Лісовий⁴, М.М. Назаренко⁵, І.П. Григорюк⁶*

*^{1,5} кандидати біологічних наук, ² кандидат сільськогосподарських наук, ^{3,6} доктори біологічних наук, професори, ⁴ доктор сільськогосподарських наук, професор ^{1,3} Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49010, Україна, ² ДУ Інститут зернових культур НААН, пр. Вернадського, 14, м. Дніпро, 49010, Україна, ^{4,6} Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 13, м. Київ, 03041, Україна, ⁵ Дніпровський державний аграрно-економічний університет, вул. Сергія Єфремова, 25, м. Дніпро, 49000, Україна
e-mail: ¹khromykh2012@gmail.com, ³lykholat2006@ukr.net, ⁵nik_nazarenko@ukr.net*

Надійшла 27.03.2018

Мета. Вивчити властивості зерна кукурудзи Оржиця 237 МВ та функціонування ферментів антиоксидантного захисту для виявлення наслідків обробки посівів селективними гербіцидами Харнес, Пропоніт, Майстер і Стеллар. **Методи.** Активність супероксиддисмутази (СОД; КФ 1.15.1.1) визначали за рівнем гальмування процесу відновлення нітросинього тетразолу (НСТ) при наявності нікотинаміддинуклеотиду і феназинметасульфату (ФМС). Каталазу активність (КФ 1.1.1.6) визначали титриметричним методом з розчином перманганату калію після інкубування супернатанту протягом 30 хв при 25°C із перексидом водню і виражали в мМ Н₂О₂/хв×г сирої маси. Вміст GSH і активність глутатіон-S-трансферази визначали за загальноприйнятою методикою. **Результати.** Досліджено післядію гербіцидної обробки на достигле насіння гібрида кукурудзи Оржиця 237 МВ. Установлено зниження маси насіння і вмісту водорозчинних білків залежно від індивідуальних властивостей гербіцидів. Виявлено різноспрямованість змін активності антиоксидантних ферментів. **Висновки.** Виявлені морфологічні та метаболічні зміни можна оцінити як прояв післядії гербіцидів: відхилення від контрольних показників насіння, викликані дією гербіцидів, вказують на погіршення врожаю досліджуваного гібрида. Результати дослідження підтверджують доцільність тестування перспективних гібридів на чутливість до гербіцидів з різними механізмами дії.

Ключові слова: гібрид кукурудзи, післядія гербіцидів, антиоксидантні ферменти, відновлений глутатіон, активність глутатіон-S-трансферази.

Однією з актуальних проблем сільськогосподарського виробництва України є контролювання бур'янів у посівах, що обмежують

урожайність культурних рослин за рахунок інтенсивного використання поживних речовин та вологи. Збільшення витрат води, через її

випаровування різними видами бур'янів, сягає 3000 м³. В окремих випадках втрати, завдані бур'янами, можуть становити 20–50% можливого рівня врожайності для суцільних посівів та 40–80% — для просапних культур [1].

З метою регулювання процесів росту і відтворення небажаної рослинності широко використовують гербіциди різного спектра дії [2]. Культурні рослини не належать до цільових об'єктів їхньої дії, проте в умовах агроценозів зазнають фітотоксичного впливу цих речовин, який супроводжується перебудовами лінійного росту і розвитку рослин, проявом хлорозу, різноспрямованими порушеннями фізіологічних і біохімічних функцій, змінами структури врожаю та якості зерна [3].

Гербіцидна обробка сільськогосподарських культур займає провідне місце серед методів контролювання бур'янів у сучасному аграрному секторі України. Витрати, пов'язані з використанням гербіцидів, можуть сягати 15–20% вартості вирощування сільськогосподарських культур. Незважаючи на тривалий період використання гербіцидів, питання екологічної безпеки їх застосування поки що не мають однозначної оцінки [4, 5].

Потреба в гербіцидній обробці диктується тим фактом, що забруднення 80% посівних площ в Україні насінням бур'янів сягає 1,14–1,47 млрд шт./га. З іншого боку, гербіцидний метод захисту від бур'янів часто недостатньо ефективний. Наприклад, встановлено, що в степовому Придніпров'ї на тлі щорічного застосування гербіцидів у період 1991–2001 рр. загальна засміченість ґрунтового орного шару насінням бур'янів збільшилася в 1,5, а амброзії полиноистої (*Ambrosia artemisiifolia* L.) — в 2,4 раза [6].

Не виключений також негативний вплив гербіцидів на онтогенез культурних рослин, незважаючи на те, що компанії, які виробляють гербіциди, незмінно підтверджують відсутність їхніх токсичних ефектів на різні види рослин. Зокрема, в останні роки значна кількість досліджень виявила негативні наслідки дії деяких гербіцидів: 2,4-D (50% в.р., д.р. 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти амінна сіль), Атразин (50% с.п., д.р.

похідне сим-триазину), Аценіт (85% к.е., д.р. ацетохлор, похідне хлорацетаналіду) та ін., які широко використовували в попередній період [6]. За цих умов відбувалося зниження висоти, площі поверхні листків і продуктивності зерна кукурудзи, збільшення стерильності пилку сорго [7], накопичення залишкової кількості гербіцидів і їхніх метаболітів в культивованих рослинах [8].

Мета досліджень. Вивчити деякі властивості зерна кукурудзи і функціонування ферментів антиоксидантного захисту з метою виявлення післядії обробки посівів гербіцидами: Харнес, 90% к.е. (ацетохлор) — 2,5 л/га; Пропоніт, 96% к.е. (пропізохлор) — 2 л/га; Майстер, 62% в.г. (форамсульфурон + йодсульфурон-метил натрію + карбазон-метил + антидот ізоксадифенетил) — 150 г/га + прилипач Біо Пауер — 1,25 л/га; Стеллар, 21% в.р. (топрамезон + дикамба) — 1,25 л/га + прилипач Метолат — 1,25 г/л.

Матеріали та методи досліджень. Польові експерименти проведено на ділянках Інституту зернових культур НААН (м. Дніпро, Україна), ґрунтовий покрив яких представлений звичайним чорноземом з умістом гумусу 4–5%. Об'єкт досліджень — достигле насіння кукурудзи гібрида Оржиця 237 МВ. Гербіциди застосовували в рекомендованих нормах, зокрема Харнес — 2,5 л/га, Майстер і Стеллар — 1,25 та Пропоніт — 2,0 л/га.

Активність ферменту супероксиддисмутази (СОД; КФ 1.15.1.1) оцінювали за рівнем гальмування процесу відновлення нітросинового тетразолію (НСТ) при наявності нікотинаміддинуклеотиду (НАДН) і феназінметасульфату (ФМС) [9]. Реакційна суміш містила 1,2 мл Na-фосфатного буфера, 0,1 мл розчину ФМС, 0,3 мл НСТ та 0,3 мл супернатанту. Реакцію ініціювали додаванням 0,2 мл НАДН і зупиняли 1 мл льодяної оцтової кислоти. Для визначення активності ферменту бензидин-пероксидази (ПО; КФ 1.11.1.7) [10] у реакційну суміш, яка містила 0,2 мл супернатанту й 0,8 мл ацетатного буфера, додавали 1 мл 0,1 М розчину бензидину. Зміни оптичної густини реєстрували за довжини хвилі 470 нм, активність ферменту виражали в одиницях

1. Вплив гербіцидної обробки посівів на достигле зерно гібрида кукурудзи Оржиця 237 МВ

Гербіциди	Маса 1000 зерен, г	P	Вміст водорозчинних білків, г/100 г	P
Обробка водою (контроль)	205,6±2,6	—	1,72±0,01	—
Харнес, 2,5 л/га	200,8±2,4	0,435	1,58±0,01	0,010
Майстер, 150 г/га	197,1±2,5	0,002	1,49±0,01	0,002
Стеллар, 1,25 л/га	198,3±2,4	0,006	1,58±0,01	0,006
Пропоніт, 2,0 г/га	199,3±2,4	0,010	1,57±0,01	0,003

оптичної густини/хв×г сиріої маси.

Активність ферменту Каталази (КФ 1.1.1.6) досліджували титрометричним методом [11] з розчином перманганату калію після інкубування супернатанту протягом 30 хв за температури 25°C з пероксидом водню і виражали в ммоль H_2O_2 /хв×г сиріої маси.

Одна з ефективних ланок метаболічного захисту є глутатіонова система, активність якої індукується у відповідь на вплив різноманітних стресорів і визначається умістом відновлювального глутатіону (GSH) у рослинних клітинах. Вміст GSH та активність глутатіон-S-трансферази (GST) визначали за загальноприйнятною методикою [12].

Результати статистично обробляли за допомогою пакета Statistica 6.0.

Результати досліджень. Виявлено зменшення маси 1000 зерен кукурудзи, а також зниження вмісту білка в зерні (табл. 1). Найменше зниження маси насіння (2,4% нижче контролю) та вмісту білка (на 7,6%) було виявлено за дії гербіциду Харнес, а найбільше зниження (відповідно 4,2% і 13,1%) — за дії гербіциду Майстер. Одержані результати узгоджуються з відомими даними про негативну дію гербіцидів, включаючи гліфосат, що призводять до зниження схожості і маси проростків гороху,

а також до пошкодження в зростанні і збереження мікронутрієнтів у сої [13, 14].

Підтримка окисно-відновного гомеостазу рослинних організмів за дії чинників довкілля, у тому числі гербіцидів, забезпечується антиоксидантною системою захисту. Адаптивна здатність рослин до дії абіотичного стресора може бути реалізована за умови скоординованого функціонування захисних ферментних систем, включаючи СОД, пероксидазу і каталазу. У насінні кукурудзи з оброблених гербіцидами рослин активність СОД перевищувала контроль у 2,0–5,6 раза (табл. 2), що супроводжується, як відомо, накопиченням надлишку перекису водню в рослинних клітинах [15].

Водночас активність ферментів, здатних знижувати вміст токсичного метаболіту, достовірно ($P < 0,05$ у всіх випадках) знижувалася порівняно з контролем: пероксидазна активність була нижчою в 1,3–2,3 раза, а активність каталази — в 2,4–2,9 раза.

Результати узгоджуються з даними інших авторів, які виявили різноспрямовані зміни активності антиоксидантних ферментів у листках кукурудзи через вплив гербіциду Norflurazon, а також у 8-денних проростках пшениці після обробки гербіцидом Paraquat.

2. Вплив гербіцидної обробки посівів на антиоксидантну активність у зерні гібрида кукурудзи Оржиця 237 МВ

Гербіциди	Активність СОД, ум. од./хв×г	Активність каталази, мМ H_2O_2 /хв×г	Активність пероксидази, ум. од./хв×г
Обробка водою (контроль)	3,7±0,09	3,4±0,01	2,6±0,01
Харнес, 2,5 л/га	9,7±0,05	1,3±0,06	1,9±0,01
Майстер, 150 г/га	7,3±0,03	1,4±0,01	2,1±0,01
Стеллар, 1,25 л/га	20,8±0,29	1,2±0,01	1,2±0,01
Пропоніт, 2,0 л/га	7,3±0,07	1,4±0,03	1,2±0,01

3. Вплив гербіцидної обробки посівів кукурудзи на вміст GSH та активність GST в насінні гібрида Оржиця 237 МВ

Гербіциди	Вміст GSH, нМ/г	P	Активність GST, нкат/г	P
Обробка водою (контроль)	863,2±36,3	—	5,3±0,05	—
Харнес, 2,5 л/га	505,4±48,1	0,015	3,5±0,11	0,001
Майстер, 150 г/га	605,3±20,8	0,029	4,5±0,11	0,026
Стеллар, 1,25 л/га	635,9±12,4	0,042	3,1±0,02	0,003
Пропоніт, 2,0 л/га	545,3±83,6	0,043	4,2±0,10	0,021

Значні порушення функціонування антиоксидантної системи насіння кукурудзи можуть стати причиною ослаблення захисних властивостей зерна і погіршення його якості через гербіцидну обробку батьківської форми [16].

Рослини виду *Zea mays* здатні до біодеградації прониклих у клітини діючих речовин, шляхом активації глутатіон-залежної ферментної системи. Тому рівень активності цієї захисної системи в зерні відображає ступінь детоксикації гербіцидів у рослинах кукурудзи під час формування насіння [14].

У наших дослідженнях встановлено значне зниження ефективності глутатіон-залежної системи, що функціонує в насінні рослин кукурудзи, за оброблення гербіцидами (табл. 3).

У порівнянні з контрольними показниками вміст відновленого глутатіону в насінні оброблених гербіцидами рослин зменшився в 1,4–1,7 раза, а активність глутатіон-S-трансферази була знижена в 1,2–1,7 раза, що вказує на серйозні відхилення у функціонуванні глутатіон-залежної системи захисту рослин.

Зниження вмісту відновленого глутатіону, викликане післядією гербіцидів Харнес, Майстер і Стеллар, сягало до 59%,

а Пропоніту — до 63% контрольного рівня. Що стосується глутатіон-S-трансферази, то активність ферменту знижувалася в основному через наслідки дії гербіцидів Харнес (до 66% контрольного рівня) і Стеллар (до 58% контрольного рівня). Отже, глутатіон-залежна система, відповідальна за біодеградацію токсичних компонентів різного походження, була інгібована в клітинах зерна кукурудзи за дії гербіцидів на батьківські рослини.

Зменшення пулу відновленого глутатіону може бути пов'язане з процесами його кон'югації з діючими речовинами гербіцидів, а також з порушеннями його біосинтезу. У будь-якому випадку зниження вмісту цього тіолового з'єднання призводить до зниження окисно-відновного статусу рослинних клітин і ослаблення стійкості рослин проти стресових чинників [1, 17].

Результати досліджень показали, що ефекти застосування гербіцидів у посівах кукурудзи проявлялися змінами властивостей насіння, а це вказує на чутливість рослин гібрида кукурудзи Оржиця 237 МВ до фітотоксичної дії гербіцидів.

Висновки

У Державному реєстрі сортів рослин, придатних для поширення в Україні, гібрид кукурудзи Оржиця 237 МВ зареєстровано в 2010 р. Він відзначається високою врожайністю, якістю зерна і стійкістю щодо холоду, посухи та шкідників.

Гербіцидна обробка посівів спричинила зниження маси насіння і вмісту водорозчинних білків, посилення активності антиоксидантних ферментів у достиглому насінні гібрида кукурудзи Оржиця 237 МВ залежно від індивідуальних властивостей гербіцидів. Уміст відновлюваного глутатіону в насінні

оброблених гербіцидами рослин був вищим, активність ферменту глутатіон-S-трансферази нижчою, ніж у рослин на контролі.

Виявлені морфологічні і метаболічні перебудови можна оцінити як прояв післядії гербіцидів. Зокрема, відхилення від контрольних якісних показників насіння вказують на погіршення врожайності досліджуваного гібрида кукурудзи.

Результати досліджень вказують на доцільність тестування перспективних гібридів кукурудзи на чутливість до гербіцидів із різними механізмами дії.

Хромых Н.А.¹, Матюха В.Л.², Лихолат Ю.В.³, Лесовой Н.М.⁴, Назаренко Н.Н.⁵, Григорюк И.А.⁶
^{1, 3} Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, пер. Гагарина, 72, г. Днепр, 49010, Украина, ² ГУ Институт зерновых культур НААН, пр. Вернадского, 14, г. Днепр, 49010, Украина, ^{4, 6} Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, ул. Героев Оборона, 13, г. Киев, 03041, Украина, ⁵ Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, ул. Сергея Ефремова, 25, г. Днепр, 49000, Украина; e-mail: ¹ khromykh2012@gmail.com, ³ lykholat2006@ukr.net, ⁵ nik_nazarenko@ukr.net

Влияние гербицидов на показатели урожая гибрида кукурузы Оржиця 237 МВ

Цель. Изучить свойства зерна гибрида кукурузы Оржиця 237 МВ и функционирования ферментов антиоксидантной защиты для выявления последствий обработки посевов селективными гербицидами Харнес, Пропонит Мастер и Стеллар. **Методы.** Активность супероксиддисмутазы (СОД; КФ 1.15.1.1) определяли по уровню торможения процесса восстановления нитросинего тетразолия в присутствии никотинамиддинуклеотида и феназинметасульфата. Каталазную активность определяли титриметрическим методом с раствором перманганата калия после инкубирования супернатанта в течение 30 мин при 25°C с перекисью водорода и выражали в мМ Н₂О₂/мин г сырой массы. Содержание GSH и активность глутатион-S-трансферазы определяли по общепринятой методике. **Результаты.** Исследовано последствие гербицидной обработки на созревшее зерно гибрида кукурузы Оржиця 237 МВ. Установлено снижение массы семян и содержания водорастворимых белков в зависимости от индивидуальных свойств гербицидов. Выявлена разнонаправленность изменений активности антиоксидантных ферментов. **Выводы.** Выявленные морфологические и метаболические изменения можно оценить как проявление последствие гербицидов: отклонение от контрольных показателей семян, вызванные действием гербицидов, указывают на ухудшение урожая исследуемого гибрида. Результаты исследования указывают на целесообразность тестирования перспективных гибридов на чувствительность к гербицидам с различными механизмами действия.

Ключевые слова: гибрид кукурузы, последствие гербицидов, антиоксидантные

ферменты, восстановленный глутатион, активность глутатион-S-трансферазы.

Khromykh N.¹, Matiukha V.², Lykholat Yu.³, Lisovyi M.⁴, Nazarenko M.⁵, Hryhoriuk I.⁶
^{1, 3} Oles Gonchar Dnipro national university, Gagarin Av., 72, Dnipro, 49010, Ukraine, ² GA Institute of grain crops of NAAS, Vernadsky Str., 14, Dnipro, 49010, Ukraine, ^{4, 6} National university of bioresources and natural management of Ukraine, Heroiv Oborony Str., 13, Kyiv, 03041, Ukraine, ⁵ Dnipro state agrarian-economic university, Sergii Yefremov Str., 25, Dnipro, 49000, Ukraine; e-mail: ¹ khromykh2012@gmail.com, ³ lykholat2006@ukr.net, ⁵ nik_nazarenko@ukr.net

Influence of herbicides on indexes of yield of hybrid of corn Orzhitsa 237 MV

The purpose. To study properties of grain of hybrid of corn Orzhitsa 237 MV and action of ferments anti-oxidant protection for detection of aftereffects of treatment of sowings with selective herbicides Kharnes, Proponit, Master and Stellar. **Methods.** Activity of superoxide scavenger (SOD; KF 1.15.1.1) was determined according to the level of retardation of regenerative process of nitrosine tetrazolium at presence of nicotinamide nucleotide and phenazine methasulphate. Catalase activity was determined by titrimetric method with solution of potassium permanganate after incubation of supernatant during 30 minutes at 25°C with hydrogen superoxide and it was expressed in mM of H₂O₂/min g of crude mass. Content of GSH and activity of glutathione-S-transferase was determined according to practical standard. **Results.** After-effect of herbicidal treatment on the dead-ripe grain of hybrid of corn Orzhitsa 237 MV is probed. Lower mass of seeds and content of water-soluble proteins depending on individual properties of herbicides is fixed. There were also determined different direction changes in activity of anti-oxidant ferments. **Conclusions.** The determined morphological and metabolic changes can be evaluated as development of after-effect of herbicides: aberration from control indexes of seeds, caused by action of herbicides, points out to aggravation of yield of probed hybrid. Results of investigation specify expediency of testing perspective hybrids also on responsivity to herbicides with different mechanisms of action.

Key words: hybrid of corn, after-effect of herbicides, anti-oxidant ferments, rebuilt glutathione, activity of glutathione-S-transferase.

Бібліографія

1. Матюха В.Л., Хромых Н.О., Россихіна-Галича Г.С., Лашко В.В. Зміни структури врожаю та якості зерна

озимої пшениці за гербицидної обробки. *Карантин і захист рослин*. 2012. № 12. С. 11–12.

2. Мордерер Е.Ю. Избирательная фитотоксичность гербицидов. Киев: Логос, 2001. 240 с.

3. Хромих Н.О., Россихіна-Галича Г.С., Лихолат Ю.В. Післядія гербіцидної обробки на окисно-відновну активність та вміст хлорофілу у рослин пшениці наступної генерації. *Наук. Часопис нац. пед. ун-ту імені Драгоманова*. Біологічна серія. 2013. 20(5). С. 81–88.

4. Россихіна-Галича Г.С., Лихолат Ю.В., Вінниченко О.М., Григорюк І.П. Використання показників активності супероксиддисмутази, каталази та пероксидази в оцінці резистентності культурних рослин до сумісної дії гербіцидних препаратів та посухи: метод. реком. Дніпропетр. нац. ун-т ім. О. Гончара. Дніпропетровськ, 2013. 28 с.

5. Іващенко О.О. Бур'яни в агрофітоценозах. Проблеми практичної гербології. Київ, 2001. 234 с.

6. Матюха Л.П., Матюха В.Л., Рябоволенко В.В. Бур'яни-алергени. *Захист рослин*. 2003. № 6. С. 14–17.

7. Огинова І.А. Адаптивна реакція репродуктивної сфери сорго на действие гербицидов. *Вісн. Дніпропетровського ун-ту*. Серія Біологія, Екологія. 2006. № 3(1). С. 203–207.

8. Хромых Н.А., Винниченко А.Н. Особенности накопления и распределения ацетохлора у гибридов кукурузы при прорастании. *Вісн. Дніпропетровського ун-ту*. Серія Біологія. 2000. № 8(1). С. 122–126.

9. Переслегина І.А. Активність антиоксидантних ферментів слюни здорових дітей. *Лабораторное дело*. 1989. № 11. С. 20–23.

10. Бояркин А.Н. Колориметрическое определение

активности пероксидазы. *Биохимия*. 1961. Т. 16, № 2. С. 252–254.

11. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. Москва: Колос, 1968. 183 с.

12. Вінниченко О.М., Більчук В.С., Лихолат Ю.В., Россихіна-Галича Г.С., Шупранова Л.В. Спецпрактикум з фізіології та біохімії рослин. Дніпропетровськ: ФОП Середняк Т.К., 2014. 224 с.

13. McCarthy-Suarez I., del Rio L.A., Palma J.M. Organ-specific effects of the auxin herbicide 2,4-D on the oxidativestress and senescence-related parameters of the stems of pea plant. *Acta Physiol. Plant*. 2001. V. 33. P. 2239–2247.

14. Митева Л.П.-Е., Иванов С.В., Алексеева В.С. Изменение пула глутатиона и некоторых ферментов его метаболизма в листьях и корнях растений гороха, обработанных гербицидом глифосатом. *Физиология растений*. 2010. Т. 57, № 1. С. 139–145.

15. Минабаева Ф.В., Гордон Л.Х. Продукция супероксида и активность внутриклеточной пероксидазы в тканях растений при стрессе. *Физиология растений*. 2003. 50(3). С. 459–464.

16. Хромих Н.О., Россихіна-Галича Г.С., Лашко В.В. Вплив гербіцидів нового покоління на фізіологічні та біохімічні показники насіння кукурудзи. *Вісн. Харківського нац. аграр. ун-ту*. 2011. 3(24). С. 50–55.

17. Nazarenko M., Lykholat Y., Grigoryuk I., Andrusevych K. Mutagen depression after recurrent chemical mutagen action at first winter wheat generation. *Agriculture & Forestry*. 2017. V. 63, Is. 2. Podgorica. P. 161–170.