УДК 632.952+577.15+633.367.1
DOI: https://doi.org/10.36495/2312-0614.2020.7-9.3-6
© О.І. Борзих, О.В. Цуркан, Л.М. Черв'якова, Т.П. Панченко, 2020

ВПЛИВ ФУНГІЦИДІВ

на ферментативну активність антиоксидантної системи та вміст хлорофілу в рослинах люпину за протруєння насіння

Мета. *Встановити вплив фунгіцидів на динаміку активності пероксидази, каталази та на вміст хлорофілу в рослинах люпину за протруєння насіння.* ***Методи.*** *Лабораторні й вегетаційні дослідження проводили в лабораторії аналітичної хімії пестицидів Інституту захисту рослин. Вирощували люпин жовтий (Lupinus luteus L.) сорту Обрій. Об'єктами досліджень були фунгіциди тритіконазол (40 г/т) та його комбінація з прохлоразом (120 г/т). Вміст фунгіцидів у рослинах визначали з використанням хроматографічних методів аналізу за офіційно затвердженими методиками та методиками, розробленими в лабораторії аналітичної хімії пестицидів. Вміст хлорофілу та активність пероксидази визначали колориметричним, каталази — титриметричним методами.* ***Результати.*** *Зафіксовано диференційовану чутливість ензиматичних систем антиоксидантного захисту (каталази, пероксидази) стосовно досліджуваних фунгіцидів. За токсикації рослин люпину тритіконазолом, на 10-ту добу після сівби його вміст становив 0,8 мг/кг, а активність пероксидази знаходилась на рівні контролю. Надалі, на фоні зниження вмісту діючої речовини, спостерігали поступову активацію ферменту. Активність каталази, починаючи з 14-ї доби, також поступово зростала, і на 30-ту перевищувала відповідний показник контролю на 40%. При застосуванні комбінації тритіконазолу з прохлоразом, порушення балансу пероксидаза↔каталаза були більш значимими. Проте до фази 7—8 листків, за сумарного мінімального вмісту фунгіцидів 0,38 мг/кг, активність ферментів наближалася до рівня контролю, що пов'язано з відновленням гомеостазу рослинного організму та формуванням його адаптивного потенціалу до стресових чинників. Встановлено стимулюючий вплив фунгіцидів на синтез хлорофілу на початкових етапах росту рослин люпину, кількість якого за фазами розвитку перевищувала показник контролю на 11—29%.* ***Висновки.*** *Застосування системних фунгіцидів з класу триазолів для захисту сходів сприяє покращенню фотосинтетичної діяльності рослин і водночас є стресовим фактором, що активує ферменти-протектори (каталаза, пероксидаза), які запускають розвиток захисних адаптивних реакцій рослин.*

фунгіциди, протруйники, хлорофіл, пероксидаза, каталаза

О.І. БОРЗИХ,
доктор сільськогосподарських наук, член-кореспондент НААН
О.В. ЦУРКАН,
кандидат сільськогосподарських наук
Л.М. ЧЕРВ'ЯКОВА,
кандидат сільськогосподарських наук
Т.П. ПАНЧЕНКО,
кандидат сільськогосподарських наук
Інститут захисту рослин НААН,
вул. Васильківська, 33, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: lac_ipp@ukr.net

В Україні для хімічного захисту сільськогосподарських культур від різних грибних захворювань зареєстровано близько 20 похідних триазолів [1]. Це сполуки системної дії, що блокують біосинтез ергостиролу в клітинних мембранах більшості патогенних грибів, пригнічують ріст міцелію та проростання спор. Окрім основної функції — елімінації патогенів — фунгіциди здійснюють супутній вплив на фізіолого-біохімічні процеси в рослинах, залежно від властивостей, дози та технології застосування. За даними дослідників, найбільш поширеними ефектами застосування фунгіцидів класу триазолів є: ретардантна дія (пригнічення синтезу гіберелінів); порушення процесів фотосинтезу та транспірації; підвищення стійкості рослин до впливу стрес-факторів (низькі і високі температури, засуха, надмірне зволоження, засолення, УФ-опромінення) [2—7].

Проникаючи в клітини рослин, фунгіциди стимулюють розвиток оксидативного (окислювального) стресу утворенням надлишку активних форм кисню (АФК), які з одного боку є обов'язковим продуктом функціонування електронтранспортних ланцюгів дихання і фотосинтезу, контролюють реакції надчутливості та апоптозу, беруть участь у синтезі спеціальних білків стійкості; а з іншого ініціюють реакції перекисного окислення ліпідів, пошкодження мембран, руйнування білків тощо [8—10].

Для регуляції рівня АФК в рослинних тканинах активуються антиоксидантні ферменти (пероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза). Пероксидаза — основний дихальний і ключовий фермент фотосинтезу, універсальний індикатор впливу факторів навколишнього середовища на рослину. Каталаза розкладає отруйну для клітин сполуку — перекис водню, яка утворюється в результаті біохімічних реакцій окислення органічних сполук та в процесі дихання, на воду і молекулярний кисень. Між каталазою і пероксидазою існує «удаваний антагонізм»: пероксидаза відновлює перекис водню, в той час як каталаза швидко і цілком розкладає його, за рахунок чого задовольняється потреба в ньому клітин. Діючи водночас, обидва ферменти не порушують свої специфічні функції, тому що каталаза руйнує ту частину перекису, що не може бути використана пероксидазою для окисних процесів. Зміна активності окисно-відновних ферментів є характерною неспецифічною реакцією рослин на умови вирощування і індикатором їх фізіологічного стану [11—14].

Важливе значення для аналізу взаємодії рослин з умовами середовища та дослідження адаптації їх до різних чинників, до умов

навколишнього середовища та стресових чинників, зокрема пестицидів (як антропічного чинника), має вивчення їхнього впливу на синтез хлорофілу, який є чутливим індикатором інтенсивності фотосинтезу та одним з важливих показників, що визначають кількість та якість урожаю. Кількість хлорофілу свідчить про забезпеченість фотосинтезу і рівень синтетичної активності рослин, проте низький вміст хлорофілу не є лімітуючим фактором для фотосинтезу. В листках з низьким вмістом хлорофілу кожна фотосинтетична одиниця використовується, в середньому, в 10 разів інтенсивніше, ніж у інтенсивно забарвлених листках. На частку органічних речовин, що утворюються в ході фотосинтезу, припадає близько 95% від маси всіх сухих речовин рослин. У фотосинтезі беруть участь стебла, листки, суцвіття, але основна роль належить листкам, в яких синтезується 60—95% загальної кількості фотосинтезованих органічних речовин [15, 16].

Мета досліджень — встановити вплив фунгіцидів на динаміку активності пероксидази, каталази та вміст хлорофілу в рослинах люпину за протруєння насіння.

Методика досліджень. Лабораторні і вегетаційні дослідження проводили в 2018—2020 рр. в лабораторії аналітичної хімії пестицидів Інституту захисту рослин. Вирощували люпин жовтий (*Lupinus luteus* L) сорту Обрій. Схема досліду:

1. Контроль (без обробки);
2. Тритіконазол, 40 г/т;
3. Тритіконазол, 40 г/т + прохлораз, 120 г/т.

Вміст фунгіцидів у рослинах визначали з використанням хроматографічних методів аналізу за офіційно затвердженими методиками та методиками, розробленими в лабораторії аналітичної хімії пестицидів [17, 18]. Вміст хлорофілу та активність пероксидази визначали колориметричним, каталази — титриметричним методами через 10, 14, 20 та 30 діб після сівби [19—21].

Результати досліджень. За результатами досліджень зафіксовано диференційовану чутливість ензиматичних систем антиоксидантного захисту (каталази, пероксидази) стосовно досліджуваних фунгіцидів. При токсикації рослин люпину тритіконазолом, на 10-ту добу після сівби його вміст становив 0,8 мг/кг, а активність пероксидази знаходилась на рівні контролю (рис. 1). Проте впродовж декади, на фоні зниження вмісту діючої речовини до 0,4 мг/кг, спостерігали поступову активацію ферменту, яка на 20-ту добу після сівби перевищувала контрольний варіант у 1,5 раза. Це може бути викликане синтезом нових ізоформ пероксидази або накопиченням субстратів ферменту, які індукують його синтез. Така активність пероксидази залишалась до 30-ї доби (фаза 7—8 листків). Активність каталази до 14-ї доби була нижчою за контроль на 30—40% і лише на 20-ту добу сягала рівня контролю, а на 30-ту — перевищувала відповідний показник контролю на 40%. Така динаміка активності основних ферментів свідчить про дисбаланс антиоксидантної системи.

За застосування комбінації тритіконазолу з прохлоразом, порушення балансу пероксидаза каталаза були більш значимими. Протягом 14-ти діб після сівби активність пероксидази перевищувала контроль лише на 9—15%, до 20-ї доби активність зростає вдвічі, порівняно з контролем, а до 30-ї доби — знижується практично до рівня контролю (рис. 2).

Активність каталази за відносно високого сумарного вмісту діючих речовин на 10-ту добу перевищувала контрольний показник на 29%, а починаючи з 14-ї доби — зменшувалася вдвічі. Зниження активності каталази, ймовірно, свідчить про зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в напрямі посилення генерації АФК у формі перекисів та конкурентної дії пероксидази. До фази 7—8 листків, як і у попередньому варіанті, за сумарного мінімального вмісту фунгіцидів (0,38 мг/кг), активність ферментів наближається до рівня

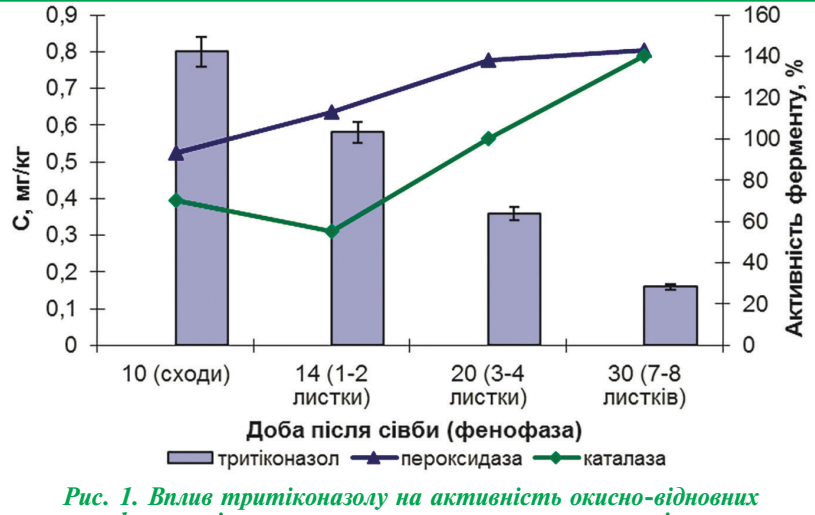

Рис. 1. Вплив тритіконазолу на активність окисно-відновних ферментів в рослинах люпину за протруєння насіння

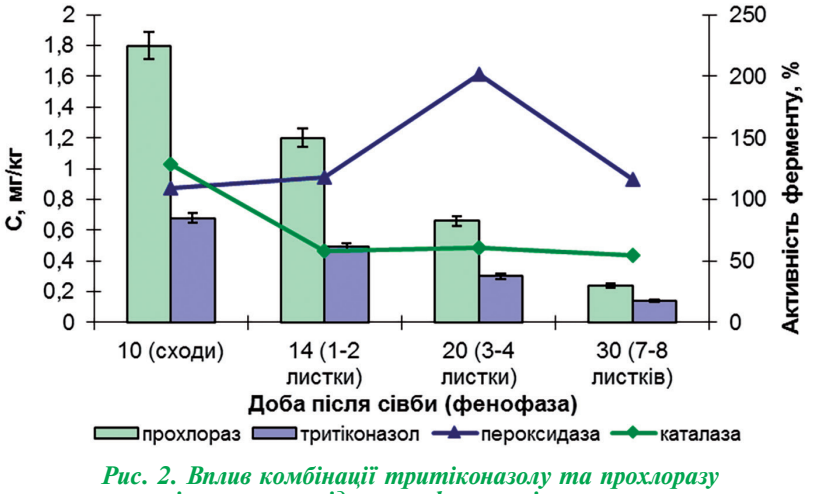

Рис. 2. Вплив комбінації тритіконазолу та прохлоразу на активність окисно-відновних ферментів в рослинах люпину за протруєння насіння

контролю, що пов'язано з відновленням гомеостазу рослинного організму та формуванням його адаптивного потенціалу до стресових чинників.

Встановлено стимулюючий вплив обох фунгіцидів на синтез хлорофілу на початкових етапах росту рослин люпину. За токсикації рослин тритіконазолом, вміст хлорофілу в листках за фазами розвитку перевищував показник контролю на 13—29% (рис. 3). У варіанті з комбінацією тритіконазолу і прохлоразу вміст зелених пігментів становив 11—23% до контролю. При цьому максимальну різниця між дослідними варіантами та контролем зафіксовано на 20-ту добу, проте слід зазначити, що достовірних змін між варіантами з протруєнням за фазами розвитку не спостерігали.

Одержані дані щодо стимулюючої дії тритіконазолу та прохлоразу на процеси синтезу пігментів та формування світловбирального комплексу збігаються з даними науковців, які констатують, що за протруювання насіння пшениці озимої комбінацією тритіконазолу та прохлоразу вміст хлорофілу у фазу кущення перевищує показник контролю на 30% [22], а при застосуванні тритіконазолу та його комбінацій з іншими діючими речовинами для протруювання насіння пшениці ярої спостерігається зростання вмісту хлорофілу та інтенсивності фотосинтезу (Radzikowska D., 2020) [23].

Отже, вміст хлорофілу, зміни активності антиоксидантних ферментів можуть бути не лише характеристикою фізіологічного стану рослин, а й слугувати критерієм їхньої адаптованості до впливу стресових факторів, зокрема фунгіцидів, як антропічного чинника.

ВИСНОВКИ

Застосування системних фунгіцидів з класу триазолів для захисту сходів сприяє покращенню фотосинтетичної діяльності рослин і водночас є стресовим фактором, що активує ферменти-протектори (каталаза, пероксидаза), які запускають розвиток захисних адаптивних реакцій рослин.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Ящук В.У., Ващенко В.М., Кривошея Р.М. та ін.* Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. Київ: Юнівест Медіа, 2016. 1023 с.

2. *Bisht R., Singariya P., Mathur N., Bohra S.P.* Triazoles: Their Effects on Net Photosynthetic Rate, Transpiration Rate and Stomatal Resistance in Setaria italica Plants grown in vivo. *Asian Journal Experimental Science*. 2007. V. 21. Issue 2. P. 271—276.

3. *Gopi R., Sridharan R., Somasundaram R.* Growth and photosynthetic characteristics as affected by triazoles in Amorphophallus campanulatus Blume. *Genetic Applied Plant Physiology*. 2005. V. 31 (3—4). P. 171—180.

4. *Fletcher, R.A., Gilley, A., Sankhla, N., Davis, T.M.* Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural. Review.* 2000. V. 24. P. 56—138.

5. *Percival G. C., Noviss K.* Triazole induced drought tolerance in horse chestnut (*Aesculus hippocastanum*). *Tree Physiology*. 2008. V. 28 (11). P. 1685—92. doi: 10.1093/treephys/28.11.1685

6. *Garcia P.C., Rivero R.M., Ruiz J.M., Romero L.* The role of fungicides in the physiology of higher plants: implications for defense responses. *The Botanical Review.* 2003. V. 69 (2). P. 162 — 172. DOI:10.1663/0006-8101(2003)069[0162:TROFIT]2.0.CO;2

7. *Parween T., Jan S., Mahmooduzzafar S. et. al.* Selective effect of pesticides on Plant. — A review. *Critical Reviews in Food and Nutrition*. 2016. V. 56:1. P. 160—179. DOI:10.1080/10408398.2013.787969

8. *Jaleel C.A., Riadh K., Gopi R. et al.* Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2009. V. 31(3), P. 427—436. https://doi.org/10.1007/s11738-009-0275-6

9. *Киргизова И.В., Гаджимурадова А.М., Омаров Р.Т.* Особенности накопления антиоксидантных ферментов у картофеля в условиях биотического и абиотического стресса. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология.* 2018. Т. 8, N 4. С. 42—54. DOI: 10.21285/2227-2925-2018-8-4-42-54

10. *Побежимова Т.П., Корсукова А.В., Дорофеев Н.В., Грабельных О.И.* Физиологические эффекты действия на растения фунгицидов триазольной природы. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология.* 2019. Т. 9, N 3. С. 461—476. DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-3-461-476

11. *Колупаєв Ю.Є., Обозний О.І.* Активні форми кисню і антиоксидантна система при перехресній адаптації рослин до дії абіотичних стресорів. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія.* 2013. Вип. 3 (30). С. 18—31.

12. *Ahmad P., Jaleel C. A., Salem M.A. et al.* Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology.* 2010. Volume 30 (3). P. 161—175 https://doi.org/10.3109/07388550903524243

13. *Jaspers P., Kangasjärvi J.* Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiologia Plantarum*. 2010. V. 138. No. 4. P. 405—413. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01321.x

14. *Gill S.S., Tuteja N.* Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology Biochemistry*. 2010. V. 48 (12). P. 909—30. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016.

15. *Petit A.-N., Fontaine F., Vatsa P. et. al.* Fungicide impacts on photosynthesis in crop plants. *Photosynthesis Research*. 2012. V. 111 (3). P. 315—326. DOI: 10.1007/s11120-012-9719-8

16. *Андриянова Ю.А., Тарчевский И.А.* Хлорофилл и продуктивность растений. Москва: Наука, 2000. 135 с.

17. *Рева Н.И., Михайлов В.С.* Методические указания по определению тритиконазола в воде, почве, зерне пшеницы методами газожидкостной и тонкослойной хроматографии. № 80—97. *Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и внешней среде.* 2000. № 27. С. 207—211.

18. *Кузнецова Е.М., Гринько А.П., Оверченко Н.П.* Методические указания по определению прохлораза в зерне зерновых культур хроматографическими методами. *Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и внешней среде.* 2001. № 31. С. 84—89.

19. *Починок Х.Н.* Методы биохимического анализа растений. Киев: Наукова думка, 1976. 336 с.

20. *Борисова Г.Г, Малеева М.Г., Некрасова Г.Ф., Чукина Н.В.* Методы оценки антиоксидантного статуса растений: учебно-методическое пособие. Екатеринбург: Изд-во Урал. Ун-та, 2012. 72 с.

21. *Агрохімічний* аналіз: підручник ; за ред. М.М. Городнього. Київ: Арістей, 2005. 468 с.

22. *Белошапкина О.О., Акимов Т.А.* Комплексная оценка эффективности фунгицидных протравителей озимой пшеницы in vitro и в полевых условиях. *Теоретические и практические проблемы АПК.* 2016. №1. с. 58—63.

23. *Radzikowska D., Grzanka M., Kowalczewski P.L. et. al.* Influence of SDHI seed treatment on the physiological conditions of spring barley seedlings under drought stress. *Agronomy*. 2020. V. 10 (5). P. 731. https://doi.org/10.3390/agronomy10050731

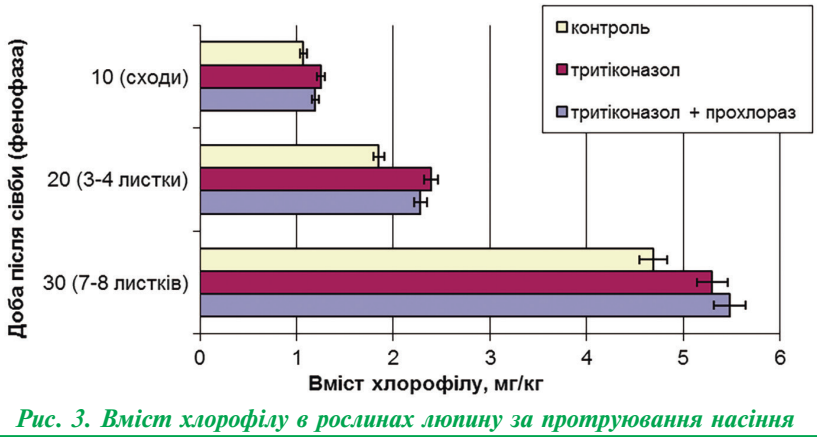

Рис. 3. Вміст хлорофілу в рослинах люпину за протруювання насіння

Борзых А.И., Цуркан О.В., Червякова Л.Н., Панченко Т.П.
Институт защиты растений НААН, ул. Васильковская, 33, г. Киев, Украина, 03022, *e-mail: lac_ipp@ukr.net*

Влияние фунгицидов на ферментативную активность антиоксидантной системы и содержание хлорофилла в растениях люпина при протравливании семян

Цель. *Установить влияние фунгицидов на динамику активности пероксидазы, каталазы и содержание хлорофилла в растениях люпина при протравливании семян.* **Методы**. *Лабораторные и вегетационные исследования проводили в лаборатории аналитической химии пестицидов Института защиты растений. Выращивали люпин желтый (Lupinus luteus L.), сорт Обрий. Объектами исследований были фунгициды тритиконазол (40 г/т) и его комбинация с прохлоразом (120 г/т). Содержание фунгицидов в растениях определяли с использованием хроматографических методов анализа по официально утвержденным методикам и методикам, разработаным в лаборатории аналитической химии пестицидов. Содержание хлорофилла и активность пероксидазы определяли колориметрическим, каталазы — титриметрическим методами.* **Результаты.** *Зафиксирована дифференцированная чувствительность ферментативных систем антиоксидантной защиты (каталазы, пероксидазы) в отношении исследуемых фунгицидов. При токсикации растений люпина тритиконазолом, на 10-й день после посева его содержание составляло 0,8 мг/кг, а активность пероксидазы была на уровне контроля. В дальнейшем, на фоне снижения содержания действующего вещества, наблюдали постепенную активацию фермента. Активность каталазы, начиная с 14-го дня, также постепенно увеличивалась и на 30-й день превышала соответствующий показатель контроля на 40%. При применении комбинации тритиконазола с прохлоразом, нарушение баланса пероксидаза↔каталаза было более значимым. Однако к фазе 7—8 листков, при минимальном суммарном содержании фунгицидов (0,38 мг/кг), активность ферментов приближалась к уровню контроля, что связано с восстановлением гомеостаза растительного организма и формированием его адаптивного потенциала в стрессовых условиях. Установлено стимулирующее влияние фунгицидов на синтез хлорофилла на начальных этапах роста растений, количество которого по фазам развития превышало показатель контроля на 11—29%.* **Выводы.** *Применение системных фунгицидов из класса триазолов для защиты всходов способствует улучшению фотосинтетической деятельности растений и одновременно выступает стрессовым фактором, который активирует ферменты-протекторы (каталаза, пероксидаза), запускающие развитие защитных адаптивных реакций растений.*

фунгициды, протравители, хлорофилл, пероксидаза, каталаза

Borzykh O., Tsurkan O., Chervyakova L., Panchenko T.
Institute of Plant Protection of NAAS,
33, Vasylkivska str., Kyiv, 03022, Ukraine,
e-mail: lac_ipp@ukr.net

Effect of fungicides on the enzymatic activity of the antioxidant system and the chlorophyll content in lupine plants during seed dressing

Goal. *The effect of fungicides on the dynamics of the activity of peroxidase, catalase (CAT) and chlorophyll content in lupine plants during seed dressing has been established.* **Methods**. *Laboratory and vegetation researches were conducted in the laboratory of analytical chemistry of pesticides of the Institute of Plant Protection. Yellow lupine (Lupinus luteus L.), variety Obriy has been grown. The objects of research were fungicides triticonazol (40 g/t) and its combination with prochloraz (120 g/t). Determination of the content of fungicides in plants was carried out using chromatographic methods according to officially approved methods and methods developed in the laboratory of analytical chemistry of pesticides. Chlorophyll content and peroxidase activity were measured by colorimetric method, catalase activity — by titrimetric method.* **Results.** *According to the research results, the varying sensitivity of the enzymatic system of antioxidant defense (catalase, peroxidase) in response to seed dressing by fungicides was recorded. It showed that on the 10th day after sowing, content of triticonazol in plants was 0.8 mg/kg, and the peroxidase activity was similar to that in untreated plants. Subsequently, against the background of a decrease in the content of the active substance, a gradual activation of the enzyme was observed. Catalase activity also gradually increased beginning from the 14th day, and on the 30th day it exceeded the corresponding control indicator by 40%. When using a combination of triticonazol with prochloraz, the disturbance in the balance of peroxidase↔catalase was more significant. However, by the phase of 7—8 leaves, with a minimal total content of fungicides (0.38 mg/kg), the enzyme activity approached the control level, which is associated with the restoration of plant homeostasis and the formation of its adaptive potential under stress conditions. The stimulating effect of these fungicides on chlorophyll content at the initial growth stages of lupine was established. The chlorophyll concentration in fungicides-treated plants exceeded the control indicator by 11—29%.* **Conclusions.** *The use of systemic triazole fungicides to protect seedlings, improves the photosynthetic activity of plants and at the same time acts as a stress factor that activates protecting enzymes (catalase, peroxidase), which trigger the development of protective adaptive reactions of plants.*

fungicides, seed dressing, chlorophyll, peroxidase, catalase

Рецензент:
О.В. Шевчук,
кандидат сільськогосподарських наук
Інститут захисту рослин НААН
Надійшла 31.08.2020 р.

Вітаємо!

Відзначила свій ювілей ***Джам Майя Анатоліївна*** *— вчений і спеціаліст у галузі фітопатології та захисту рослин, кандидат сільськогосподарських наук. Народилася 21 липня 1970 року в с. Івановичі Червоноармійського району Житомирської області. В 1993 р. закінчила факультет захисту рослин Національного аграрного університету, після чого свою трудову та наукову діяльність пов'язала з Інститутом захисту рослин НААН. Спочатку — агроном I категорії, з 2001 р. — науковий співробітник відділу захисту зернових культур від хвороб та шкідників, з 2010 р. — старший науковий співробітник лабораторії фітопатології.*

Майя Анатоліївна визначила поширення та розвиток фузаріозу колоса на пшениці озимій, тритікале та житі в Поліссі України, дослідила видовий склад збудників фузаріозу, встановила зв'язок між ступенем розвитку хвороби, видовим складом та метеорологічними умовами. Оцінила шкідливість фузаріозу колоса за ураження різними видами патогенів, вивчила ефективність сучасного асортименту фунгіцидів для захисту зернових культур від цієї хвороби за умов штучного інфекційного фону та польових дослідів, визначила вміст мікотоксинів у зерні при застосуванні захисних засобів. На підставі одержаних матеріалів підготувала і в 2005 р. успішно захистила дисертацію за темою «Особливості розвитку фузаріозу колоса зернових колосових культур в умовах Полісся України та вдосконалення захисних заходів».

Нині основними напрямами досліджень М.А. Джам є: вивчення особливостей біології збудників найбільш шкідливих хвороб зернових культур; виявлення особливостей формування епіфітотій найнебезпечніших хвороб основних сільськогосподарських культур; формування та вдосконалення асортименту протруйників та фунгіцидів; обґрунтування раціонального застосування фунгіцидів в інтегрованих системах захисту рослин; вдосконалення систем інтегрованого захисту вирощуваних культур від хвороб.

Майя Анатоліївна Джам є автором 20-ти опублікованих наукових праць, зокрема 2-х рекомендацій. Має деклараційний патент на винахід.

Співробітники Інституту захисту рослин НААН щиро бажають Майї Анатоліївні міцного здоров'я, бадьорості, родинного щастя, творчого натхнення та нових наукових досягнень.