

**УДК 581.132:632.954:633.15**

## **ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ ТА ТБК-АКТИВНИХ РЕЧОВИН У РОСЛИН СОЇ ЗА СУМІСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ГЕРБІЦИДІВ ТА МІКРОДОБРІВ**

*Радченко М.П., Сорокіна С.І, Гуральчук Ж.З., Мордерер Є.Ю.*

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ, Україна  
E-mail: trapanytsya.ifrg@i.ua*

Вивчали вміст фотосинтетичних пігментів та ТБК-активних речовин за сумісного застосування добрив нутривант плюс олійний та реаком-СР-бобові з баковими сумішами гербіцидів пульсар та хармоні. Безпосередньо після обробки рослин сої сумішшю гербіцидів хармоні 3 г/га + пульсар 0,5 л/га спостерігалось зменшення сумарного вмісту хлорофілів, каротиноїдів та незначне підвищення вмісту ТБК-активних речовин, що є свідченням окиснювального стресу. Застосування добрив нутривант плюс олійний у бакових сумішах для обприскування рослин зменшувало негативну дію гербіцидів на вміст фотосинтетичних пігментів. Особливо ефективним у підвищенні вмісту хлорофілів  $a+b$  та каротиноїдів у листках сої було добриво нутривант плюс олійний у дозі 2 кг/га, застосоване у баковій суміші з гербіцидами. Окрім цього, за його дії у суміші з гербіцидами спостерігалось зменшення вмісту ТБК-активних речовин, порівняно з окремим застосуванням гербіцидів, що є свідченням зменшення окислювального стресу, викликаного дією гербіцидів.

**Ключевые слова:** стрес, мікродобрива, гербіциди, соя.

### **ВСТУП**

Висока чутливість сої до забур'янення [1] і необхідність оптимального забезпечення даної культури усіма елементами живлення [2, 3] створює потребу у сумісному застосуванні гербіцидів з мікродобривами. Нашими попередніми дослідженнями було показано, що безпосередньо після застосування бакових сумішей гербіцидів інгібіторів ацетолактатсинтази (АЛС) пульсар та хармоні з добривами нутривант плюс олійний та реаком-СР-бобові спостерігалось короточасне пригнічення азотфіксувальної активності сої. Однак в подальшому мікродобрива позитивно впливали на утворення бульбочок, їх масу та азотфіксувальну активність [4].

Зміни у вмісті та активності компонентів прооксидантно-антиоксидантної рівноваги є загалом необхідною умовою формування бобово-ризобіального симбіозу. Рослини реагують на інфікування бульбочковими бактеріями, як і у відповідь на дію патогенів, до тих пір, поки бактерія не визнається корисною для симбіозу [5,6]. Однак будь-які зміни в стані прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у рослин бобових, викликані дією абіотичних стресорів, є небажаними для формування симбіозу [7]. Виходячи з того, що нами було попередньо показано певний кореляційний зв'язок між ефективністю бобово-ризобіального симбіозу та

вмістом і активністю компонентів прооксидантно-антиоксидантної рівноваги за дії гербіцидів [8], виникло питання – як змінюватимуть добрива стресову відповідь рослин на дію гербіцидів. В зв'язку з вищезазначеним, метою нашої роботи було дослідити вміст фотосинтетичних пігментів та ТБК-активних речовин рослин сої за впливу сумісного застосування добрив нутривант плюс олійний та реаком-СР-бобові з баковими сумішами гербіцидів інгібіторів АЛС.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Досліди проводили на вегетаційному майданчику Інституту фізіології рослин і генетики НАН України при вологості субстрату 60% і природному освітленні. Рослини сої вирощували по 6-8 штук у пластикових посудинах на 8 кг ґрунту, збагаченому сумішшю Гельрігеля, яка містила 0,25 н азоту (1 норма відповідає 708 мг  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  на 1 кг ґрунту). Перед посівом насіння сої сорту Васильківська стерилізували 70% розчином етанолу, промивали проточною водою та протягом 1 години інокулювали суспензією штаму *Bradyrhizobium japonicum* 6346.

У досліді використовували наступні гербіцидні препарати: пульсар 40, в.р. (водний розчин) (імазамокс, 40 г/л), виробництва компанії БАСФ, хармоні 75, в.г. (водорозчинні гранули (тифенсульфурон-метил, 750 г/кг), виробництва компанії Дюпон.

Нутривант плюс олійний – водорозчинне комплексне добриво для позакореневого підживлення сої та інших олійних культур виробництва міжнародного концерну “ICL Fertilizers”. До його складу входять  $\text{P}_2\text{O}_5$  – 20 %,  $\text{K}_2\text{O}$  – 33 %,  $\text{MgO}$  – 1 %, S – 7,5 %, В – 1,5 %, Мо – 0,001 %, Zn – 0,02 %, Mn – 0,5 % та прилипач фертівант. Добриво для бобових реаком-СР-бобові вітчизняного виробництва містить (г/л):  $\text{P}_2\text{O}_5 \geq 45$ ,  $\text{K}_2\text{O} \geq 60$ , S  $\geq 7$ , Zn – 6-8, Cu – 3-7, В – 5-9, Mn – 8-15, Мо – 4-8, Со – 0,6-3, Fe – 10.

Дослід закладали за наступною схемою:

| №  | Варіант                                    | Норма внесення              |
|----|--|-----------------------------|
| 1  | Контроль                                   | -                           |
| 2  | Хармоні + пульсар                          | 3 г/га + 0,5 л/га           |
| 3  | Нутривант плюс олійний                     | 2 кг/га                     |
| 4  | Нутривант плюс олійний                     | 3 кг/га                     |
| 5  | Реаком-СР-бобові                           | 2 л/га                      |
| 6  | Реаком-СР-бобові                           | 4 л/га                      |
| 7  | Хармоні + пульсар + нутривант плюс олійний | 3 г/га + 0,5 л/га + 2 кг/га |
| 8  | Хармоні + пульсар + нутривант плюс олійний | 3 г/га + 0,5 л/га + 3 кг/га |
| 9  | Хармоні + пульсар + реаком-СР-бобові       | 3 г/га + 0,5 л/га + 2 л/га  |
| 10 | Хармоні + пульсар + реаком-СР-бобові       | 3 г/га + 0,5 л/га + 4 л/га  |

Вміст фотосинтетичних пігментів визначали методом екстракції наважки рослинного матеріалу в ДМСО на водяній бані при  $67^\circ\text{C}$  протягом 3 годин [9]. Вміст ТБК-активних продуктів визначали фотометрично за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (0,67% ТБК) [10]. Наважку рослинного матеріалу гомогенізували сумішшю 0,1M NaCl та 10% ТХО і центрифугували 10 хв. при 2500 об/хв. До

надосадової речовини додавали ТБК (в співвідношенні 3:1) і переносили на водяну баню на 10 хв. (100°C). Оптичну густина визначали при 535 нм. Вміст фотосинтетичних пігментів розраховували в мкг/мг маси сирової речовини, а ТБК-активних речовин в мкг/г сирової речовини.

Статистична обробка результатів здійснювалася за допомогою стандартного комп'ютерного пакету Microsoft Excel (середнє арифметичне, стандартне відхилення, кореляційний аналіз). При проведенні біохімічних аналізів біологічна повторність в межах кожного експерименту була 3-разовою, крім того кожен дослід відтворювали незалежно 2-3 рази.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дія гербіцидів хармоні і пульсар на 13 добу після обробки призводила до зменшення сумарної кількості хлорофілів  $a+b$  в листках сої (рис.1, ряд 1). Застосування добрив нутривант плюс олійний і реаком-СР-бобові у бакових сумішах для обприскування рослин зменшувало негативну дію гербіцидів на вміст хлорофілів. Особливо ефективним у підвищенні вмісту хлорофілів  $a+b$  у листках сої було добриво нутривант плюс олійний у дозі 2 кг/га, застосоване у баковій суміші з гербіцидами (варіант 7).

Дані (рис.1, ряд 1) по визначенню вмісту хлорофілів на початкових етапах після обробки слабо корелюють (коефіцієнт кореляції - « - 0,15») з показниками питомої азотфіксувальної активності кореневих бульбочок, оскільки гербіциди хармоні і пульсар не впливали на її величину, а застосування добрив разом з гербіцидами на початкових етапах призводило до пригнічення питомої азотфіксувальної активності [4]. Однак, отримані нами дані щодо негативного впливу гербіцидів на початкових етапах після обробки на вміст пігментів, як і отримані раніше дані по негативному впливу добрив у сумішах з гербіцидами [4], мали очевидно тимчасовий характер.

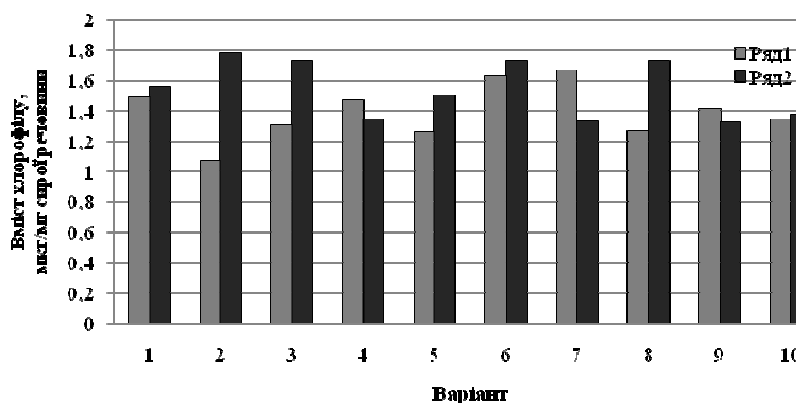


Рис. 1. Дія гербіцидів і добрив на вміст хлорофілів  $a+b$  у листках рослин сої. Вегетаційний дослід, фаза початок цвітіння : *ряд 1*- 13-й день після обробки; *ряд 2* – 19 день після обробки. Варіанти – див. схему дослід. Стандартне відхилення від наведених середніх значень не перевищувало 10 %.

Так, при визначенні вмісту хлорофілів вже на 19-й день після обробки, ми не спостерігали негативного впливу гербіцидів (рис.1, ряд 2). Навіть навпаки, за дії гербіцидів спостерігалась тенденція до збільшення їх кількості в листках сої, що скоріш за все є проявом компенсаторного ефекту. При застосуванні гербіцидів сумісно з мікродобривами, які, як було зазначено вище, зменшували втрати хлорофілу й каротиноїдів на початкових етапах і, відповідно, у цих варіантах компенсаторного зростання вмісту пігментів не спостерігалось, за винятком добрива нутривант плюс олійний в дозі 3 кг/га. Слід зауважити той факт, що в окремих варіантах, і застосування одних лише добрив призводило до певного зменшення вмісту пігментів, що можливо пов'язано з певною стресовою реакцією рослин сої навіть на обробку добривами.

Аналогічно до вмісту хлорофілів  $a+b$ , кількість каротиноїдів у листках сої на 13-й день після обробки рослин гербіцидами хармоні і пульсар також зменшилася (рис. 2, ряд 1). Додавання до бакової суміші гербіцидів добрив нутривант плюс олійний і реаком-СР-бобові у дозах зокрема 2 кг/га і 2 л/га зменшувало негативний ефект гербіцидів і підвищувало вміст каротиноїдів до рівня, що перевищував контроль. Очевидно такий антидотний ефект добрив у даних варіантах може бути пов'язаний з антиоксидантною дією каротиноїдів. Як компоненти неферментативної антиоксидантної системи, вони захищають клітинні структури від впливу активних форм кисню [11], блокуючи утворення, зокрема, синглетного кисню і, таким чином, забезпечують захист фотосинтетичного апарату. Каротиноїди також служать в якості попередників сигнальних молекул, які впливають на розвиток у рослин відповіді на дію біотичних / абіотичних стресорів [12]. При застосуванні більших доз цих добрив антидотний ефект був трохи меншим і вміст каротиноїдів не відрізнявся від контролю. Уже на 19-й добу після обробки ми не спостерігали негативного впливу гербіцидів і на вміст каротиноїдів як і на вміст хлорофілів, а сумісне застосування гербіцидів з добривами призводило навіть до зменшення вмісту даних пігментів, що очевидно пов'язано з їх затратами на захист рослин на ранніх етапах після обробки(рис. 2., ряд 2).

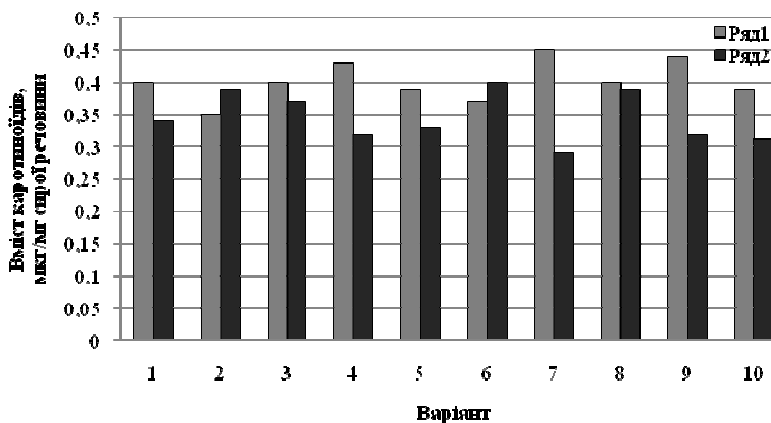


Рис. 2. Дія гербіцидів і добрив на вміст каротиноїдів у листках рослин сої. Вегетаційний дослід, фаза початок цвітіння : *ряд 1*- 13-й день після обробки; *ряд 2* – 19 день після обробки. Варіанти – див. схему досліді. Стандартне відхилення від наведених середніх значень не перевищувало 10 %.

Для оцінки стресової реакції рослин на проведену нами обробку гербіцидами і добривами визначали вміст ТБК-активних речовин у листках сої. Показано, що на 13-й день після обробки гербіцидами хармоні 3 г/га і пульсар 0,5 л/га кількість ТБК-активних сполук в листках сої зросла на 22 % і становила 2,14 мкг/г сирової речовини проти 1,75 у контролі, що може свідчити про наявні ознаки стресової реакції рослин на обробку гербіцидами (рис.3). Позакореневе застосування одних лише добрив нутривант плюс олійний і реаком-СР-бобові на даному етапі не викликало додаткової появи ТБК-активних речовин у листках сої, за виключенням хіба що добрива реаком-СР-бобові у вищій дозі (4 л/га). За внесення у бакових сумішах з гербіцидами добрива нутривант плюс олійний і реаком-СР-бобові у дозах відповідно 2 кг/га і 2 л/га спостерігали зменшення вмісту ТБК-активних речовин порівняно із окремим застосуванням гербіцидів - приблизно до рівня контролю, що може бути проявом зменшення негативної реакції рослин на обробку гербіцидами при внесенні добрив.

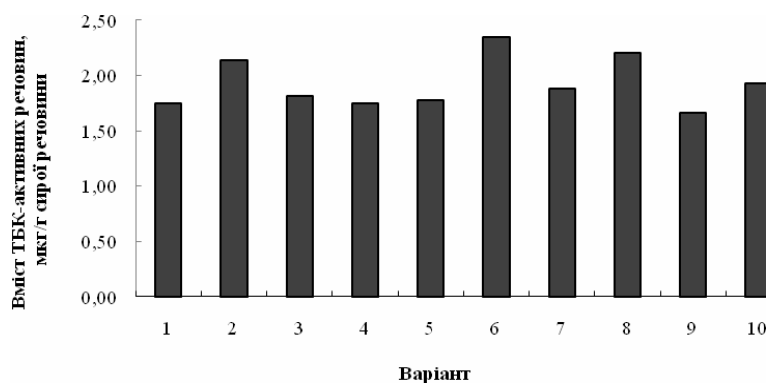


Рис. 3. Дія гербіцидів і добрив на вміст ТБК-активних речовин у листках рослин сої. Вегетаційний дослід, фаза початок цвітіння (13-й день після обробки). Варіанти – див. схему дослід. Стандартне відхилення від наведених середніх значень не перевищувало 10 %.

Позитивний ефект добрив у зменшенні фітотоксичної дії гербіцидів у певних варіантах наших досліджень може бути пов'язаний з тим, що мікроелементи, які входять до їх складу можуть сприяти синтезу та активації речовин антиоксидантної природи і таким чином відігравати важливу роль у детоксикації гербіцидів. Так, деякі сполуки, що містять тиольні (-SH) групи, зокрема глутатіон, відіграють значну роль у детоксикації ксенобіотиків, і в першу чергу гербіцидів [13-14]. Оскільки загалом у наших експериментах був більш виражений позитивний вплив добрива нутривант плюс олійний на фоні гербіцидного навантаження, то можливо, частково це було пов'язано з наявністю більшої кількості сірки у його складі.

## ВИСНОВКИ

1. Безпосередньо на 13 добу після обробки рослин сої сумішшю гербіцидів хармоні 3 г/га + пульсар 0,5 л/га спостерігалось зменшення сумарного вмісту хлорофілів

та підвищення вмісту ТБК-активних речовин, що є свідченням незначного окислювального стресу.

2. Застосування добрив нутривант плюс олійний і реаком-СР-бобові у бакових сумішах для обприскування рослин зменшувало негативну дію гербіцидів на вміст хлорофілів.
3. Особливо ефективним у підвищенні вмісту хлорофілів  $a+b$  у листках сої було добриво нутривант плюс олійний у дозі 2 кг/га, застосоване у баковій суміші з гербіцидами.
4. Окрім цього, за його дії у суміші з гербіцидами спостерігалось зменшення вмісту ТБК-активних речовин, які є одними з кінцевих продуктів реакції пероксидного окиснення ліпідів, порівняно з окремим застосуванням гербіцидів. Такий результат є свідченням зменшення окислювального стресу, викликаного дією гербіцидів інгібіторів АЛС.

### Список літератури

1. Первачук М.В. Шкодочинність бур'янів та заходи захисту сої від них в Лісостепу України: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с-г. наук: спец. 06.01.13 "Гербологія" / М.В. Первачук. – К., 2003. – 21 с.
2. Жизневская Г.Я. Медь, молибден и железо в азотном обмене бобовых растений / Жизневская Г.Я. – М.: Наука, 1972. – 336 с.
3. Коць С.Я. Мінеральні елементи і добрива у живленні рослин / С.Я. Коць, Н.В. Петерсон. – К.: Логос, 2005. – 150 с.
4. Гуральчук Ж.З. Азотфіксувальна активність сої за сумісного застосування гербіцидів і мікродобрив / Ж.З. Гуральчук, С.І. Сорокіна, О.П. Родзевич, Є.Ю. Мордерер // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2012. – Том 25 (64), № 4. – С. 34-41.
5. Baron C. The plant response in pathogenesis, symbiosis, and wounding: variations on a common theme? / C. Baron, P. Zambryski // Annual Review of Genetics. – 1995. – 29. – P. 107-129.
6. Паланиця М.П. Активні форми кисню та їх трансформація при формуванні бобово-ризобіального симбіозу за дії гербіцидів / М.П. Паланиця, С.І. Сорокіна, Є.Ю. Мордерер // Физиология и биохимия культурных растений. – 2012. – Том 44, №4. – С. 302-311.
7. Активність НАДФН-оксидазы в корнях проростков гороха при ризобіальній інфекції в залежності від діяння неблагоприятних факторів / А.К. Глянько, Г.Г. Васильева, А.А. Ищенко [та ін.] // Вісн. Харків. нац. ун-ту. – 2008. – Вип. 3(15). – С. 6-14.
8. Стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у рослин сої за дії синергічної суміші гербіцидів пульсар та хармоні / Є.Ю.Мордерер, С.І. Сорокіна, М.П. Паланиця [та ін.] // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2011. – Том 5, №2. – С. 105-112.
9. Wellburn A.R. The spectral determination of chlorophylls a and as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolutions // J. Plant Physiol. – 1994. – Vol. 144, No 3. – P. 307-313.
10. Bieri J. Peroxidation of lipids in tissue homogenates as related to vitamin E / J. Bieri, A. Anderson // Arch. Bioch. Biophys. – 1960. – 1. – P.105-110.
11. Young J. The photoprotective role of carotenoids in higher plants // Physiologia Plantarum. – 1991. – Vol. 83, No 4. – P. 702-708.
12. Vallabhaneni F.R. The maize phytoene synthase gene family: overlapping roles for carotenogenesis in endosperm, photomorphogenesis, and thermal stress tolerance / F.R. Vallabhaneni, J.T. Rocheford, E.T. Wurtzel // Plant Physiology. – 2008. – Vol. 147, No 3. – P. 1334-1346.
13. Neufeind T. Plant glutathione S-transferases and herbicide de-toxification / T. Neufeind, P. Reinemer, B. Bieseler // Biol. Chem. – 1997. – Vol. 378. – P. 199-205.

14. Noctor G. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control / G. Noctor, C. Foyer // *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* – 1998. – Vol. 49. – P. 249-279.

**Радченко М.П. Содержание фотосинтетических пигментов и ТБК-активных веществ у растений сои при совместном применении гербицидов и микроудобрений / М.П. Радченко, С.И. Сорокина, Ж.З. Гуральчук, Е.Ю. Мордерер // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 1. – С.172-178.**

Изучали содержание фотосинтетических пигментов и ТБК-активных веществ при совместном применении удобрений нутривант плюс масличный и реком-СР-бобовые с баковыми смесями гербицидов пульсар и хармони. Непосредственно после обработки растений сои смесью гербицидов хармони 3 г / га + пульсар 0,5 л / га наблюдалось уменьшение суммарного содержания хлорофиллов, каротиноидов и незначительное повышение содержания ТБК-активных веществ, что является свидетельством окислительного стресса. Применение удобрений нутривант плюс масличный и в баковых смесях для опрыскивания растений уменьшало негативное воздействие гербицидов на содержание фотосинтетических пигментов. Особенно эффективным в повышении содержания хлорофиллов а + b и каротиноидов в листьях сои было удобрение нутривант плюс масличный в дозе 2 кг/га, примененное в баковой смеси с гербицидами. Кроме этого, за его действия в смеси с гербицидами наблюдалось уменьшение содержания ТБК-активных веществ, по сравнению с отдельным применением гербицидов, что является свидетельством уменьшения окислительного стресса, вызванного действием гербицидов.

**Ключевые слова:** стресс, микроудобрения, гербициды, соя.

**Radchenko M.P. Content of photosynthetic pigments and TBA-active substances in soybean plants at combined application of herbicides with microfertilizers / M.P. Radchenko, S.I. Sorokina, Zh.Z. Guralchuk, Ye.Yu. Morderer // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 1. – P. 172-178.**

The content of photosynthetic pigments and TBA-active substances by combined use of fertilizers nutritant plus oil and reacom-SR-bean in tank mixtures with herbicides pulsar and harmony were studied. Immediately after treatment of soybean plants with a mixture of herbicides harmony 3 g / ha + pulsar 0.5 l / ha, a decrease in the total content of chlorophylls, carotenoids and slight increase of TBA-active substances were observed. The application of fertilizer nutritant plus oil in tank mixtures for spraying plants decrease the effects of herbicides on photosynthetic pigments content. Especially effective in increasing chlorophyll *a+b* and carotenoids in soybean leaves was fertilizer nutritant plus oil at a dose of 2 kg / ha applied in tank mixtures with herbicides. In addition, for his actions in a mixture of herbicides the content of TBA-active substances decreased compared to individual use of herbicides, which proves reducing oxidative stress caused by the action of herbicides.

**Keywords:** stress, microfertilizers, herbicides, soybean.

*Поступила в редакцию 16.02.2013 г.*