

УДК 581.132:632.954:633.15

ЗМЕНШЕННЯ АНТАГОНІЗМУ В СУМІШАХ ГЕРБІЦИДІВ ЗА ДОПОМОГОЮ СПЕЦИФІЧНОГО ІНГІБІТОРА АКТИВНОСТІ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ

Радченко М.П., Сичук А.М., Мордерер Є.Ю.

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

Вивчали вплив специфічного інгібітору активності супероксиддисмутази на характер взаємодії у баковій суміші гербіцидів інгібіторів ацетил-КоА-карбоксилази та ацетолактатсинтази. Встановлено, що фітотоксична дія гербіциду інгібітору ацетил-КоА-карбоксилази - феноксапроп-*p*-етилу на рослини вівса антагоністично зменшується у сумішах з гербіцидом інгібітором ацетолактатсинтази. При додаванні інгібітору активності супероксиддисмутази характер взаємодії у суміші гербіцидів змінювався з антагоністичного на адитивний. Зроблено висновок, що антагоністичне зменшення фітотоксичності гербіцидів інгібіторів ацетил-КоА-карбоксилази у сумішах може бути зумовлено зростанням активності антиоксидантного фермента супероксиддисмутази, яке пов'язане зі стресовою реакцією рослин на дію інших гербіцидів.

Ключові слова: гербіциди, характер взаємодії гербіцидів у сумішах, інгібітор супероксиддисмутази..

ВСТУП

Гербіциди інгібітори ацетил-КоА-карбоксилази (АКК) утворюють групу так званих грамініцидів, оскільки завдяки особливостям цього ферменту їх фітотоксична дія спрямована виключно на рослини з родини тонконогових/злакових. Обмеженість спектра дії грамініцидів зумовлює необхідність їх комплексного застосування з гербіцидами, ефективними проти дводольних видів бур'янів. Однак при застосуванні грамініцидів у бакових сумішах з іншими гербіцидами, ефективність контролювання злакових бур'янів антагоністично зменшується [1, 2]. Найбільші проблеми, пов'язані з антагоністичною взаємодією, мають місце для грамініцидів, які застосовуються в посівах зернових колосових для знищення однорічних злакових видів бур'янів, зокрема для препарату пума супер. Антагоністичні втрати ефективності виключають можливість застосування пуми супер у сумішах з синтетичними ауксинами [3, 4]. Застосування пуми супер у сумішах з гербіцидами інгібіторами ацетолактатсинтази (АЛС), зокрема з препаратом гроділ максі, можливе [5], однак характер взаємодії також є антагоністичним, що в певних умовах може зменшити ефективність контролювання злакових бур'янів.

Вивчення фізіологічної природи антагонізму показало, що він не пов'язаний зі змінами у надходженні, транслокації, та детоксикації грамініцидів, а також із

зменшенням ступеня інгібування активності АКК [6]. З цього випливає, що антагоністичне зменшення фітотоксичності грамініцидів може бути зумовлено тільки змінами у проходженні індукованого патогенезу [7, 8]. Нами було встановлено, що розвиток фітотоксичної дії грамініцидів пов'язаний з утворенням активних форм кисню [9]. Отримані результати дозволили зробити припущення, що ефективність дії грамініцидів залежить від стану проксидантної-антиоксидантної рівноваги, а антагоністичне зменшення їх фітотоксичності у бакових сумішах зумовлено зростанням активності антиоксидантних систем, зокрема активності супероксиддисмутази (СОД), пов'язаним зі стресовою реакцією рослин на дію гербіцидів інгібіторів АЛС. У зв'язку з цим, метою даної роботи було вивчення впливу селективного інгібітору активності СОД на характер взаємодії у баковій суміші гербіцидів інгібіторів АКК та АЛС.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Рослини вівса сорту Чернігівський використовували в якості тест-об'єкта як модель чутливого до грамініциду феноксапроп-*p*-етилу (ФП) однорічного злакового бур'яну вівсюга звичайного (*Avena fatua* L.). Досліди проводили на вегетаційному майданчику Інституту фізіології рослин і генетики НАН України при вологості субстрату 60% і природному освітленні. Обробку рослин гербіцидами здійснювали шляхом занурення листків рослин на 5 хвилин у робочий розчин відповідних гербіцидів. В окремих варіантах досліджували вплив на фітотоксичність гербіцидів інгібітора СОД – диетилдитіокарбому (ДДК) [10]. Вміст фотосинтетичних пігментів визначали методом екстракції наважки рослинного матеріалу в ДМСО [11].

Для проведення досліджень використовували наступні гербіцидні препарати: пума супер (феноксапроп-*p*-етил, 69 г/л + антидот фенхлоразон-етил), гроділ максі (амідосульфурон, 100 г/л + йодосульфуронметил натрію, 25г/л + антидот мефенпірдиетил, 250г/л).

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

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

За дії суміші грамініциду ФП з інгібіторами АЛС (концентрацію інгібіторів АЛС характеризували концентрацією амідосульфурону (АСФ)) спостерігався антагоністичний характер взаємодії (рис. 1).

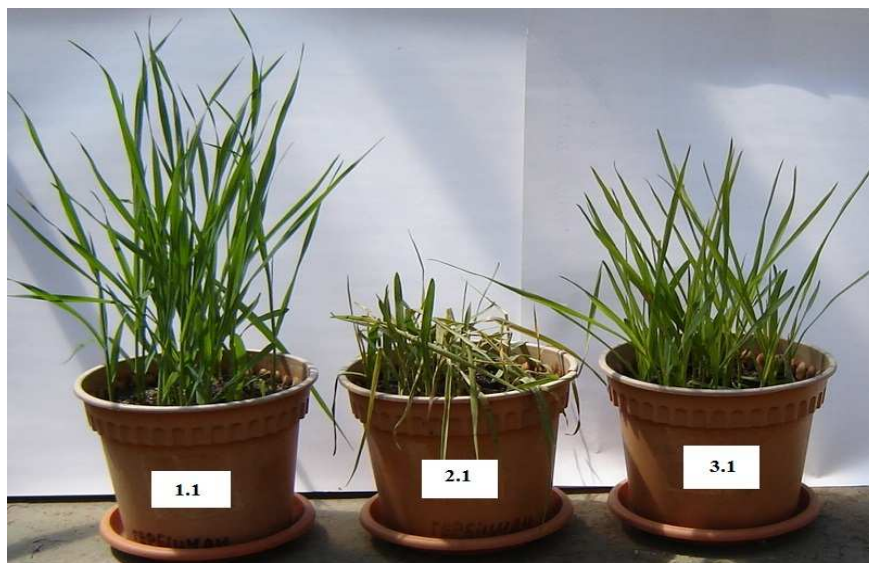


Рис.1. Загальний вигляд рослин вівса на 7 добу після обробки гербіцидами. Варіанти: 1.1.- контроль, 2.1.- ФП ($5 \cdot 10^{-4}$ М), 3.1.- ФП + АСФ ($5 \cdot 10^{-5}$ М).

Так, при додаванні до ФП інгібіторів АЛС інгібуюча дія на рослини вівса на 12 добу після обробки рослин становила $49 \pm 3\%$, в той час як за дії одного ФП вона дорівнювала $68 \pm 5\%$. Свідченням антагонізму у суміші було і підвищення вмісту фотосинтетичних пігментів, порівняно з дією одного ФП (таблиця 1). Так, порівняно з варіантом, де застосовувався один ФП, у варіанті за дії суміші вміст хлорофілу *a* зріс у 1,8, хлорофілу *b* – у 1,5 та каротиноїдів – у 1,2 рази, відповідно.

Таблиця 1.

Вміст фотосинтетичних пігментів у листках рослин вівса на 10-ту добу після дії ФП та його суміші з інгібіторами АЛС

Варіант дослідження	мкг/мг сирової речовини ($M \pm m$)		
	хлорофіл <i>a</i>	хлорофіл <i>b</i>	каротиноїди
контроль	$1,81 \pm 0,21$	$0,28 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,09$
ФП ($5 \cdot 10^{-4}$ М)	$0,46 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,01$	$0,2 \pm 0,0$
ФП + АСФ ($5 \cdot 10^{-5}$ М)	$0,82 \pm 0,06$	$0,18 \pm 0,01$	$0,24 \pm 0,01$

В зв'язку з тим, що фітотоксична дія грамініцидів пов'язана з індукцією оксидного стресу у рослин-бур'янів, підвищення їх фітотоксичності можливе шляхом використання речовин з прооксидантними властивостями [12] або, можливо, інгібіторів антиоксидантних систем. Застосування інгібітору СОД не призвело до посилення інгібуючої дії грамініцида ФП. Однак, було встановлено, що

за дії ДДК не відбувається зменшення фітотоксичної дії ФП у суміші з інгібіторами АЛС (рис. 2).



Рис.2. Загальний вигляд рослин вівса на 12 добу після обробки гербіцидами та інгібітором СОД. Варіанти: 1.1.- контроль, 2.1.- ФП ($5 \cdot 10^{-4}$ М), 3.1. - ФП + АСФ ($5 \cdot 10^{-5}$ М) + ДДК (1 мМ).

Так, на 10-ту добу після обробки вміст хлорофілу *a* за дії суміші ФП + інгібітори АЛС був достовірно вищим, ніж за дії одного ФП (див. табл. 1), в той час, як при додаванні до суміші ДДК втрата хлорофілу *a* на 12 добу перевищила дію одного ФП (табл.2).

Таблиця 2.
Вміст фотосинтетичних пігментів у листках рослин вівса на 12-ту добу після дії ФП, його суміші з інгібіторами АЛС та інгібітором СОД

Варіант досліджу	мкг/мг сирової речовини ($M \pm m$)		
	хлорофіл <i>a</i>	хлорофіл <i>b</i>	каротиноїди
контроль	1,02 ± 0,09	0,31 ± 0,02	0,30 ± 0,03
ФП ($5 \cdot 10^{-4}$ М)	0,19 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,16 ± 0,02
ДДК (1 мМ)	0,84 ± 0,04	0,36 ± 0,03	0,23 ± 0,02
ДДК + ФП	0,22 ± 0,03	0,11 ± 0,01	0,18 ± 0,02
ДДК + ФП + АСФ	0,17 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,15 ± 0,01

Нашими дослідженнями нещодавно було показано апоптозподібну деградацію ДНК за дії галоксифоп-*R*-метилу [13], що дає нам можливість стверджувати про

АФК-опосередковану [9] запрограмовану загибель клітин (ЗЗК) за дії грамініцидів. Оскільки застосування специфічного інгібітору СОД призвело до зменшення антагонізму у суміші грамініцидів з інгібіторами АЛС, то очевидно однією з причин антагонізму у сумішах даних гербіцидів є зростання активності СОД. В підтвердження отриманих нами даних служать літературні дані щодо виживання трансгенних рослин тютюну з надекспресією гена СОД за дії озону [14], дія якого також приводить до ЗЗК рослин [15]. Окрім цього, у трансгенних рослин, які відрізняються рівнем активності каталази і аскорбатпероксидази, індукція ЗЗК за дії патогенів і озону також негативно корелює з активністю даних антиоксидантних ферментів [16, 17]. Очевидно як і за дії інших стресорів, які викликають у рослин ЗЗК, для розвитку фітотоксичної дії грамініцидів надзвичайно важливими є механізми, пов'язані з генерацією і детоксикацією АФК. Однак, виявляється ці механізми не завжди є визначальними – так у подвійних мутантів за відсутності активності каталази і цитозольної аскорбатпероксидази (*arx1/cat2*) спостерігається поява стійкості до окислювального стресу, ДНК-ушкоджуючих факторів, зокрема до дії гербіциду норфлуразолу (інгібітор синтезу каротиноїдів) і інгібується ЗЗК. Виявляється в даному випадку, поява стійкості пов'язана з активацією антиапоптозних білків [18]. В зв'язку з цим, саме з'ясування фізіологічної природи антагонізму в сумішах грамініциду ФП з інгібіторами АЛС, а зокрема участі антиоксидантної системи рослин, буде предметом наших подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. Показано антагоністичне зменшення фітотоксичної дії грамініцидів у сумішах з гербіцидами інгібіторами АЛС, що підтверджувалося зростанням вмісту фотосинтетичних пігментів.
2. Встановлено, що блокування специфічним інгібітором активності антиоксидантного ферменту СОД призвело до зміни характеру взаємодії у суміші з антагоністичного на адитивний. Отримані результати є свідченням того, що антагоністичне зменшення фітотоксичності грамініцидів у сумішах пов'язане з стресовою реакцією рослин на дію гербіцидів інгібіторів АЛС, зокрема, очевидно, з підвищенням активності СОД.

Список літератури

1. Antagonism of diclofop control of wild oat (*Avena fatua* L.) by tribenuron /R.J. Baerg, J.W. Gronwald, C.V. Eberlin [et al.] //Weed Sci. – 1996. – Vol.44, N3. - P. 461 – 468.
2. Zhang J. Antagonism and synergism between herbicides: trends from previos studies //J. Zhang, A. Hamill, S. Weaver //Weed Tech. – 1995. - Vol. 9, N1. - P. 86 – 90.
3. Dechamps J.A. Antagonistic effect of MCPA on fenoxaprop activity /J.A. Dechamps, A.I. Hsiao, W.A. Quick //Weed Sci. – 1990. – Vol. 38, N1. – P. 62 – 66.
4. Mueller T. Antagonism of johnsongrass control with fenoxaprop, haloxyfop and sethoxydim by 2,4-D / T. Mueller, W. William, M. Barret //Weed Technol. – 1989. – Vol. 3, N1. – P. 86 – 89.
5. Мордерер Є.Ю. Бакові суміші гербіцидів. Застосування препаратів похідних сульфонілсечовини з похідними арилоксифеноксипропіонової кислоти для захисту посівів озимої пшениці та ярого ячменю / Є.Ю. Мордерер, Ю.Г. Мережинський // Захист рослин. – 2001. – № 10. – С. 11-12.

6. Bjelk L. Effect of chlorimuron and quizalofop on fatty acid biosynthesis / L. Bjelk, T. Monaco // *Weed Sci.* – 1992. – Vol.40, N1. – P. 1 – 6.
7. Мордерер Є.Ю. Внесок фундаментальної біології рослин в вирішення проблеми боротьби з бур'янами /Є.Ю. Мордерер // *Физиология и биохимия культ. растений.* – 2005. – 37, №6. – С.495 – 504.
8. Мордерер Є.Ю. Гербициди: механізми дії та практика /Є.Ю. Мордерер, Ю.Г. Мережинський. - К.:Логос., 2009. – 1. - 377 с.
9. Паланиця М.П. Участь активних форм кисню у розвитку фітотоксичної дії гербицидів – інгібіторів ацетил-КоА-карбоксилази: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.12 “Фізіологія рослин” /Марія Павлівна Паланиця. – Київ, 2010. – 21 с.
10. Asada K. Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase /K. Asada, M. Takanashi, M. Nagate // *Agr. Biol. Chem.* – 1974. - Vol.38, N2. - P. 471-473.
11. Welburn A.R. The spectral determination of chlorophylls a and b as well as total carotenoids using various solvents with spectrophotometry of different resolution / A.R. Welburn // *J. of Plant Physiol.* - 1994. – Vol. 144, N3. - P. 248– 254.
12. Вплив еліситуру хітозану на фітотоксичність грамініциду феноксапроп-р-етила з метрибузином /В.В. Трач, М.П. Паланиця, С.О. Гринюк [та ін.] // *Физиология и биохимия культурн. растений.* – 2011. – 43, №5. - С. 397-402.
13. Деградація ДНК проростков кукурузи (*Zea mays* L.) при действии гербицида галоксифоп-Р-метила: тез. докл. Международной научно-практической конференции [«Клеточная биология и биотехнология растений»], (Минск, 13-15 февраля 2013 года) - Белорусский государственный университет, 2013. – 252 с.
14. Elevated levels of superoxide dismutase protect transgenic plants against ozone damage / W. Van Camp, H. Willekens, C. Bowler [et al.] // *Biotech.* 1994. – Vol. 12, N2. - P. 165–168.
15. Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants /C. Langebartels, H. Wohlgenuth, S. Kschieschan [et al.] // *Plant Physiol. Biochem.* - 2002. – Vol. 40, N6. – P. 567–575.
16. Transgenic tobacco plants with reduced capability to detoxify reactive oxygen intermediates are hyperresponsive to pathogen infection /R. Mittler, H.E. Hallak, B.L. O'rvar [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1999. – Vol. 96, N24. - P. 14165–14170.
17. O'rvar B.L. Pre-activating wounding response in tobacco prior to high-level ozone exposure prevents necrotic injury / B.L. O'rvar, M.J. Pherson, B.E. Ellis // *Plant J.* – 1997. – Vol. 11, N2. – P.203–212.
18. Extranuclear protection of chromosomal DNA from oxidative stress /S. Vanderauwera, N. Suzuki, G. Miller [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2011 – Vol. 108, N4. – P. 1711-1716.

Радченко М.П. Уменьшение антагонизма в смесях гербицидов с помощью специфического ингибитора активности супероксиддисмутазы / М.П. Радченко, А.М. Сычук, Э.Ю. Мордерер // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 3. – С.161-168.

Изучали влияние специфического ингибитора активности супероксиддисмутазы на характер взаимодействия в баковой смеси гербицидов ингибиторов ацетил-КоА-карбоксилазы и ацетолактатсинтазы. Установлено, что фитотоксическое действие гербицида ингибитора феноксапроп-р-етила на растения овса антагонистически уменьшается в смесях с гербицидом ингибитором ацетолактатсинтазы. При добавлении ингибитора супероксиддисмутазы характер взаимодействия в смеси гербицидов менялся с антагонистического на аддитивный. Сделан вывод, что антагонистическое уменьшение фитотоксичности гербицидов ингибиторов ацетил-КоА-карбоксилазы в смесях может быть обусловлено увеличением активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы, связанным со стрессовой реакцией растений на действие других гербицидов.

Ключевые слова: гербициды, характер взаимодействия гербицидов в смесях, ингибитор супероксиддисмутазы..

THE REDUCING OF ANTAGONISM IN THE MIXTURES OF HERBICIDES
THROUGH SPECIFIC INHIBITOR OF SUPEROXIDE DISMUTASE

Radchenko M.P., Sychuk A.M., Morderer Ye.Yu.

*Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
Email: mpalanytsya.ifrg@i.ua*

It was studied the effect of a specific inhibitor of the activity of superoxide dismutase on the nature of the interaction in tank mixtures of herbicides - inhibitors of acetyl-CoA carboxylase and acetolactatsynthase. It was established that under the addition of acetolactatsynthase inhibitors, the phytotoxic action of fenoxaprop-*p*-ethyl antagonistically decreases. Decreasing of herbicides phytotoxic action in the mixture was accompanied by increasing of photosynthetic pigments content. Compared with the variant where only herbicide fenoxaprop-*p*-ethyl was applied under the mixture action chlorophyll a content increased in 1.8, chlorophyll b - 1.5 and carotenoids - 1.2 times, respectively. Adding of specific inhibitor of superoxide dismutase - diethyl-dithiocarbamate to antagonistic mixture of herbicides changed the character of interaction from antagonistic to additive. It is concluded that the antagonistic reducing of herbicides inhibitors of acetyl-CoA-carboxylase phytotoxicity in mixtures may be due to increased of antioxidant enzyme superoxide dismutase, associated with stress response of plants to the action of other herbicides. The article discusses the important role of the mechanisms, associated with the generation and detoxification of reactive oxygen species, in the development of phytotoxic action of herbicides - inhibitors of acetyl-CoA carboxylase, which induced pathogenesis associated with programmed cell death. In this regard, the physiological nature of antagonism in mixtures of fenoxaprop-*p*-ethyl with acetolactatsynthase inhibitors, and in particular the participation of antioxidant plants system, is the subject of our further research.

Keywords: herbicides, the interaction of herbicides in mixtures, inhibitor of superoxide dismutase.

References

1. Baerg R.J., Gronwald J.W., Eberlin C.V. and Stucker R.E., Antagonism of diclofop control of wild oat (*Avena fatua* L.) by tribenuron, *Weed Sci.*, **44**, 461 (1996).
2. Zhang J., Hamill A. And Weaver S., Antagonism and synergism between herbicides: trends from previous studies, *Weed Tech.*, **9**, 86 (1995).
3. Dechamps J.A., Hsiao A.I. and Quick W.A. Antagonistic effect of MCPA on fenoxaprop activity, *Weed Sci.*, **38**, 62 (1990).
4. Mueller T., William W. and Barret M., Antagonism of johnsongrass control with fenoxaprop, haloxyfop and sethoxydim by 2,4-D, *Weed Technol.*, **3**, (1989).
5. Morderer Ye.Yu. and Merezhytsky Yu.G., Tank mixtures of herbicides. The use of sulfonylurea derivatives with derivatives of aryloxy phenoxy propionic acid for protection of winter wheat and spring barley, *Ukrainian Journal of Plants protection*, **10**, 11 (2001).
6. Bjelk L. and Monaco T., Effect of chlorimuron and quizalofop on fatty acid biosynthesis, *Weed Sci.*, **40**, 1 (1992).
7. Morderer Ye.Yu. The contribution of fundamental plant biology in solving the problem of weed control, *Ukrainian Journal of Physiology and biochemistry of cultivated plants*, **37**, 495 (2005).

8. Morderer Ye.Yu. and Merezhytsky Yu.G. *Herbicides: mechanisms of action and practice*, 377 p. (Logos, Kyiv, 2009).
9. Palanytsya M.P. The role of reactive oxygen species in the development of phytotoxic action of herbicides - inhibitors of acetyl-CoA carboxylase, *Thesis for a Phd degree in Biology, speciality 03.00.12 - Plant Physiology*, 21 p. (Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2010).
10. Asada K., Takahashi M. and Nagate M., Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase, *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 471 (1974).
11. Welburn A.R., The spectral determination of chlorophylls a and b as well as total carotenoids using various solvents with spectrophotometry of different resolution, *J. of Plant Physiol.*, **144**, 248(1994).
12. Trach V., Palanytsya M.P., Grynyuk S.O. and Morderer Ye.Yu., Effect of elicitor chitosan on graminicide fenoxaprop-*p*-ethyl phytotoxicity with metrybuzyn, *Ukrainian Journal of Physiology and biochemistry of cultivated plants*, **43**, 397 (2011).
13. Sychuk A.M. and Radchenko M.P., The degradation of DNA of maize seedlings (*Zea mays* L.) under the action of the herbicide haloxyfop-*R*-methyl, *Abstracts of International scientific-practical conference "Cell Biology and Biotechnology"* (Minsk, 2013), p.252.
14. Van Camp W., Willekens H., Bowler C., Bowler C., Van Montagu M., Inze´ D., Reupold-Popp P., Sandermann H.J. and Langebartels C., Elevated levels of superoxide dismutase protect transgenic plants against ozone damage, *Biotech.*, **12**, 165 (1994).
15. Langebartels C., Wohlgemuth H., Kschieschan S., Gru¨n S., Sandermann H. Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants, *Plant Physiol. Biochem.*, **40**, 567 (2002).
16. Mittler R., Hallak H.E., O´rvar B.L., Van Camp W., Willekens H., Inse D. and Ellis B. Transgenic tobacco plants with reduced capability to detoxify reactive oxygen intermediates are hyperresponsive to pathogen infection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **96**, 14165 (1999).
17. O´rvar B.L., Pherson M.J. and Ellis B.E. Pre-activating wounding response in tobacco prior to high-level ozone exposure prevents necrotic injury, *Plant J.*, **11**, 203 (1997).
18. Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., van de Cotte B., Morsa S., Ravanat J., Hegie A., Triantaphylidès C., Shulaev V., Van Montagu M., Van Breusegem F. and Mittler R. Extranuclear protection of chromosomal DNA from oxidative stress, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **108**, 1711 (2011).

Поступила в редакцию 26.08.2013 г.