

УДК 633.1:631.5

МЕТАБОЛІЗМ ПІНОКСАДЕНУ В РОСЛИНАХ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

Михальська Л.М.¹, Швартау В.В.¹, Омельчук С.Т.²

¹*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ, Україна*

²*Інститут гігієни та екології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, Київ, Україна*

E-mail: Mykhalskaya_L@ukr.net

Встановлено, що застосування грамніциду Аксіал 045 ЕС к.е. у композиціях із протидводольним гербіцидом Дербі 175 SC с.к. та карбамідом посходово не приводить до підвищення залишкових кількостей основних метаболітів піноксадену M02, M04, M06 та M10 у зерні озимої пшениці.

Ключові слова: метаболізм, гербіциди, грамніциди, бур'яни, озима пшениця.

ВСТУП

Грамніциди – протиододольні посходові гербіциди широко використовуються у сучасному рослинництві. До грамніцидів відносяться три різних за хімічною природою класи гербіцидів – похідні арилоксифеноксипропіонової кислоти (АОФПК), похідні циклогексан-1,3-діонів або циклогексеноксимів (ЦГД) та фенілпіразолі. Вони є селективними інгібіторами ацетил-КоА-карбоксилази (АКК) злакових рослин і разом складають приблизно 15 % сучасного світового ринку гербіцидів. Гербіциди цих класів застосовуються для післясходової обробки посівів дводольних та одnodольних культур з метою селективного знешкодження однорічних та багаторічних злакових бур'янів [1-4].

Вперше синтез амідних похідних фенілпіразолового ряду здійснено на початку 70-х років. Процес появи нових протизлакових гербіцидів продовжує розвиватися з високою інтенсивністю. Відомо чотири гербіциди цього класу: флуазолат, ніпіраклофен, пірафлуфен та піноксаден [5-8].

Боротьба зі злаковими видами бур'янів у посівах озимої пшениці є надзвичайно актуальною у зв'язку із домінуванням зернових колосових у сівоzmінах в усіх ґрунтово-кліматичних зонах України та більшості інших зерновиробників світу. Тому знаходження фітотоксичності у сполуки класу фенілпіразолів та реєстрація у провідних країнах світу Аксіалу 045 ЕС к.е. (діюча речовина піноксаден, 45 г/л, та антидот клоквінтоцет-мексил) була наслідком цілеспрямованих багаторічних досліджень з підвищення активності та селективності грамніцидів для пшениці.

Аксіал 045 ЕС к.е. – системний гербіцид, що проникає у рослину крізь листки та транспортується базипетально і акропетально. Інгібітор ацетил-КоА-карбоксилази. Застосовують проти однорічних злакових бур'янів після сходів на посівах озимої пшениці у фазі від початку кушіння культури до фази трубкування включно. Застосовувати гербіцид слід по активно вегетуючих бур'янах в інтервалі

температур від +10°C до +28°C при нормі витрат 1,0 л/га. Препарат найкраще діє на бур'яни на ранніх стадіях розвитку, але може контролювати і бур'яни у генеративній фазі розвитку. Ріст бур'янів припиняється через 48 годин після обробки. Рослини стають хлоротичними, повна загибель спостерігається протягом 1-3 тижнів, залежно від фази розвитку знищуваних рослин та погодних умов. Дія препарату візуально проявляється через 3-15 діб після застосування, в залежності від погодних умов та виду бур'янів. Суттєвим недоліком грамініцидів-інгібіторів ацетил-КоА-карбоксилази є складність досягнення високої фітотоксичності та селективності у робочих сумішах з іншими пестицидами, наприклад, препаратами класів антиауксинів (похідні 2,4-Д, бензойної кислоти та інші), інгібіторів монооксигеназ (фосфорорганічні інсектициди) тощо.

Зазначимо, що піноксаден доцільно застосовувати переважно у сумішах із протидводольними препаратами, а також із добривами для позакореневого підживлення [1-4]. Визначено перспективність застосування Аксіалу у композиції з протидводольним гербіцидом Дербі 175 SC с.к. (100 г/л флуметсуламу + 75 г/л флорасуламу) компанії «Сингента» (Швейцарія) та карбамідом [1, 4].

Метаболізм піноксадену в рослинах досліджували на посівах пшениці і ячменю у Франції, Німеччині, Італії, Іспанії, Австралії та США [9-14]. Були описані аналітичні методи для визначення вмісту метаболітів піноксадену, вільного та зв'язаного SYN 505164 (M04) і NOA 407854 (M02) у воді, ґрунті та рослинах. Методи базуються на гомогенізації зразків в 1M HCl із зворотним холодильником протягом кількох годин із наступною екстракцією залишку аналітів з використанням суміші органічних екстрагентів, наприклад екстрагенту дихлорметан/діетиловий ефір/ацетон (40:7:3). Екстракти очищаються на спеціальних селективних іонообмінних картриджах, і рівні вільного і зв'язаного SYN 505164 (метаболіт M04) визначаються з використанням ВЕРХ з УФ-детекцією при 223 нм. Рівні NOA 407854 (метаболіт M02) визначаються за допомогою ВЕРХ системи з УФ-детекцією при 243 нм.

В рослинах переважна кількість піноксадену зникає досить швидко після внесення. Натомість з'являються його метаболіти M02, M04, M06 та M10. Так, у Франції на 67 день досліджень кількість метаболітів в зерні озимої пшениці складала, відповідно, M02 < 0,01 мг/кг, M04 – 0,05-0,06 мг/кг, M06 – 0,01 мг/кг, M10 < 0,01 мг/кг. В Італії на 68 день досліджень – M04 – 0,09 мг/кг, M06 – 0,01 мг/кг, M02 < 0,01 мг/кг, M10 < 0,01 мг/кг. В Іспанії на 73 день досліджень – M04 – 0,1-0,11 мг/кг, M06 – 0,03 мг/кг, M02 < 0,01 мг/кг, M10 < 0,01 мг/кг. В Німеччині на 85 день досліджень залишкові кількості усіх метаболітів складала менше 0,01 мг/кг. Дослідження на посівах ячменю ярого і озимого, проведені у вищезгаданих країнах, дозволили виявити наступні середні показники вмісту метаболітів піноксадену: в ячмені ярого – M02 < 0,01 мг/кг, M04 – 0,02-0,13 мг/кг, M06 – 0,01-0,04 мг/кг, M10 < 0,02-0,01 мг/кг; в ячмені озимому – M02 < 0,01 мг/кг, M04 – 0,02-0,06 мг/кг, M06 – 0,01 мг/кг, M10 < 0,01 мг/кг. З представлених даних можна зробити висновок про відносно незначну стабільність препарату та його метаболітів у посівах зернових колосових культур різних агрокліматичних зон [15].

При цьому, вплив компонентів робочих розчинів за сумісного застосування піноксадену з протидводольними гербіцидами та добривами на метаболізм грамініциду не встановлений.

Тому, метою роботи було визначити вплив гербіциду Дербі 175 SC с.к. та карбаміду на метаболізм піноксадену у рослинах озимої пшениці та бур'янів на прикладі метлюгу звичайного.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на виробничих посівах озимої пшениці (*Triticum aestivum L.*) сорту Смуглянка у Вінницькій області (АФ «Комора», смт. Тростянець, ПрАТ «Зернопродукт МХП») та Дослідного сільськогосподарського виробництва Інституту фізіології рослин і генетики НАН України у смт. Глеваха Васильківського району Київської області у 2008-2012 рр. Облікові ділянки в досліді займали площу 10 м², повторність 6-10 кратна.

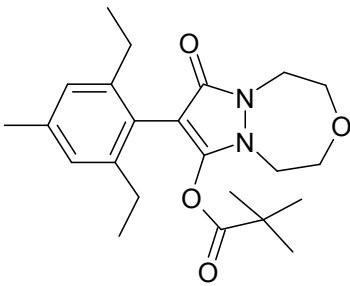
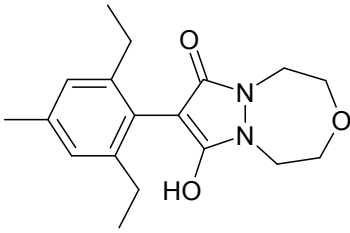
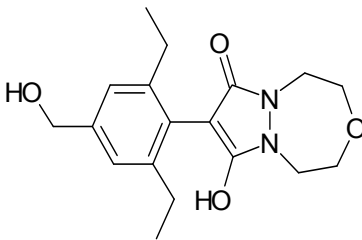
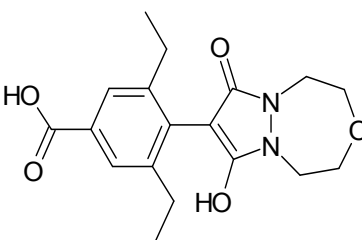
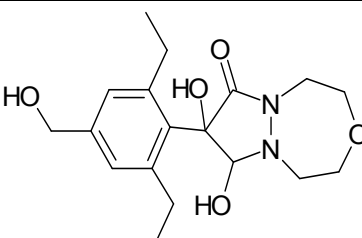
У зоні досліджень за вегетаційний період сума активних температур (понад +10 °С) становила близько 2600–2900 °С. Опадів протягом року випадало від 460 до 520 мм, а за літній період у середньому 200-220 мм. Вегетаційні сезони 2010-2011 років відрізнялися тривалими високими температурами та сильною посухою у генеративну фазу розвитку пшениці. Влітку температура піднімалася до 42 °С. Середня місячна температура повітря у травні 2012 року становила 13-16 °С, місячна кількість опадів становила 40-60 мм, що свідчить про те, що погодні умови були сприятливими для формування врожаю зернових.

Протягом вегетації проводили підживлення рослин, боротьбу зі шкідниками та хворобами і фенологічні спостереження. Насіння обробляли перед посівом протруйником Селест Топ 312,5 FS т.к.с. (1,5 л/т). До робочого розчину додавали комплексні добрива на основі монокалійфосфату (2 кг/т насіння). Протягом вегетації обробляли рослини фунгіцидами Альто Супер 330 ЕС к.е. (0,5 л/га) і Амістар Екстра 280 SC к.с. (0,7 л/га), інсектицидом Енжіо 247 SC к.с. (0,2 л/га), зокрема у фазу кушіння, цвітіння та по прапорцевому листку. Гербіцидами Дербі 175 SC с.к. (0,070 л/га) і Аксіал 045 ЕС к.е. (1,0 л/га) у фазу виходу в трубку озимої пшениці обробляли основну площу поля, залишаючи ділянки 0,2-0,3 га для проведення досліджень та визначення позакореневої дії препаратів у варіантах: контроль (без внесення гербіцидів та добрив); Дербі 175 SC с.к., 0,070 л/га; Аксіал 045 ЕС к.е., 1,0 л/га; Дербі 175 SC с.к., 0,070 л/га + Аксіал 045 ЕС к.е., 1,0 л/га; Дербі 175 SC с.к., 0,070 л/га + Аксіал 045 ЕС к.е., 1,0 л/га + карбамід, 10 кг/га туків. Обприскування проводили у вечірні години, за температури повітря 20-24 °С та за відсутності вітру.

Визначення вмісту піноксадену та його метаболітів (табл. 1) проводили методом ВЕРХ [12-14].

Таблиця 1

Піноксаден та його метаболіти

| Сполука | Структурна формула | Назва за IUPAC |
|--------------------------------|--|---|
| Піноксаден M01 (NOA 407855) |  | 8-(2,6-діетил- <i>p</i> -толил)- 1,2,4,5-тетрагідро-7- оксо-7 <i>H</i> -піразоло[1,2- <i>d</i>][1,4,5]оксадіазепін-9-іл 2,2-диметилпропіонат |
| Метаболіт M02 (NOA 407854) |  | 8-(2,6-діетил-4-метил- феніл)- тетрагідропіразоло-[1,2- <i>d</i>]-[1,4,5]-оксадіазепін- 7,9-діон |
| Метаболіт M04 SYN 505164 |  | 8-(2,6-діетил-4- гідроксиметил-феніл)- тетрагідропіразоло[1,2- <i>d</i>][1,4,5]окса-діазепін- 7,9-діон |
| Метаболіт M06 SYN 502836 |  | 4-(7,9-діоксо- гексагідропіразоло[1,2- <i>d</i>][1,4,5]окса-діазепін-8- іл)-3,5-діетил-бензойна кислота |
| Метаболіт M10 (NOA 447204) |  | 8-(2,6-діетил-4- гідроксиметил-феніл)- тетрагідропіразоло-[1,2- <i>d</i>]-[1,4,5]-окса-діазепін - 7,9-діон |

Контроль піноксадену та його метаболітів в рослинах озимої пшениці та основного злакового бур'яну у посіві метлюгу звичайного (*Apera spica-venti* L.) і в зерні пшениці здійснювали після екстрагування сумішшю 1 Н соляної кислоти - ацетонітрилу (M02) та 1 Н соляною кислотою (M04, M06, M10) при кип'ятінні, послідовної очистки аліквоти екстракту перерозподілом в системі не змішуваних розчинників на колонці з оксидом алюмінію, потім - концентруючих патронах Oasis(R) HLB (M2) або двічі Oasis(R) MCX (M04, M06, M10) (концентруючі патрони компанії «Waters», США).

Умови хроматографування: рідинний хроматограф «Shimadzu» з УФ-детектором, колонка Нуклеосил C18, рухома фаза – суміш ацетонітрилу та бідистильованої води 70:30, час утримування відповідав стандартам. Метаболіти M02, M04, M06 та M10 компанії «Сингента», Швейцарія.

Результати математично оброблені за допомогою професійного пакету програм для статистичного аналізу Statistica 8,0, згідно стандартних методик та за допомогою програми Exel [16-18].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Показано, що в рослинах пшениці озимої за добу після обробки знайдено низькі рівні піноксадену (МДР в зерні хлібних злаків 0,2 мг/кг). За тиждень після обробки вміст піноксадену був нижчим за рівень чутливості методу.

В рослинах злакового виду бур'яну вміст піноксадену чітко реєструвався із тенденцією до зростання за тиждень після обробки. У більш пізні терміни складність визначення вмісту піноксадену у рослинах *Apera spica-venti* L. визначали прояв фітотоксичності гербіциду та швидке зниження маси сирої речовини рослин бур'яну (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст піноксадену в рослинах озимої пшениці та метлюгу звичайного

| Доба після обробки | Вміст, мг/кг | |
|--------------------|---------------|------------------|
| | Пшениця озима | Метлюг звичайний |
| 1 | 0,07±0,01 | 0,09±0,01 |
| 7 | <0,01 | 0,15±0,03 |
| 15 | н.в.* | н.в.** |

Примітки.* - н.в. – не виявлено, ** - н.в. у зв'язку із повною загибеллю рослин злакового бур'яну. В контрольних зразках піноксадену не виявлено.

Результати дослідження метаболізму Аксіалу 045 ЕС к.е. в рослинах пшениці озимої (табл. 3) свідчать, що піноксаден (M01) є лише другорядним компонентом від загальної кількості залишків вже у фазу прапорцевого листка. Відразу ж після застосування діюча речовина Аксіалу піноксаден (M01) швидко гідролізується до метаболіту M02 (NOA 407854), який є основним метаболітом у рослинах пшениці вже в перші дні після обприскування. M02, в свою чергу, піддається

гідроксилюванню з утворенням M04 (SYN 505164). Метаболіт M04 є основним у рослинах пшениці за 7-14 днів після обприскування. Метаболізм M04 відбувається наступними трьома основними шляхами: (I) сполученням M04 з глюкозою, що приводить до утворення M05, який ряд авторів [9-15] знаходили в усіх пробах пшениці після обприскування; (II) окисненням M04 з утворенням кислотного метаболіту M06 (SYN 502836), частка якого є відносно невеликою серед інших метаболітів (менше 10 %) в більшості випадків відбору та аналізу проб, і (III) гідроксилюванням M04 з наступним утворенням M10 (SYN 505887), який, як відомо [9-15], є другорядним метаболітом в усіх зразках пшениці, крім соломи.

Таблиця 3

Вплив гербіциду Дербі та карбаміду на накопичення піноксадену в рослинах озимої пшениці

| Варіант, сполука | Аксіал | Аксіал + Дербі | Аксіал + Дербі + карбамід | Вміст сполуки, мг/кг | |
|------------------|--------|----------------|---------------------------|--------------------------|-----------|
| | | | | Фаза прапорцевого листка | Зерно |
| Піноксаден | + | - | - | <0,01 | н.в. |
| Піноксаден | - | + | - | <0,01 | н.в. |
| Піноксаден | - | - | + | <0,01 | н.в. |
| Метаболіт M2 | + | - | - | 0,21±0,06 | <0,01 |
| Метаболіт M2 | - | + | - | 0,20±0,04 | <0,01 |
| Метаболіт M2 | - | - | + | 0,29±0,04 | <0,01 |
| Метаболіт M4 | + | - | - | 0,15±0,04 | 0,03±0,01 |
| Метаболіт M4 | - | + | - | 0,15±0,03 | 0,03±0,01 |
| Метаболіт M4 | - | - | + | 0,19±0,04 | 0,04±0,01 |
| Метаболіт M6 | + | - | - | 0,05±0,01 | <0,01 |
| Метаболіт M6 | - | + | - | 0,06±0,01 | <0,01 |
| Метаболіт M6 | - | - | + | 0,06±0,01 | <0,01 |
| Метаболіт M10 | + | - | - | 0,07±0,01 | 0,02±0,01 |
| Метаболіт M10 | - | + | - | 0,07±0,01 | 0,02±0,01 |
| Метаболіт M10 | - | - | + | 0,09±0,02 | 0,03±0,01 |

Встановлено, що додавання протидводольного гербіциду Дербі 175 SC с.к. до розчинів Аксіалу 045 EC к.е. не впливає на метаболізм піноксадену. Натомість зазначимо, що за додавання карбаміду та Дербі 175 SC с.к. до розчинів Аксіалу 045 EC к.е. спостерігалось дещо вище накопичення метаболіту M02 в рослинах пшениці у фазу прапорцевого листка. Підвищення накопичення метаболіту M04 за внесення карбаміду було статистично недостовірним. У зерні знайдено лише невеликі кількості метаболітів M04 та M10.

За встановленої величини ДДД піноксадену для людини на рівні 0,005 мг/кг м.т. запропонований МДР піноксадену у зерні хлібних злаків – 0,2 мг/кг – при

перевірки його безпечності показав надійність у забезпеченні нешкідливості діючої речовини. Відповідно до фізіологічних норм споживання продуктів із зерна щоденно людина може вживати до 380 г таких виробів, що за умови наявності у зерні хлібних злаків піноксадену на рівні 0,2 мг/кг забезпечить максимальне надходження 0,076 мг піноксадену на добу. Отримані дані свідчать, що з продуктами із зерна хлібних злаків може надійти не більше 10-15 % від можливого надходження і встановлена величина МДР піноксадену у зерні хлібних злаків на рівні 0,2 мг/кг гарантує нешкідливість для людини сільськогосподарської продукції, вирощеної із застосуванням препарату Аксіал 045 ЕС, к.е. [15].

ВИСНОВКИ

Застосування грамініциду Аксіалу 045 ЕС к.е. у сумішах з протидводольним гербіцидом Дербі 175 SC с.к. та карбамідом не приводить до підвищення залишкових кількостей основних метаболітів М04, М06 та М10 піноксадену у зерні озимої пшениці. Встановлено, що дана композиція є безпечною для застосування в рослинництві та з високою ефективністю контролює основні шкодочинні бур'яни на посівах озимої пшениці та ячменю.

Список літератури

1. Швартау В. В. Гербіциди. Основи регуляції фітотоксичності та фізико-хімічні і біологічні властивості / В. В. Швартау. – К. : Логос, 2009. – Т. 2. – 1046 с.
2. Мордерер Є. Ю. Гербіциди. Механізми дії та практика застосування / Є. Ю. Мордерер, Ю. Г. Мережинський. – К. : Логос, 2009. – Т. 1. – 379 с.
3. Моргун В. В. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков / В. В. Моргун, В. В. Швартау, Д. А. Кириций // Физиология и биохимия культурных растений. – 2010. – Т. 42, № 5. – С. 371–393.
4. Швартау В. В. Вплив азотних добрив на активність гербіцидів Аксіал та Дербі / В. В. Швартау, Л. М. Михальська // Вісник аграрної науки. – 2012. – № 5. – С. 19–22.
5. Phenylpyrazole amide herbicides / M. W. Moon, L.T. Bell, T. L. Cutting [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 1977. – V. 25 (5). – P. 1039–1049.
6. Pinoxaden – for broad spectrum grass weed management in cereal crops / U. Hofer, M. Muehlebach, S. Hole, A. Zoschke // Journal of Plant Diseases and Protection. – Special Issue XX, Chapter 9. – 2006. – P. 989–995.
7. Pat. 006103667A United States, PCT/EP 96/02417, WO 97/00240. Phenylpyrazole herbicides / H.-G. Brunner, M. Karvas, K. Nebel, G. Pissiotas ; assignee Novartis Corporation, Summit N.J. – № 6.103.667 ; appl. 04.06.96 ; pub. 15.08.00.
8. Kieloch R. Pinoxaden – a new active ingredient for grass weed control in cereals of South / R. Kieloch, K. Domaradzki, J. Gyrianiak // West Poland Journal of Plant Diseases and Protection. – 2006. – P. 1067–1072.
9. Raffel H. Axial – influence of the application timing on the reliable control of grass weeds in cereals / H. Raffel, P. Nielsen, W. Ruegg // J. Plant Dis. Protect XX. – Special Issue. – 2006. – P. 1039–1046.
10. Krämer W. Modern Crop Protection Compounds / W. Krämer, U. Schirmer // Wiley-VCH, Weinheim. – 2007. – V. 1. – P. 350–354.
11. Development of a complex-based flow injection spectrophotometric method for determination of the herbicide pinoxaden in environmental samples / J. Shah, M. R. Jan, M. Muhammad, F-N. Shehzad // Toxicological & Environmental Chemistry. – 2011. – V. 93 (8). – P. 1547–1556.
12. Aryldiones incorporating a [1,4,5] oxadiazepane ring. Part 2: Chemistry and biology of the cereal herbicide pinoxaden / M. Muehlebach, F. Cederbaum, D. Cornes [et al.] // Pest. Manag. Sci. – 2011. – V. 67. – P. 1499–1521.

13. Расчетные методы оценки опасности и гигиенического нормирования вредных веществ в разных средах / В. Г. Смирнов, В. Г. Маймулов, С. П. Нечипоренко [и др.]. – СПб. – 2002. – 130 с.
14. Методичні вказівки з визначення мікрокількостей пестицидів у харчових продуктах, кормах та навколишньому середовищі / Розробники: О.М. Коршун, В.В. Шевчук, Д.Б. Гиренко. – Інститут гігієни та екології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця // Міністерство екології та природних ресурсів України. Департамент Екологічної безпеки. – Наказ № 816-2007 від 11 січня 2008 року. – Зб. № 76. – Офіційне вид. – К., 2011. – С. 134-149.
15. Благая А. В. Гігієнічне обґрунтування регламентів безпечного застосування нових пестицидів в інтенсивних технологіях вирощування зернових колосових культур : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.02.01 «Гігієна та професійна патологія» / А. В. Благая. – К., 2012. – 24 с.
16. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. – М. : Агротехиздат, 1985. – 351 с.
17. Радов А. С. Практикум по агрохимии / А. С. Радов, И. В. Пустовой, А. В. Корольков. – М. : Агропромиздат, 1985. – 312 с.
18. Методики випробування і застосування пестицидів / С. О. Трибель, Д. Д. Сігарьов, М. П. Секун, О. О. Іващенко. – К. : Світ, 2001. – 448 с.

Михальская Л.Н. Метаболизм пиноксадена в растениях озимой пшеницы / Л.Н. Михальская, В.В. Швартау, С.Т. Омельчук // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 3. – С.129-136.

Установлено, что применение граминцида Аксиал 045 ЕС к.е. в композициях с противодвудольным гербицидом Дерби 175 SC с.к. и карбамидом после всходов не приводит к повышению остаточных количеств основных метаболитов пиноксадена M02, M04, M06 и M10 в зерне озимой пшеницы.

Ключевые слова: метаболизм, гербициды, граминциды, сорняки, озимая пшеница.

Mykhalska L.M. Pinoxaden metabolism in winter wheat / L.M. Mykhalska, V.V. Schwartau, S.T. Omelchuk // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No. 3. – P. 129-136.

Found that the use of graminicide Axial 045 EC k.e. in compositions with herbicide Derby 175 SC s.c. and urea after germination did not enhance major pinoxaden residual metabolites M02, M04, M06 and M10 in winter wheat grain.

Keywords: metabolism, herbicides, graminicides, weeds, winter wheat.

Поступила в редакцию 26.09.2012 г.