

С.П. Ожерєдов, Д.І. Литвин, С.І. Співак, А.І. Ємець, Я.Б. Блюм

Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ

ВИПРОБУВАННЯ ТА ВПРОВАДЖЕННЯ СИНЕРГІЧНИХ КОМПОЗИЦІЙ ВИСОКОЕФЕКТИВНИХ ГЕРБІЦИДІВ ДЛЯ ЗЕРНОВИХ ТА ТЕХНІЧНИХ КУЛЬТУР: СКРИНІНГ КОМПОЗИЦІЙ ТА ВИПРОБУВАННЯ ЇХ ГЕРБІЦИДНОЇ АКТИВНОСТІ



Розроблено системи підвищення активності гербіцидів для післясходової боротьби із однорічними та багаторічними однодольними бур'янами у посівах однодольних злакових (озима пшениця) і дводольних культур (ріпак, соняшник тощо) шляхом отримання високоефективних композицій на основі комерційних грамініцидів та похідних динітроаніліну. Показано, що досліджені динітроанілінові сполуки, комерційні гербіциди «Аксіал» (Syngenta), «Фуроре-супер» (Bayer CropScience) і «Фюзилад-форте» (Syngenta), а також їх композиції є активними індукторами апоптозу в рослинній клітині. З'ясовано, що індукція апоптотичних процесів відбувається внаслідок виникнення ефекту синергізму при застосуванні комерційних грамініцидів та нових похідних динітроаніліну як гербіцидної композиції.

Ключові слова: гербіциди, арилоксифеноксипропіонати, фенілпіразоліни похідні динітроаніліну, синергізм, апоптоз, бур'яни, зернові, технічні культури.

Одним із важливих напрямків розвитку сучасного рослинництва є підвищення ефективності гербіцидів у боротьбі з бур'янами, що пов'язано з необхідністю використання нових екологічно безпечних низьковитратних хімічних засобів, таких, як сульфонілсечовини, імідазоліони, піридазинони (проти дводольних), та фенілпіразоліни і похідні арилоксифеноксипропіонової кислоти (проти однодольних). Необхідно також відмітити, що до складу сучасних гербіцидних препаратів входять крім діючої речовини ще й модифікатори її активності, такі, як поверхнево активні сполуки, синергісти та антидоти [1–3]. Використання речовин, які регулюють гербіцидну активність, дає можливість підвищити ефективність боротьби з бур'янами при тих же нормах витрат

препаратів, знизити сумарну негативну дію хімічних засобів захисту рослин на навколишнє середовище шляхом обмеження надходження токсикантів у ґрунт та запобігти появі видів бур'янів, стійких до гербіцидів. Використання сумішей з синергістами чи антидотами прискорює знешкодження токсикантів, що сприяє впровадженню більш швидкого чергування культур у сівозмінах [4, 5].

Одними із ефективних синергістів для перерахованих вище типів гербіцидів, які використовуються для боротьби з бур'янами, є динітроаніліни [2, 6]. Мішенню їх дії є основний білок мікротрубочок – тубулін [6–8]. Взаємодія динітроанілінів з тубуліном знижує його здатність до полімеризації, що перешкоджає формуванню мікротрубочок і утворенню мітотичного веретена [9, 10], а також призводить до поліплоїдизації клітин рослин [11] та утворення мікроядер [12, 13]. Показано, що дуже чут-

ливим органом до дії динітроанілінів є корінь інтактних рослин. Зокрема, обробка речовинами цього класу призводить до свелінгових деформацій головного кореня та пригнічення розвитку латеральних корінців [14–16].

Динітроаніліни використовують у складі композицій, що підвищує ефективність післясходових гербіцидів, не впливаючи на їх селективність. Існують дані щодо синергічної активності композицій похідних динітроанілінів з грамініцидами класу арилоксифеноксипропіонової кислоти (фюзилад, пума-супер) [4]. Відомі синергічні композиції диметенаміду і динітроанілінів [17]. Також запатентовані різні варіанти застосування композицій на основі 4-бензоїлзоксазола, 1-феніл- або 1-пирилідин-бензотриазолів і диметенаміду, де як синергісти використовуються речовини динітроанілінового ряду [18–20].

Раніше нами був проведений скринінг антимітотичної та цитотоксичної активності нових речовин динітроанілінового ряду, синтезованих в Інституті органічної хімії НАН України [21]. За результатами цього скринінгу було відібрано ряд речовин, які можуть розглядатись як потенційні гербіциди або використовуватися для посилення аналогічних властивостей у речовин інших класів. Саме для подальшої практичної реалізації цих результатів було виконано науково-технічний проект «Випробування та впровадження синергічних композицій високоефективних гербіцидів для зернових та технічних культур. Розділ 1. Скринінг композицій та випробування їх гербіцидної активності» (№ Держреєстрації 0108U004808). Його метою була розробка високоефективних синергічних композицій комерційних динітроанілінів та відібраних нових похідних динітроаніліну у композиції з інгібіторами ацетил-КоА-карбоксилази для захисту зернових та технічних культур від бур'янів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

При дослідженнях були використані комерційні гербіциди фуроре-супер (діюча речовина

феноксопроп-*p*-етил — *Bayer CropScience*), фюзилад-форте (діюча речовина флуазифоп-*p*-бутил — *Syngenta*), аксіал (діюча речовина піноксаден — *Syngenta*) та динітроанілінові сполуки: трифлюоралін (комерційний гербіцид трефлан — *Dow AgroSciences*), а також синтезовані раніше *N*-(2,4-динітрофеніл)-*орто*-амінобензойна кислота (Br-14); *N,N*-диетил-2,6-динітро-4-(трифторметил)анілін (Br-15); *N*-(2,6-динітро-4-трифторметилфеніл)пропанол (Br-47) [21, 22] та їх композиції. Концентрація робочих розчинів для фуроре-супер, фюзилад-форте та аксіалу складала $4,5 \times 10^{-5}$, $9,0 \times 10^{-5}$ і $1,9 \times 10^{-5}$ М відповідно. Гербіциди динітроанілінового ряду використовували у концентрації $2,5 \times 10^{-4}$ М.

Контрольні варіанти рослин обробляли 0,5%-м розчином диметилсульфоксиду. Концентрації робочих розчинів даних гербіцидів розраховували на підставі робочих доз, рекомендованих виробником для практичного застосування. Концентрації гербіцидів динітроанілінового ряду розраховували, виходячи з половинної дози трефлану, рекомендованої для використання у виробництві ($2,5 \times 10^{-4}$ М).

Об'єктами дослідження були представники дводольних рослин — редька олійна (*Rhaphanus sativus* var. *oleifera*) та однодольних — ячмінь звичайний (*Hordeum vulgare*), які слугували моделями відповідних класів бур'янів. У дослідях використовували рослини у фазі 2–3 листка. Ефективність дії комерційних гербіцидів та їх композицій визначали на підставі оцінки відсотка загибелі досліджуваних рослин та візуальної оцінки їх загального стану за ознакою пригнічення росту рослин відносно контрольного варіанту та ступенем пошкодження рослин [23]. Досліди проводилися у трикратній повторності. Для статистичної оцінки отриманих результатів розраховували відносну похибку [24].

Для виявлення апоптотичних процесів у клітинах оброблених гербіцидами рослин використовували методи флуоресцентної мікроскопії та метод детектування специфічної нуклеосомної фрагментації ДНК *in situ* TUNEL (Terminal dUTP Nick — End Labeling) [25]. Вивчення

апоптозу проводили на 3-денних паростках редьки та ячменю після їх обробки розчинами гербіцидів, похідних динітроанілінів та їх композиціями. Можливість індукції апоптозу динітроанілінами, грамініцидами та їх композиціями досліджували при застосуванні динітроанілінів у концентрації 25 мкМ, фюзилад-форте — 0,9 мкМ (за діючою речовиною) та аксіалу — 1,9 мкМ (за діючою речовиною). Детектування життєздатності клітин коренів проводили за допомогою подвійного забарвлення флуоресцентними барвниками 4,6-діамідин-2-фенілндол (5 мкг/мл)/пропідіум йодид (25 мкг/мл). Ацидифікацію цитоплазми клітин визначали за допомогою фарбування акридиновим оранжевим (50 мкг/мл) [26, 27].

Для детектування специфічної нуклеосомної фрагментації ДНК *in situ* за допомогою ме-

тоду TUNEL використовували готовий набір In Situ Cell Death Detection Kit (Pierce, Німеччина). Отриманий матеріал досліджували за допомогою конфокального лазерного скануючого мікроскопа LSM 510 META (Carl Zeiss, Німеччина).

**ВИПРОБУВАННЯ РОЗРОБЛЕНИХ КОМПОЗИЦІЙ
НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ ДИНІТРОАНІЛІНІВ
ТА АРИЛОКСИФЕНОКСИПРОПІОНАТІВ
НА РОСЛИННИХ БІОТЕСТАХ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ
ЇХ ФІТОТОКСИЧНОЇ АКТИВНОСТІ**

Отримані результати свідчать про те, що обробка динітроанілінами у концентрації $9,0 \times 10^{-5}$ М не викликала пошкоджень рослин ячменю та редьки, причому стан рослин, оброблених динітроанілінами, суттєво не відрізнявся від контрольних (табл. 1 та 2, рис. 1).

Таблиця 1

Показники загибелі та пошкодження рослин ячменю та редьки після обробки їх речовинами динітроанілінового ряду, комерційними гербіцидами та їх композиціями, %

	Речовина	Ячмінь ярий				Редька олійна			
		пошк.		загібл.		пошк.		загібл.	
		7 доба	10 доба	7 доба	10 доба	7 доба	10 доба	7 доба	10 доба
1	Контроль	—	—	—	—	—	—	—	—
2	Аксіал	0	0	0	0	22,7	31,8	0	0
3	Фуроре-супер	100	100	0	18,2	0	0	0	0
4	Фюзилад-форте	100	100	0	50	0	0	0	0
5	Трифлуралін	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Вг-14	0	0	0	0	0	0	0	0
7	Вг-15	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Вг-47	0	0	0	0	0	0	0	0
9	Аксіал + ТФЛ	0	0	0	0	57,1	57,1	0	0
10	Аксіал + Вг-14	0	0	0	0	76,2	76,2	0	0
11	Аксіал+ Вг-15	0	0	0	0	77,7	77,7	0	0
12	Аксіал + Вг-47	0	0	0	0	80	80	0	0
13	Фуроре-супер + ТФЛ	100	100	0	50	0	0	0	0
14	Фуроре-супер + Вг-14	100	100	9	45,5	0	0	0	0
15	Фуроре-супер + Вг-15	86,3	100	4,5	54,5	0	0	0	0
16	Фуроре-супер + Вг-47	100	100	0	63,6	0	0	0	0
17	Фюзилад-форте + ТФЛ	95	100	0	80	0	0	0	0
18	Фюзилад-форте + Вг-14	100	100	0	87	0	0	0	0
19	Фюзилад-форте + Вг-15	100	100	0	92	0	0	0	0
20	Фюзилад-форте + Вг-47	86,4	100	0	91	0	0	0	0

Оцінка рівня пошкоджень рослин після обробки їх речовинами динітроанілінового ряду, комерційними гербіцидами та їх композиціями, %

	Речовина	Ячмінь ярий				Редька олійна			
		Час після обробки, доба				Час після обробки, доба			
		3 доба	5 доба	7 доба	10 доба	3 доба	5 доба	7 доба	10 доба
1	Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Аксіал	1,7	1,7	2,7	2	1,7	23,3	21,7	7,7
3	Фуроре-супер	28,3	47,7	50,0	79,3	0	0	0	0
4	Фюзилад-форте	15	58,3	49,7	94	0	0	0	0
5	ТФЛ	0	0	1,7	0	0	0	3,3	3,3
6	Вг-14	0	0	0	0	0	0	0	0
7	Вг- 15	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Вг- 47	0	1,7	0	0	0	0	0	0
9	Аксіал + ТФЛ	0	0	0	2	0	12,3	19	55
10	Аксіал + Вг-14	5	7,7	3,3	0	20	27,3	55	71
11	Аксіал+ Вг-15	1,7	0	0	0	3,3	26,7	30,7	41
12	Аксіал + Вг-47	0	0	0	0	0	21,7	35	37,3
13	Фуроре-супер + ТФЛ	40	63,3	66,7	95,3	0	1	0	0
14	Фуроре-супер + Вг-14	41,7	51,7	68,3	97,7	0	0	0	0
15	Фуроре-супер + Вг-15	33,3	46	75	95	0	1,7	0	0
16	Фуроре-супер + Вг-47	40	61,7	65	99	0	2,7	0	0
17	Фюзилад-форте + ТФЛ	28,33	77,3	75	99	0	0	0	0
18	Фюзилад-форте + Вг-14	46,7	61,7	85	97,7	0	0	0	0
19	Фюзилад-форте + Вг-15	35	52,7	68,3	95,7	0	0	0	0
20	Фюзилад-форте + Вг-47	31,67	73,3	81,7	98,7	0	0	0	0
	m _{ср}	2,77	3,71	2,26	1,45	0,84	1,34	1,74	1,49

Примітка: 0 % – рослини не мали пошкоджень, 100 % – повна загибель рослин.

Обробка рослин ячменю аксіалом також не викликала істотних змін у стані рослин порівняно з контрольним варіантом. Спостерігалось лише незначне відставання росту рослин відносно контролю. Пошкодження рослин у даних варіантах складало 1,7–2,7 % (табл. 1 та 2). Після обробки рослин редьки аксіалом на 3-ю добу спостерігали утворення на листі плям з хлорозним забарвленням та деформацію листових пластин. На 7-у і 10-у добу після обробки відсоток пошкоджених рослин зростав до 22,7 % і 31,8 % відповідно; загибелі рослин при цьому зафіксовано не було.

Обробка рослин ячменю гербіцидом фуроре-супер спричиняла негативний вплив на їх ріст та розвиток (табл. 1 та 2, рис. 1 (див. кольоро-

ву вклейку)). Було зафіксовано відставання рослин у рості та зів'янення листя. Кількість пошкоджених рослин на 7-у добу після обробки цим гербіцидом складала 100 %. На 10-у добу після обробки було зафіксовано загибель 18,2 % рослин внаслідок відмирання їх надземної частини. На рослини редьки обробка фуроре-супер ніяк не впливала, і стан рослин оцінювався на рівні контрольних варіантів.

Обробка рослин ячменю фюзиладом-форте супроводжувалася пригніченням росту, появою хлорозного забарвлення листків з подальшим їх відмиранням. Відсоток ушкоджених рослин на 7-у добу складав 100 % (табл. 1 та 2, рис. 1). На 10-у добу після обробки була за-

фіксована загибель 50 % рослин внаслідок відмирання їх надземної частини, тоді як на рослинах редьки негативного впливу фіюзиладу-форте не помічали.

Використання динітроанілінів у композиції з комерційними гербіцидами на основі арилоксифеноксипропіонатів супроводжувалося підсиленням дії останніх, але не впливало на їх селективність. Так, на 7-у добу після обробки паростків редьки композиціями динітроанілінів з аксіалом кількість пошкоджених рослин зростала з 22,7 до 57,1–80 % в залежності від типу використаної сполуки динітроанілінового ряду (див. табл. 1 та 2, рис. 1). Найбільше зростання ефективності тестованих сумішей спостерігали при використанні композиції аксіалу з Br-47. Водночас використання композицій даного комерційного гербіциду з похідними динітроаніліну не впливало негативно на рослини ярого ячменю.

Використання речовин динітроанілінового ряду у складі композицій з фуруре-супер також супроводжувалося підсиленням ефективності цього гербіциду. Так, загибель рослин ячменю на 10-у добу після обробки такими композиціями складала 45,5–63,6 % в залежності від типу використаного динітроаніліну проти 18,2 % при застосуванні даного гербіциду окремо. Симптоми ураження ячменю були таким ж самими, як і у випадку використання фуруре-супер без додавання динітроанілінів. Найбільш значне зростання ефективності гербіциду було відмічено при його використанні у композиції з Br-47. Знову ж таки, обробка посівів редьки композиціями фуруре-супер з динітроанілінами не викликала ніяких негативних змін.

При використанні протестованих динітроанілінів у складі композицій з фіюзиладом-форте для обробки рослин ячменю гербіцидний ефект композицій був вищим за ефективність фіюзилада-форте. Відсоток загиблих рослин на 10-у добу після таких обробок збільшувався з 50 % (при обробці фіюзиладом-форте) до 80–92 % в залежності від типу сполуки динітроанілінового ряду, використаної у складі компо-

зиції. Найбільш ефективними були композиції з фіюзиладом-форте, до складу яких входили Br-15 і Br-47. У цих випадках загибель рослин на 10-у добу складала 91 і 92 % відповідно. Суттєвого впливу даних композицій на рослини редьки не спостерігали.

**СКРИНІНГ РОЗРОБЛЕНИХ КОМПОЗИЦІЙ
НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ ДИНІТРОАНІЛІНІВ
ТА АРИЛОКСИФЕНОКСИПРОПІОНАТІВ
НА КЛІТИННИХ ТЕСТ-СИСТЕМАХ
ІЗ ВРАХУВАННЯМ ЇХ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ЕФЕКТІВ
ТА АПОПТИЧНОЇ ДІЇ У РОСЛИН**

На наступному етапі досліджень було проведено оцінку здатності синергічних композицій гербіцидів, обраних для вивчення, викликати апоптотичну відповідь у клітинах тестованих рослин. Фарбування акридиновим оранжевим *in vivo*, яке є одним з методів детектування апоптотичних клітин [28], дало можливість виявити вплив комерційних гербіцидів та їх композицій на процеси ацидифікації цитоплазми клітин кореня (рис. 2 (див. кольорову вклейку)). У контрольних варіантах (рис. 2: 1А, 1Б) після фарбування акридиновим оранжевим меристематичні клітини мали зелене забарвлення, яке вказує на відсутність кислої реакції цитоплазми, що характерно для нормального фізіологічного стану клітини. Однак у даному випадку чітко виділялися клітини кореневого чохла, які після фарбування акридиновим оранжевим набували червоного забарвлення. Це можна пояснити процесом ацидифікації клітин цієї групи, оскільки для даної зони кореня апоптоз є інтегральною складовою онтогенезу. Результати подвійного забарвлення 4,6-діамідино-2-фенілндолом/пропідіум йодидом також свідчать про життєздатність клітин (відсутність забарвлення пропідіум йодидом). Водночас у зоні диференціації спостерігали групу клітин, забарвлених у червоний колір, що характерно для реакції на пропідіум йодид. Наявність такої групи клітин може бути обумовлена процесами утворення судинних елементів кореня, які є невід'ємною складовою онтогенезу.

Обробка проростків ячменю та редьки грамініцидами обумовлювала збільшення кількості нежиттєздатних меристематичних клітин, але не індукувала процеси ацидифікації цитоплазми, про що свідчать червоне забарвлення клітин при фарбуванні їх *in vivo* 4,6-діамідино-2-феніліндолом і пропідіум йодидом та відсутність червоного забарвлення при фарбуванні акридин оранжесомним (рис. 2: 3А, 3Б). Після обробки проростків редьки похідним 2,6-динітротрифторметилу (Br-15) кількість нежиттєздатних клітин перевищувала 50 %, а ячменю — близько 100 % (рис. 2: 4А, 4Б). Також у цих варіантах спостерігалось зміщення флуоресценції акридинового оранжесомного в червону область спектра, що свідчить про ацидифікацію цитоплазми у клітинах коренів досліджуваного об'єкта. Найбільш чутливими до впливу похідних динітроаніліну виявилися корені проростків ячменю.

Застосування у досліді композицій грамініцидів з Br-15 призводило до посилення процесів ацидифікації цитоплазми меристематичних клітин кореня у порівнянні з варіантами використання даних гербіцидів окремо. На користь цього свідчить зміщення спектра флуоресценції акридинового оранжесомного у червону область (рис. 2: 5А, 5Б). Найбільш виражений ефект від застосування даної композиції спостерігався на коренях проростків ячменю. Отримані результати свідчать про те, що обробка тестованих об'єктів динітроаніліновими сполуками та їх композиціями з грамініцидами індукує процеси ацидифікації цитоплазми меристематичних клітин, при цьому ефективність даних сполук при використанні їх як композиції зростає.

Іншим показником наявності апоптотичних процесів у клітині є специфічна нуклеосомна фрагментація ДНК, яку виявляли *in situ* за допомогою TUNEL-методу. Як свідчать отримані результати, обробка проростків ячменю та редьки фізиладом-форте, аксіалом та сполуками динітроанілінового ряду у досліджуваних концентраціях не викликає фрагментації ДНК меристематичних клітин коренів пророс-

тків, про що свідчить відсутність позитивного сигналу (червоне забарвлення) в ядрах клітин після обробки цими речовинами (див. рис. 3: А, Б, Г, Д (див. кольорову вклейку)). Водночас у варіантах, де зразки були оброблені композиціями динітроанілінових сполук з грамініцидами, детектували позитивний сигнал в клітинах апікальної меристеми коренів проростків ячменю та редьки (див. рис. 3: В, Е), що свідчить про наявність специфічної нуклеосомної фрагментації ДНК. Одночасна наявність загиблих клітин, а також процесів ацидифікації цитоплазми та специфічної нуклеосомної фрагментації ДНК у клітинах після обробки досліджуваними композиціями свідчить про здатність їх викликати клітинну загибель внаслідок індукції апоптотичних процесів [29].

На основі отриманих даних можна стверджувати, що як і комерційний препарат трифлуралін, так і новосинтезовані динітроанілінові сполуки Br-14 (*N*-(2,4-динітрофеніл)-орто-амінобензойна кислота), Br-15 (*N,N*-диетил-2,6-динітро-4-(трифторметил)анілін) та Br-47 (*N*-(2,6-динітро-4-трифторметилфеніл)пропанол) при застосуванні їх у складі композицій з грамініцидами виступають як синергісти, не впливаючи на селективність останніх. Механізм виникнення ефекту синергізму при використанні композицій аксіалу, фураоре-супер та фізиладу-форте з трифлураліном та новосинтезованими динітроаніліновими сполуками полягає у їх здатності індукувати апоптотичні процеси в рослинній клітині.

На підставі проведених досліджень для використання в посівах зернових колоскових культур проти однодольних бур'янів можна рекомендувати композиції комерційних гербіцидів фураоре-супер та фізилад-форте з трифлураліном. Також можна вважати за перспективні композиції фізилад-форте з Br-47 і Br-15 та фураоре-супер з Br-47. Для використання в посівах зернових колоскових культур проти дводольних бур'янів можна рекомендувати композиції комерційного гербіциду аксіал з трифлураліном та Br-47.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баздырев Г.И., Решетникова Н.Г. Эффективность гербицидов в сочетании с ПАВ в посевах яровой пшеницы. — М: Агрорус, 2008. — № 4–6. — С. 47–49.
2. Брицун В.М., Ємець А.І., Лозинський М.О., Блюм Я.Б. 2,6-Динітроаніліни: синтез, гербіцидні та антипротозойні властивості // Ukr. Bioorg. Acta. — 2009. — 7, № 1. — С. 16–27.
3. Bloudin D.C., Webster E.P., Zhang W. Analysis of synergistic and antagonistic effects of herbicides using nonlinear mixed-model methodology // Weed Technol. — 2004. — Vol. 18, № 2. — P. 464–472.
4. Швартау В.В. Регуляція активності гербіцидів за допомогою хімічних сполук. — К: Логос. — 2004. — 223 с.
5. Hatzios K.K., Burgos N. Metabolism-based herbicide resistance: regulation by safeners // Weed Sci. — 2004. — Vol. 52, № 3. — P. 454–467.
6. Ньторко А.Ю., Ємець А.И., Брицун В.Н. и др. Структурно-биологическая характеристика взаимодействия тубулина с динитроанилинами // Цитол. и генетика. — 2009. — 43, № 4. — С. 56–70.
7. Blume Ya.B., Yemets A.I., Nyorko A.Yu., Baird W.V. Structural modelling of plant α -tubulin interaction with dinitroanilines and phosphoramidates // Cell Biol. Int. — 2003. — Vol. 27, № 3. — P. 171–174.
8. Morejohn L.C., Bureau T.E., Mole-Bajer J. et al. Oryzalin, a dinitroaniline herbicide, binds to plant tubulin and inhibits microtubule polymerization in vitro // Planta. — 1987. — Vol. 172. — P. 252–264.
9. Anthony R.G., Hussey P.J. Dinitroaniline herbicide resistance and the microtubule cytoskeleton // Trends Plant Sci. — 1999. — Vol. 4, №3. — P. 112–116.
10. Yemets A.I., Baird W.V., Blume Ya.B. Modified tubulin genes as selectable markers for plant transformation // In: The Plant Cytoskeleton: Key Tool for Agro-Biotechnology (Eds Blume Ya.B., Baird W.V., Yemets A.I., Breviaro D.). — 2008. — Springer: Dordrecht. — P. 435–454.
11. Yemets A.I., Blume Ya.B. Progress in plant polyploidization based on antimicrotubular drugs // The Open Horticulture J. — 2008. — Vol. 1, № 1. — P. 15–20.
12. Yemets A.I., Blume Ya.B. Antimitotic drugs for microprotoplast-mediated chromosome transfer in plant genomics, cell engineering and breeding // In: The Plant Cytoskeleton: Key Tool for Agro-Biotechnology (Eds Blume Ya.B., Baird W.V., Yemets A.I., Breviaro D.). — 2008b. — Springer: Dordrecht. — P. 419–434.
13. Thais C.C., Fernandes D.E., Marin-Morales M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide // Pest. Biochem. Physiol. — 2007. — Vol. 88, № 3. — P. 252–259.
14. Bannigan A., Wiedemeier A.M., Williamson R.E. et al. Cortical microtubule arrays lose uniform alignment between cells and are oryzalin resistant in the Arabidopsis mutant, radially swollen 6 // Plant Cell Physiol. — 2006. — Vol. 47, № 7. — P. 949–958.
15. Baskin T.I., Wilson J.E., Cork A., Williamson R.E. Morphology and microtubule organization in *Arabidopsis* roots exposed to oryzalin or taxol // Plant Cell Physiol. — 1994. — Vol. 35, № 6. — P. 935–942.
16. Vaughn K.C. Anticytoskeletal herbicides // In: Plant microtubules: potential for biotechnology (Ed. P. Nick). — 2000. — Springer Verlag: Berlin, Heidelberg. — P. 193–205.
17. Fenderson J.M., O'Neal W.B., Quaghebeur T. et al. Synergistic herbicidal compositions of dimethenamid and dinitroaniline herbicides // US Patent. — 1999. — № 5928996.
18. James D.R., Felix R.A. Herbicidal substituted 1-phenyl or 1-pyridyl-benzotriazoles // WO/1994/025446.
19. Gamblin A., Hewett R.H. Synergistic herbicidal compositions comprising 4-benzoylisoxazole and dinitroaniline herbicides // US Patent № 5552367. — 1996.
20. North D.J. Herbicidal composition // World Intellectual Property Org. Int. Publication № WO/2006/061562 — 2005.
21. Ожередов С.П., Ємець А.И., Брицун В.Н. и др. Скрининг новых производных 2,4- и 2,6-динитроанилинов на фитотоксичность и антимиотическую активность // Цитол. и генетика. — 2009. — Т. 43, № 5. — С. 3–13.
22. Ожередов С.П., Ємець А.И., Литвин Д.И. и др. Антимиотическое действие новых производных 2,6-динитроанилина и их синергическая активность в композициях с граминицидами // Цитол. и генетика. — 2010. — Т. 44, № 5. — С. 54–59.
23. Трибеля С.О., Сігарьова Д.Д., Секун М.П. та ін. Методи випробування та застосування пестицидів // За ред. С. О. Трибеля. — К: Світ. — 2001. — 448 с.
24. Лакін Г.Ф. Біометрія. — М.: Высшая школа, 1990. — 352 с.
25. Kockx M., Muhring J., Knaapen M. Detection of apoptosis in atherosclerosis and restenosis by terminal dUTP nick-end labeling (TUNEL) // Methods Mol. Med. — 1999. — Vol. 30. — P. 223–230.
26. Беляева Т.Н., Кроленко С.А., Леонтьева Е.А. и др. Распределение и спектры флуоресценции АО в миоблестах и одиночных мышечных волокнах // Цитология. — 2009. — Т. 51, № 2. — С. 103–110.
27. Zelenin A.V. Fluorescence microscopy of lysosomes and related structures in living cells // Nature. — 1966. — Vol. 212. — P. 425–426.
28. Mpoke S., Wolfe J. Differential staining of apoptotic nuclei in living cells: application to macronuclear elimination in *Tetrahymena* // J. Histochem. Cytochem. — 1997. — Vol. 45, № 5. — P. 675–683.
29. Lecoeur H. Nuclear apoptosis detection by flow cytometry: influence of endogenous endonucleases // Exp. Cell Res. — 2002. — Vol. 277. — P. 1–14.

С.П. Ожередов, Д.И. Литвин,
С.И. Спивак, А.И. Емец, Я.Б. Блюм

ИСПЫТАНИЕ И ВНЕДРЕНИЕ СИНЕРГИЧЕСКИХ
КОМПОЗИЦИЙ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ
ГЕРБИЦИДОВ ДЛЯ ЗЕРНОВЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ
КУЛЬТУР: СКРИНИНГ КОМПОЗИЦИЙ
И ИСПЫТАНИЕ ИХ ГЕРБИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ

Разработаны системы повышения активности гербицидов для послевсходовой борьбы с однолетними и многолетними однодольными сорняками в посевах однодольных злаковых (озимая пшеница) и двудольных культур (рапс, подсолнечник и др.) путем получения высокоэффективных композиций на основе коммерческих граминцидов и производных динитроанилина. Показано, что исследованные динитроанилиновые соединения, коммерческие гербициды «Аксиал» (Syngenta), «Фуроре-супер» (Bayer CropScience) и «Фюзилад-форте» (Syngenta), а также их композиции являются активными индукторами апоптоза в растительной клетке. Выяснено, что индукция апоптотических процессов происходит вследствие возникновения эффекта синергизма при применении коммерческих граминцидов и новых производных динитроанилина в качестве гербицидной композиции.

Ключевые слова: гербициды, арилоксифеноксипропионаты, фенилпиразолины, производные динитроанилина, синергизм, апоптоз, сорняки, зерновые, технические культуры.

S.P. Ozheredov, D.I. Lytvyn,
S.I. Spivak, A.I. Yemets, Y.B. Blume

TESTING AND IMPLEMENTATION OF HIGHLY
EFFICIENT SYNERGISTIC HERBICIDES
COMPOSITIONS IN GRAIN AND INDUSTRIAL
CROPS: SCREENING OF COMPOSITIONS
AND TESTING THEIR HERBICIDE ACTIVITY

Systems for herbicide activity increasing for postemergence prevention of annual and perennial monocotyledonous weeds invasion in crops of monocotyledonous cereals (winter wheat) and dicotyledonous crops (rapeseed, sunflower, etc.) using highly efficient compositions based on commercial graminicides and derivatives of dinitroanilines are developed. It is shown that the investigated compounds dinitroaniline, commercial herbicides «Aksial» (Syngenta), «Furore-Super» (Bayer CropScience) and «Fyuzilad forte» (Syngenta), as well as their compositions are active inducers of apoptosis in a plant cell. It was found that the induction of apoptotic processes occurs as a result of synergistic effect of the application of commercial graminicides and new dinitroaniline derivatives as herbicide composition.

Key words: herbicides, aryloxyphenoxypropionates, phenylpyrazoline, dinitroaniline derivatives, synergism, apoptosis, weeds, crops and industrial crops.

Надійшла до редакції 18.10.11



Рис. 1. Стан рослин на 10-у добу після обробки досліджуваними гербіцидами, динітроанілінами та їх композиціями: *A* – контрольний варіант (0,5 % диметилсульфоксид); *Б* – аксіал; *В* – фулоре-супер; *Г* – фюзилад-форте; *Д* – Вг-15; *Е* – Вг-47; *Ж* – аксіал + Вг-47; *З* – фулоре-супер + Вг-47; *К* – фюзилад-форте + Вг-15; *Л* – фюзилад-форте + Вг-47

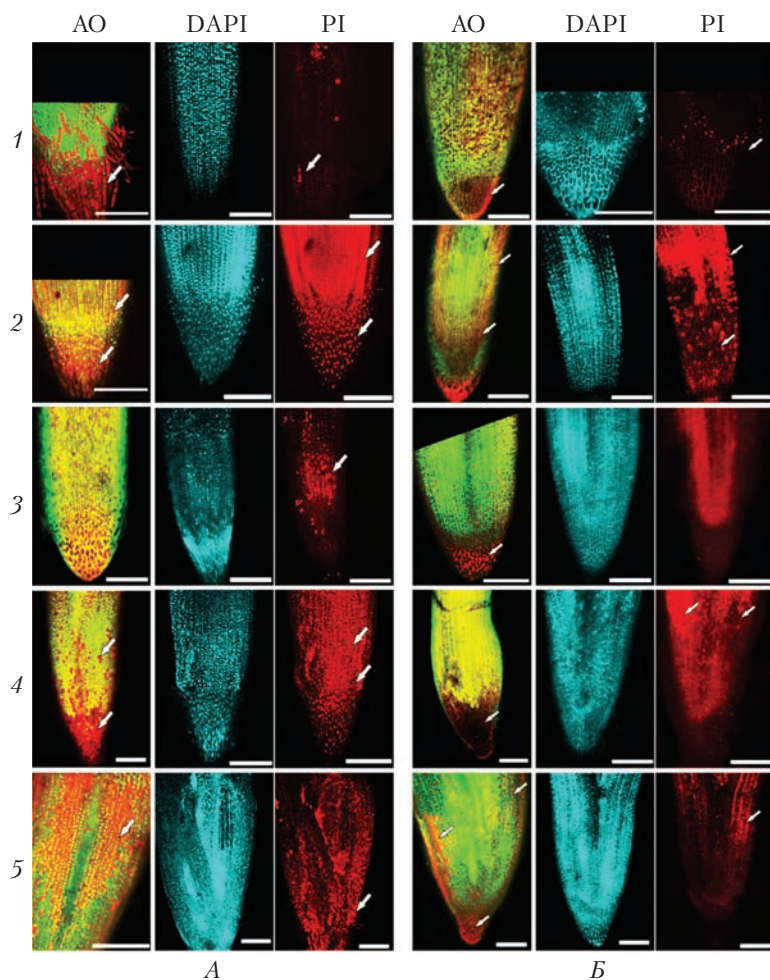


Рис. 2. Вплив досліджуваних гербіцидів та їх композицій на життєздатність та рівень ацидифікації цитоплазми клітин апікальної меристеми коренів проростків ячменю (А) та редьки олійної (Б): 1 – негативний контроль; 2 – позитивний контроль; 3А – фюзилад-форте; 3Б – аксіал, 4 – Br 15; 5А – фюзилад-форте + Br 15; 5Б – аксіал + Br 15; бар – 200 мкм

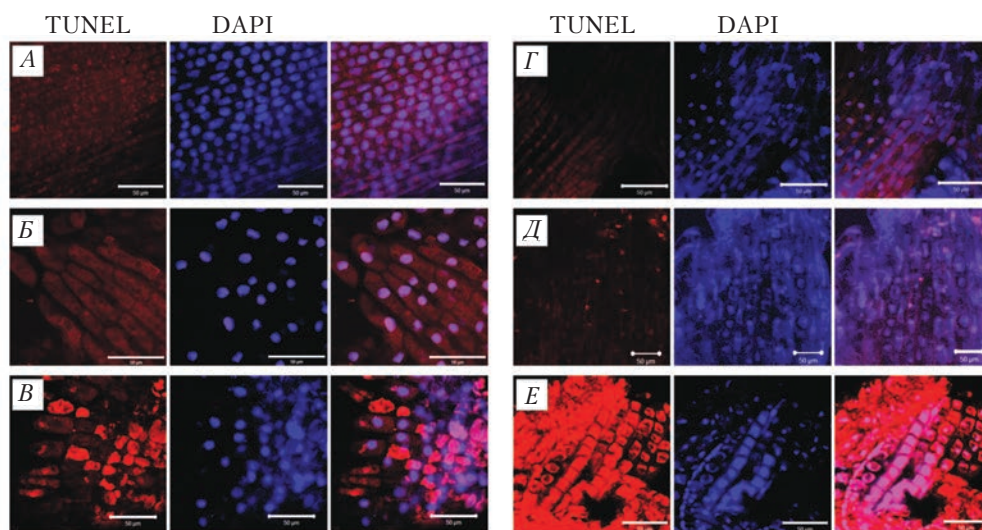


Рис. 3. Детектування фрагментації ДНК в меристемі коренів проростків ячменю (А–Б) и редьки (Г–Е): за допомогою *in situ* методу TUNEL після обробки: А – фюзилад-форте; Б – Br-47; Б – фюзилад-форте + Br-47; Г – аксіал; Д – Br 47; Е – аксіал + Br-47; бар – 50 мкм