

СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ	2
РЕФЕРАТ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ	6
1.1 Вред сорных растений.....	8
1.2 Действие метрибузина. Химизм метрибузина	10
1.3 Токсическое действие метрибузина на окружающую среду	13
1.4 Фотосинтез	15
1.5 Влияние гербицида на фотосинтетический аппарат растений	20
ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	Ошибка! Закладка не определена.
2.1 Вакуумная инфильтрация листьев <i>Lactuca sativa</i> L. растворами гербицида метрибуза в диапазоне концентраций 0,5 – 2,5 мг/л	Ошибка! Закладка не определена.
2.2 Выращивание растений на ватных дисках.....	Ошибка! Закладка не определена.
2.3 Длительный эксперимент по выращиванию культурных и сорных растений.....	Ошибка! Закладка не определена.
2.4 Выращивание растений в вегетационных камерах.	Ошибка! Закладка не определена.
РЕЗУЛЬТАТЫ	Ошибка! Закладка не определена.
3.1 Вакуумная инфильтрация листьев <i>Lactuca sativa</i> L. растворами метрибуза в диапазоне концентраций 0,05 – 5,0.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.2 Выращивание растений на ватных дисках.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.3 Действие гербицида метрибузина в длительном эксперименте на состав фотосинтетических пигментов и показатели фотосинтетического аппарата.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.4 Выращивание растений в вегетационных камерах.	Ошибка! Закладка не определена.
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	23
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	24

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Исследование действия гербицида метрибузина на фотосинтетический аппарат культурных и сорных растений» содержит 56 страниц текстового документа, 21 рисунок, 3 таблицы.

МЕТРИБУЗИН, ГЕРБИЦИД, ТОКСИЧНОСТЬ, ФОТОСИНТЕЗ, ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА

Сорные растения наносят огромный вред сельскохозяйственной отрасли; снижается урожай культурных растений, кормовых культур в связи с этим урон наносится животноводству. Поэтому важно грамотно и эффективно бороться с сорняками в посевах. Химический способ борьбы с сорняками является наиболее удобным и эффективным.

Цель работы: оценить механизм действия гербицида метрибузина фотосинтетический аппарат культурных и сорных растений.

Задачи:

1. Изучить механизм действия коммерческого препарата метрибузина;
2. Изучить эффективность применения экспериментальной формы гербицида метрибузина;
3. Изучить действие гербицида метрибузина в лабораторных условиях в посевах зерновых и овощных культур, зараженных сорными растениями.

В результате проведения серий экспериментов по изучению действия двух разных форм гербицида метрибузина установлено, что действие разработанной формы внесения гербицида имеет большую продолжительность и эффективность.

ВВЕДЕНИЕ

Важной практической задачей в производственных системах является решение проблемы борьбы с сорными растениями, а так же увеличение урожая культурных растений и качества сельскохозяйственной продукции (Agostinetto D. и др., 2016). Возможности борьбы с сорняками расширились, в частности из-за применения химического метода. Следует отметить, что гербициды наряду с другими факторами усовершенствовали земледелие. Гербициды все шире используются в развитых странах (Захарченко В. А., 1990).

В настоящее время химический контроль является наиболее популярным методом борьбы с сорняками из-за его удобства и эффективности по сравнению с другими методами борьбы с сорными растениями (Hoar S. K., 1986; Hermanutz L. A., 1994; Tamru S., 2017). Однако генетический состав вида или сорта может определять различные степени устойчивости или восприимчивости к действию гербицида. Избирательное действие гербицида основано на способности растения быстро метаболизировать гербицид, образуя нефитотоксичные соединения. Тем не менее, генетический состав вида или сорта может определить различные степени толерантности или восприимчивости к гербицидам. Применение гербицида может вызывать стресс даже у толерантных сортов растений, при этом увеличивается содержание фитотоксичных веществ, что негативно влияет на рост, развитие и продуктивность растения. Негативный эффект стресса проявляется окислительными повреждениями, вызванными активными формами кислорода. Ответом на повреждения является изливание клеточного содержимого в среду, которая расположена вокруг поврежденной ткани, нарушая некоторые физиологические и метаболические процессы. Но растения имеют защитные механизмы, то есть антиоксидантную защиту. Избирательное действие гербицидов можно оценить визуально по морфологическим симптомам или иным чертам фитотоксичности растений. Так же важно проверить эффективность гербицидов в контроле над сорняками (Agostinetto D. и др., 2016). В

результате засорения сорняками на разных культурных посевах теряется от 3% до 18% урожая (Захарченко В. А., 1990). Применение гербицида приводит к снижению засоренности сорняками посевов, и это положительно сказывается на урожайности культурных растений. Однако применение гербицида должно быть обосновано со стороны уровня засоренности посевов сорняками и экономически оправдано. Уровень засоренности, ведущий к потере урожая равный по стоимости затратам на применение гербицидов, должен не только окупить затраты дополнительным урожаем, но и принести доход (Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010). Важно, чтобы действие гербицида было эффективным и направленным. Метрибузин – асимметричный триазиновый гербицид, который обладает весьма высокой биологической эффективностью в различных климатических зонах. Этот гербицид применяют до появления и после появления всходов для борьбы с сорняками. Метрибузин легко растворяется в воде и слабо сорбируется в почве, загрязняя грунтовые воды. Потеря активности метрибузина чаще всего связана с его вымыванием из нижних слоев почвы (Volova T. G. и др., 2016).

Цель работы: оценить механизм действия гербицида метрибузина фотосинтетический аппарат культурных и сорных растений.

Задачи:

1. Изучить механизм действия коммерческого препарата метрибузина;
2. Изучить эффективность применения экспериментальной формы гербицида метрибузина;
3. Изучить действие гербицида метрибузина в лабораторных условиях в посевах зерновых и овощных культур, зараженных сорными растениями.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

В течение многих лет гербициды играли жизненно важную роль в растениеводстве. Их использование позволило значительно расширить выращиваемые фермерами виды культур, что привело к сдвигу в сторону почво- и водосберегающих, и энергоэффективных систем земледелия. Многие новые гербициды были открыты и разработаны в 1960-х и 1970-х годах. Метрибузин был впервые зарегистрирован в 1968 году. Применение метрибузина началось с 1971 года (Holm F. A., Johnson E. N., 2009).

В качестве гербицида могут выступать неорганические и органические вещества различных классов химических соединений. В один класс могут быть объединены соединения, имеющие сходное строение и механизм действия, но различные по гербицидной активности, избирательности к культуре, токсическим свойствам (Захарченко В. А., 1990).

Гербициды подразделяют на группы по различным характеристикам и основным практических целей применения (Захарченко В. А., 1990). По характеру действия на видовой состав растений они делятся на две группы: сплошного действия и избирательного (селективного) действия. Гербициды сплошного действия поражают все виды растений, а гербициды избирательного (селективного) действия в определенных дозах относительно безопасны для других видов. Так же гербициды разделяют: контактные и системные. Контактные гербициды поражают растения в местах непосредственного попадания на листья, стебли или корни, вызывая ожоги, некроз, а затем и гибель наземных органов растений или их молодых проростков в почве. Системные гербициды, попадая в растения через наземные органы или корни, способны передвигаться по растению и оказывать токсическое действие в разных органах растений, например, проникая в растения, гербицид системного действиям влияет на процесс фотосинтеза и другие, жизненно важные процессы (Захарченко В. А., 1990; Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010). Немаловажно время внесения

гербицидов, поэтому по срокам применения гербициды бывают: предпосевные, то есть вносят до посева или посадки культурных растений; предвсходовые, которые вносят после посева или посадки, но до появления всходов; после всходов, которые вносят после появления всходов культурных растений, в различные вегетационные периоды (Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010).

Способы внесения гербицидов могут отличаться в зависимости от типа гербицида. Выделяют следующие способы внесения: опрыскивание (сплошное, ленточное и гнездовое); внесение гранулированных препаратов; внесение в виде пены; внесение с помощью валиков; внесение с поливной водой (гербигация) (Мельников Н. Н., 1987; Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010). Многие современные гербициды вносят путем опрыскивания. Кроме сплошного опрыскивания возможно ленточное и гнездовое внесение препаратов, которое применяют на пропашных культурах, в садах, виноградниках, лесопитомниках. Такой способ внесения вещества позволяет снизить норму расхода и снизить опасность загрязнения почвы (Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010).

В настоящее время ведутся исследования по усовершенствованию метода внесения пестицидов. Необходимо, чтобы гербицид был эффективен, имел направленное действие и низкий токсический выброс в окружающую среду (Volova T. G. и др., 2016). Было установлено, что метрибузин в составе матрицы разлагаемого природного полимерного поли (3-гидроксипропиридата) (РЗНВ) и его композитов с поли (этиленгликолем) (PEG) показал более эффективный выход действующего вещества. Применение этого долгосрочного состава позволит уменьшить выброс химических веществ в окружающую среду. Благодаря этому ограничится скорость накопления токсических соединений в трофических цепях экосистем и уменьшится их неблагоприятное воздействие на биосферу (Boyandin A. N. И др., 2016)

При использовании гербицида следует соблюдать технику безопасности. Работающие с гербицидами в поле должны быть облачены в

спецодежду (комбинезоны, резиновые сапоги, рукавицы или перчатки), дыхательные пути следует прикрыть защитными респираторами или марлевыми повязками. Во время работы с гербицидами запрещается пить и курить, перед едой и курением надо обязательно снять спецодежду, вымыть руки и лицо, прополоскать рот водой. После окончания работ с ядохимикатами спецодежду тщательно очистить от остатков пестицидов (Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010).

1.1 Вред сорных растений

Сорными растениями следует считать дикорастущие растения, обитающие на сельскохозяйственных угодьях и снижающие величину и качество продукции. Различают 3 группы сорняков (по А.И. Мальцеву): сорно-полевые (сегетальные), мусорные (рудеральные) и сорную растительность естественных угодий (растения, появляющиеся на лесных вырубках, пожарищах и др.) (Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010).

Снижение продуктивности урожая культурных растений на засоренных полях вызвано тем, что сорные растения отнимают у культурных воду, свет и питательные вещества. От затенения сорняками культурные растения сильно страдают в раннем возрасте, когда активно развивающиеся сорняки опережают развитие культурных растений. Сорные растения потребляют большое количество воды и питательных веществ в отличие от культурных растений. Сорняки не только снижают урожай, но и снижают его качество. Сорные растения приводят к увеличению затрат на обработку почвы, на очистку семян культурных растений от семян сорняков, а так же наблюдается снижение качества продуктов животноводства. Сорные растения несут опасность заражения болезнями культурных растений, а так же могут причинить вред здоровью человека. Из выше изложенного следует, что на посевах необходим контроль засоренности посевов или борьба сорняками (Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010; Zimdahl R. L., 2018).

Агротехника – система приемов возделывания сельскохозяйственных культур. К её приемам относятся: севооборот, который приводит к снижению засоренности посевов; обработка почвы; внесение удобрений, борьба с вредителями; болезнями и сорняками и др. (Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010).

Обработка растений гербицидами относится к химическому методу борьбы с сорными растениями. Использование гербицидов приводит к снижению количества сорняков на полях и благоприятно сказывается на урожайности культурных растений. Это подтверждается мировым опытом (Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф., 2010).

Интенсивное использование гербицидов в течение последних шести десятилетий привело к развитию большого количества случаев устойчивости к гербицидам у сорных растений. Однако это еще не привело к снижению использования гербицидов, конечно, была снижена эффективность некоторых гербицидов на многих фермах. Устойчивые к гербицидам сорняки являются хорошим напоминанием о ненадежности, присущей чрезмерной зависимости от одного метода борьбы с сорняками. Эта проблема стимулирует возобновление интереса к разработке экономически эффективных интегрированных систем борьбы с сорняками (Holm F. A., Johnson E. N., 2009; Nabipour M., и др, 2017).

Исследование, деградации белка D1 вызванной светом в клетках *Chenopodium rubrum* устойчивых и чувствительных культур к метрибузину. Выявлено, что устойчивые клеточные культуры имеют двойные и тройные мутации в белке D1 фотосистемы II, и вероятно эти мутации, являются первичной основой устойчивости к различным вариантам гербицидов в дополнение к нескольким очевидным адаптивным механизмам в линиях устойчивых клеток. Исследования скорости деградации белка D 1 в условиях высокой освещенности выявили значительное снижение скорости деградации в клетках с низкой устойчивостью, однако линии клеток с высокой устойчивостью показали лишь незначительное снижение по сравнению с клетками растения дикого типа. Выявлено, что в присутствии

сублетальных доз метрибузина время полужизни белка D 1 увеличивается в 5 раз в случае клеток дикого типа, но только в 2-2,5 раза в случае резистентных клеточных линий (Schwenger-Erger C., Barz W., 2000).

Применение гербицидов широко развито по всему миру и это стимулирует образование толерантных видов. Внутри вида развитие толерантности или устойчивости к гербицидам зависит от количества генетических изменений в популяции, его способа наследования и интенсивности отбора. Толерантность относится к нормальной изменчивости, обнаруженной у отдельных видов. Некоторые особи проявляют сниженную реакцию на низкие дозы гербицидов, в то время как устойчивость определяется как отсутствие реакции на гербицид при нормальных полевых реакциях у видов, которые обычно восприимчивы. Изменчивость толерантности может быть результатом либо различий в поглощении гербицидов и их перераспределения, либо различий в метаболизме растений и гербицидах. Выделяют следующие факторы, определяющие скорость появления толерантности или устойчивости: динамика прорастания, время генерации, запас семян и их перенос, применяемая смесь гербицидов и их эффективные показатели уничтожения (Hermanutz L. A., Weaver S. E., 1994).

На орошаемых и сухих почвах ячменя была проведена обработка гербицидом. Метрибузин дал хороший контроль над широколиственными сорняками во всех испытаниях. Более того, контроль *Avena fatua* варьировался 20% – 97%, у орошаемого ячменя в засушливых районах 75% – 97%. Борьба с сорняками была выше при орошении дождеванием, чем при поверхностном поливе (Rosock R. L. и др., 1980).

1.2 Действие метрибузина. Химизм метрибузина

Метрибузин – является системным гербицидом на основе триазинона (Delancey J. O. L. И др., 2009). По способу действия избирательный. Механизм действия ингибирование фотосинтетического аппарата.

Применяется для борьбы с однолетними двудольными и злаковыми сорняками в посадках картофеля, томатов, люцерны 2-го года вегетации, розы эфирномасличной. Метрибузин относится к 1,2,4-триазинонам. Этот гербицид отличается широким спектром действия на ряд двудольных и злаковых сорняков. Препараты данной группы обладают продолжительным эффектом, так как действуют как через листья, так и через почву.

Метрибузин эффективен против следующих сорных растений: амброзия, щетинник, пастушья сумка, лисохвост полевой, портулак огородный, овсюг, осот, лазорник, куриное просо, плевел, щетинник, щирица, василек синий, марь белая, мокрица, ромашка луговая и непахучая, горец, горчица полевая, вероника, росичка кровяная, дурнишник.

Слабо воздействует или не действует на пырей ползучий, сыти, паслен черный, бодяк полевой, вьюнок полевой, подмаренник цепной, многолетние злаковые сорняки (Пестициды, содержит информацию о многих пестицидах, агрохимикатах. Электронный ресурс).

Метрибузин рассеивается с поверхности стекла и почвы путем улетучивания и / или фоторазложения. В лабораторных исследованиях зафиксировали потерю летучести с поверхности почвы, приближающуюся к 10–12% от количества, применяемых в течение первых нескольких часов после внесения, но после этого резко снижались. Увеличение влажности почвы с 3 до 30% способно уменьшить летучесть метрибузина, вероятно, из-за влияния растворимости на давление паров. Быстрая потеря метрибузина со стеклянных поверхностей происходила при облучении люминесцентными лампами; экспоненциальная потеря наблюдалась в течение 8-часового периода, время полураспада составило 4 часа. Потеря метрибузина с поверхности почвы была медленнее, но 30 – 50% от нанесенного гербицида можно было потерять в течение 1-2 дней. Потери с поверхности почвы наблюдались в течение 5-7 дней. Значения периода полураспада составило 4 – 5 дней, расчет был проведен для метрибузина на поверхности почвы при воздействии сильного солнечного света и высоких температур (Savage K. E.

И др.,1980).

Получают метрибузин из триметилпировиноградной кислоты, тиокарбазида и йодистого метила.

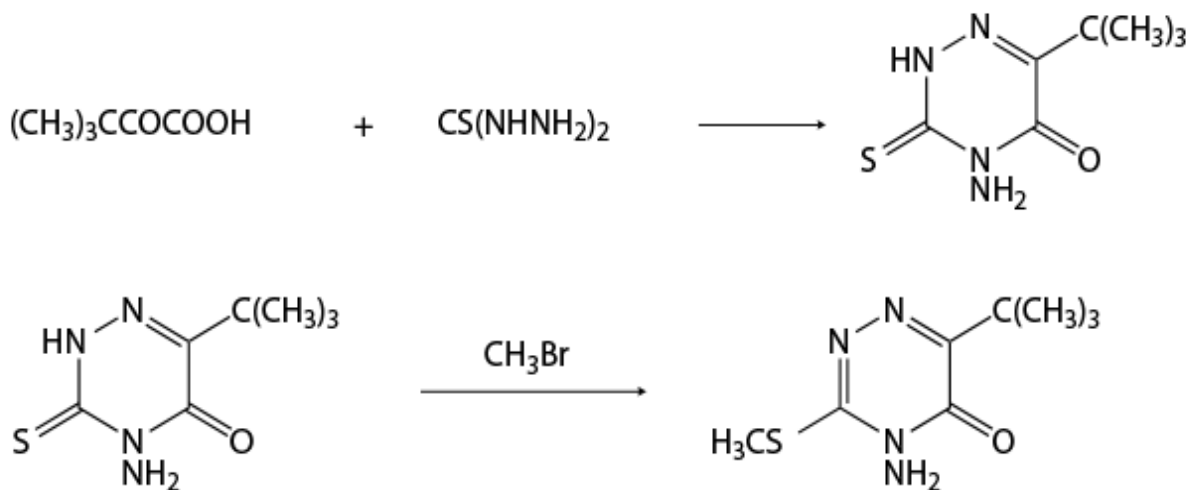


Рисунок 1 – Схема получения метрибузина

Метрибузин ингибирует фотосинтетический транспорт электронов, вытесняя вторичный акцептор электронов Qa из своей связывающей ниши в белке D 1 фотосистемы II (PS 11) (Schwenger-Erger C., Barz W., 2000). Метрибузин проявляет гербицидный эффект через 7–14 дней, что зависит от характеристик почвы и погодных условий

Поглощение гербицида корнями растения - симптомы его действия проявятся в нижних листьях, затем прогрессируя эффект дойдет до верхушки растения и будет последующий межклеточный хлороз (жилки остаются зелеными) с некрозом кончиков листьев и краев. Гибель сорняка наступит, как только начнется фотосинтез. Также растения опрыскивают метрибузином (Devine M. D., и др., 1993).

Гербицид является гетероциклическими, метрибузин представляет собой асимметричный триазинон.

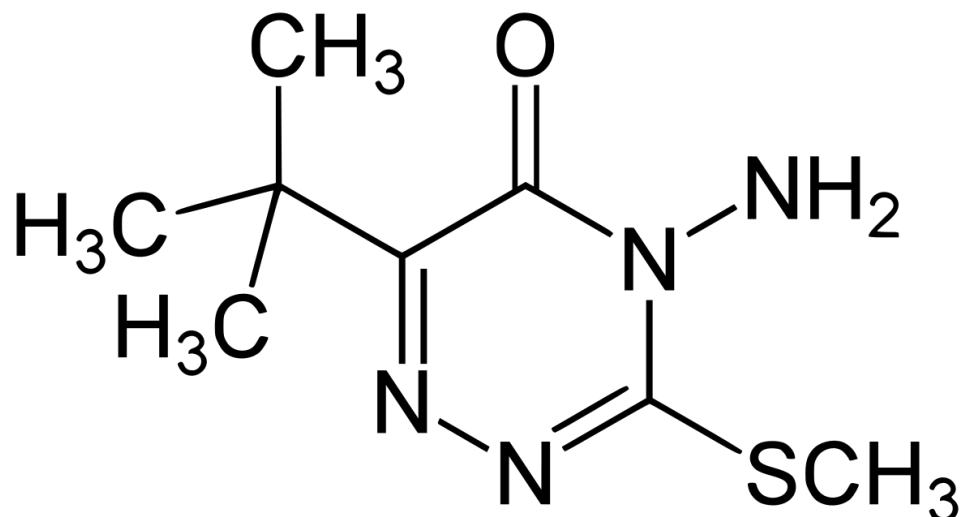


Рисунок 2 – Строение молекулы гербицида метрибузина

Метаболизм метрибузина в растениях идет следующим образом: гидроксилирование, дезаминирование, конъюгация. В почве разлагается в течении 30-60 дней. Гербицид легко усваивается корнями и перемещается вверх растения по ксилеме при поглощении листьями реакция гербицида не распространяется на другие органы растения (Кондратенко О. В. и др, 2016).

1.3 Токсическое действие метрибузина на окружающую среду

Метрибузин сравнительно малотоксичен и не обладает раздражающим действием. Гербицид умеренно токсичен для рыб. Неприемлемо присутствие препарата в воде рыбохозяйственных водоемов. В почве разлагается в течение 1-3 месяцев. Вещество малотоксично для большинства полезных насекомых. Малотоксичен для пчел (4-ый класс опасности). Препараты на основе метрибузина относятся к 3 классу опасности для человека и 3 и 4 классам опасности для пчёл (http://www.pesticidy.ru/active_substance/metribuzin).

Метрибузин был классифицирован Агентством по охране окружающей среды как химическое вещество группы D, «не поддающееся классификации в отношении канцерогенности для человека» из-за не точных данных о канцерогенности из биологических исследований на

животных и отсутствия данных о канцерогенности для людей. Тесты на мутагенность и генотоксичность метрибузина дали противоречивые результаты. Отрицательные результаты получили в исследовании генотоксичности *in vivo* с использованием теста соматической мутации и рекомбинации на крыльях *Drosophila melanogaster*. Статистически значимое увеличение обмена сестринскими хроматидами наблюдалось в человеческих лимфоцитах *in vitro* при обработке метрибузином и метаболической смесью, но не при лечении одним метрибузином, хотя наблюдались цитотоксические эффекты, выраженные в клеточной гибели. Исследования генотоксичности *in vitro* показали отрицательные результаты с использованием анализа бактериальной реверсии в *Escherichia coli*. Исследование, проведенное на головастиках *Rana catesbeiana*, выявило значительное повреждение ДНК при всех дозах воздействия метрибузина (Delancey J. O. L. и др., 2009).

Известно, что существует два эпидемиологических исследования, изучающих связь между воздействием метрибузина и раком. В первом случае изучали связь между применением метрибузина и частотой неходжкинской лимфомы. Исследование было проведено в рамках объединенного анализа в 1980-х годов с целью изучения использования пестицидов на ферме. В этом исследовании постоянное использование метрибузина не было связано с увеличением частоты неходжкинской лимфомы. Вторым исследованием было изучение связи применения пестицидов и риска развития глиомы, проведенное в рамках исследования здоровья штата Небраска. Это исследование выявило значительно повышенный риск развития глиомы (Delancey J. O. L. и др., 2009).

Отравление сельскохозяйственных животных и птиц ежегодно наносят урон агропромышленному комплексу. Накопление пестицидов в кормовых культурах и последующее накопление в растительных и животных клетках происходит из-за внесения в почву пестицидов и предпосевной обработки зерна. Это объясняет повышение их концентрации в звеньях трофической цепи и вред жизнедеятельности организмов.

Повышенное содержание пестицидов в кормах может привести к развитию разнообразных патологий, например, молоко и яйцо будут иметь низкую пищевую ценность и в отдельных случаях могут представлять опасность для здоровья человека. Метрибузин не оказывает реакции «отказа» от корма, в котором он содержится в токсических дозах, из-за чего может вызвать массовые отравления и гибель диких и домашних животных, отравления также могут наступить вследствие небрежного применения и хранения гербицида, разбрасывании и рассеивании его остатков.

Чаще всего гербицид попадает в тело животных через желудочно-кишечный тракт и легкие, но возможно проникновение и через кожу. Опасность возрастает при растворении гербицида в органических растворителях, в этом случае скорость их всасывания повышается. Известно, что после термической обработки продуктов растительного и животного происхождения не снижается избыточное количество токсина в них, хотя метрибузин и не относится к высокотоксичным соединениям, отравления возникают в связи с его способностью к кумуляции. В первую очередь препарат накапливается в органах, богатых липидами и жирами: в подкожном и внутреннем жире, печени, железах внутренней секреции, головном и спинном мозге. Образующиеся продукты его окисления вызывают инактивацию митохондрий печени (Мифтахутдинов А. В., Вильвер Д. С., 2018).

1.4 Фотосинтез

Фотосинтез это процесс, при котором растения на солнечном свете синтезируют органические из неорганических соединений. Процесс фотосинтеза является уникальным биологическим явлением, протекающим с увеличением и запасанием свободной энергии. Фотосинтез протекает в тканях листа называемой хлоренхимой (мезофилл) так как она состоит из паренхимных клеток содержащих хлоропласты.

Хлоропласты это пластиды клетки, имеющие собственное ядро и двойную мембрану. Так же они имеют сложную мембранную организацию, таким образом, наружная мембрана проницаема для большинства органических молекул, внутренняя мембрана сходна с плазмалеммой. Внутренняя мембрана имеет тилакоиды гран и тилакоиды стромы. Тилакоиды пронизывают весь хлоропласт и образуют единую мембранную систему пластиды. Во внутренних мембранах обоих типов тилакоидов локализованы фотосинтетические пигменты, компоненты электронтранспортной цепи и синтеза АТФ (Медведев С. С., 2013).

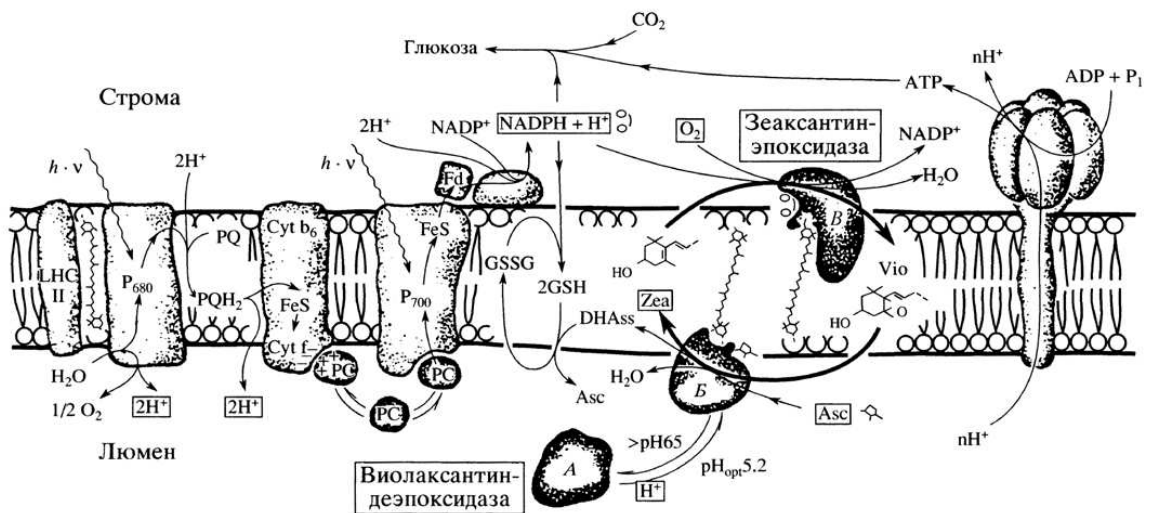


Рисунок 3 – Локализация ферментов в мембранах тилакоидов: виолаксантиновой деэпоксидазы в неактивном (А) и активном (В) состояниях и прочно связанной зеаксантиновой эпоксидазы (В) (Ладыгин В. Г., 2015)

Видимый свет это область электромагнитного спектра, которую способен увидеть человеческий глаз. Этот свет охватывает область 400 – 700 нм. Все растения способны поглощать видимый свет и переводить его в возбужденное состояние, таким образом, запуская химические реакции фотосинтеза. Растительные организмы содержат несколько видов пигментов, каждый из которых выполняет свои функции. В хлоропластах высших растений встречаются три основных классы пигментов –

хлорофиллы и каротиноиды нерастворимые в полярном растворителе, а фикобилины растворимые.

Молекула хлорофилла состоит из порфириновой «головки» и фитольного «хвоста». Хлорофилл представляет собой сложный эфир дикарбоновой кислоты хлорофиллина, у которой одна карбоксильная группа этерифицирована остатком метилового спирта, а вторая — остатком спирта фитола. Атомы азота пирольных колец соединяются двумя координационными связями с атомом Mg. В случае замещения атома Mg на 2 атома водорода, образуется феофитин, выполняющий функции первичного акцептора электронов в фотосистеме II.

Хлорофиллы имеют два максимума поглощения света – в синей (430 – 460) и в красной (650 – 700 нм) областях спектра.

Структура хлорофилла приспособлена для посредничества в фотохимических процессах в ходе фотосинтеза. Хлорофилл это хороший сенсibilизатор, он легко возбуждается при поглощении света и обладает способностью передавать энергию другим молекулам. Возбужденная светом молекула хлорофилла приобретает способность участвовать в окислительно-восстановительных процессах.

Поглощая квант энергии, вещество переходит в возбужденное состояние, то есть происходит преобразование энергии электромагнитного излучения и её запасания. Но энергия электронного возбуждения быстро переходит в тепло или снова излучается в пространство. Существует два возбужденных состояния – синглетное и триплетное. Если при поглощении кванта света спины электронов остаются антипараллельными, молекула хлорофилла переходит в синглетное возбужденное состояние (S1 или S2). Синглетное возбужденное состояние S2 нестабильно, электрон быстро (10^{-12} с) теряет часть энергии в виде тепла и переходит на нижний уровень (S1), где может находиться в течение 10^{-9} — 10^{-8} с. Возвращение в исходное состояние молекулы хлорофилла может происходить разными путями. Первый путь, это отдав часть энергии в виде тепла и излучив квант света, молекула может перейти в основное состояние (S0). Такое явление

называется флуоресценцией. Согласно правилу Стокса длина волны флуоресценции больше соответствующих длин волн поглощения. Во-вторых, в синглетном возбужденном состоянии S_1 может произойти изменение знака спина электрона, при этом молекула хлорофилла переходит в метастабильное триплетное состояние (Т), имеющее гораздо большее время жизни — порядка 10^{-5} — 10^{-3} с. Это объясняется тем, что возбужденный электрон приобретает тот же знак спина, что и невозбужденный электрон, оставшийся на основном уровне (S_0). Это не позволяет возбужденному электрону в триплетном состоянии занять электронную "дырку" на основном энергетическом уровне (S_0) до тех пор, пока не произойдет смена знака спина. Из триплетного состояния молекула может вернуться в основное энергетическое состояние, излучив квант света более длинноволновый, чем при флуоресценции. Такое свечение называют фосфоресценцией. Следует отметить, что прямой переход из основного синглетного (S_0) в триплетное возбужденное состояние маловероятен. Переход электрона в триплетное состояние осуществляется только через синглетное (S_1) возбужденное состояние. Третий путь, энергия синглетного возбужденного состояния молекулы хлорофилла может быть использована в ходе фотосинтеза в фотохимических реакциях и трансформироваться в энергию химических связей органических соединений (Birks J. B., Easterly C. E., Christophorou L. G., 1977; Медведев С. С., 2013).

Снижение выхода флуоресценции от максимальных уровней, обычно называют гашением. Оно вызвано набором механизмов, которые включают первичное фотохимическое гашение (qQ , связанное с захватом квантов и расщеплением воды фотосистемой II, и другими вторичными процессами которые в совокупности отводят избыточную энергию возбуждения от реакционных центров (нефотохимическое тушение)). Нефотохимическое тушение флуоресценции коррелируется с установлением протонных градиентов между различными компартментами хлоропласта, что может приводить к обратимому синтезу ксантофильных пигментов, а так же

зеаксантина. Образование зеаксантина может быть ответственным за гашение резонансной передачей энергии (Daley P. F., 1995).

Известно, что весь хлорофилл в хлоропластах растений локализован в пигмент-белковых комплексах фотосистем. Основная часть хлорофилла А (50 – 60%) и весь хлорофилл В связанных с белками светособирающих хлорофилл-А/В-белковых комплексов фотосистемы I и II (ССК I и ССК II). Остальная часть хлорофилла А входит в состав ядерных хлорофилл-А-белковых комплексов реакционных центров фотосистемы I и II (РЦ ФС-I и РЦ ФС- II). Нужно отметить, что в зависимости от того с каким из белков связаны молекулы хлорофилла, будет зависеть их пространственная локализация в мембранах тилакоидов, их взаимодействию между собой, а, следовательно, и их спектры поглощения и излучения флуоресценции хлорофилла каждого из четырех индивидуальных пигмент-белковых комплексов (Ладыгин В. Г., 2015).

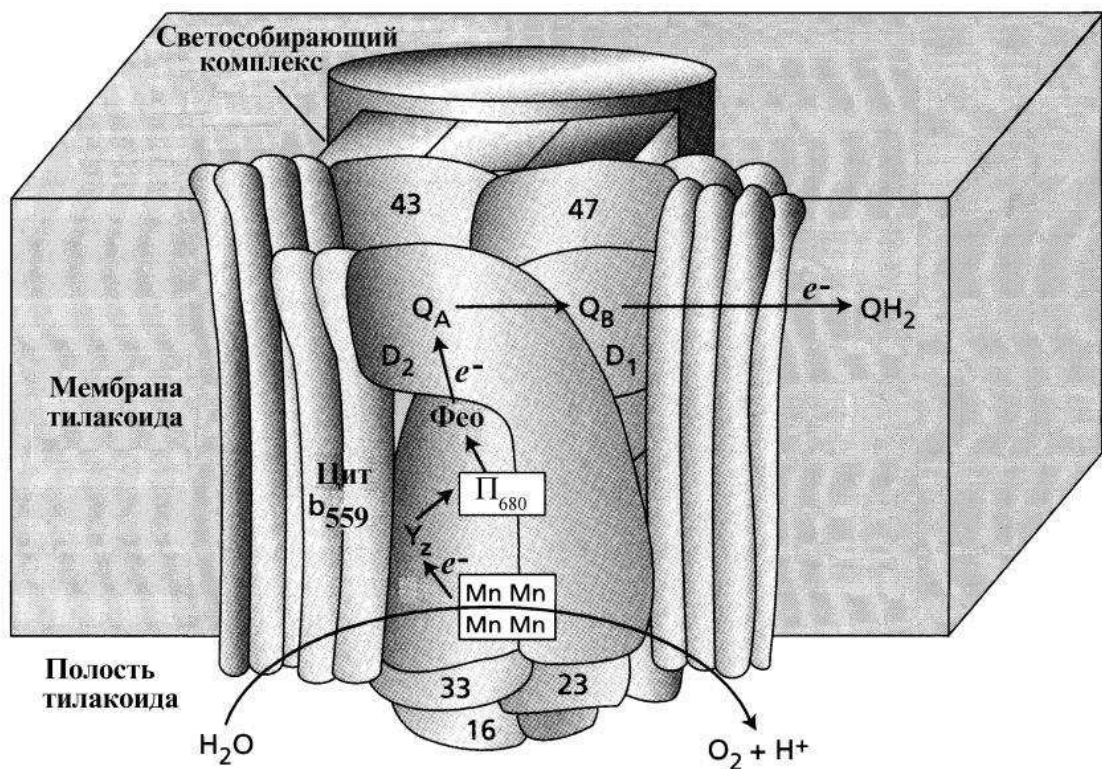


Рисунок 4 – Схематическое строение фотосистемы II (Медведев С. С., 2013)

При фотосинтезе световая энергия, поглощаемая пигментно-белковыми комплексами (ССК), переносится с хлорофиллом А в реакционные центры фотосистемы II (ФС I и ФС II). Энергия света вызывает первичное разделение зарядов в РЦ ФС I и ФС II запускает цепочку окислительно-восстановительных событий, поддерживая процесс переноса электронов, начиная с воды в качестве первичного донора электронов до ФС II и, до конечного акцептора электронов NADP. Такой транспорт электронов в сочетании с протонным градиентом в тилакоидных мембранах является необходимым условием образования АТФ. Синтез NADPH и АТФ в сочетании с переносом электронов представляет собой основное условие для фиксации CO₂ и других биохимических процессов, тесно связанных с фотосинтезом. Часть поглощенной световой энергии, не используемая в фотохимии фотосистемы II, рассеивается посредством безызлучательной энергии или флуоресцентного излучения, связанного с комплексом фотосистемы II (DeEll J. R., Toivonen P. M. A. и др, 2012).

1.5 Влияние гербицида на фотосинтетический аппарат растений

Увеличение земель сельского хозяйства привело к высокому росту использования гербицидов, что повлекло за собой токсическое загрязнение почвы. В результате загрязнения гербицидами потребовалось разработать методы оценивающие влияния таких веществ на окружающую среду.

Гербициды могут оказывать негативное воздействие на фотосинтез, следовательно, причинить ущерб росту растений. Ингибирование фотосинтеза или биохимических процессов, связанных с фотосинтезом, может показать физиологическое состояние растения, и поэтому измерение фотосинтеза может использоваться в качестве показателя воздействия стресса окружающей среды. Еще на ранних этапах экологических исследований стало известно, что измерение индуцированного изменения фотосинтеза может быть полезным для мониторинга присутствия поллютантов в окружающей среде.

Если фотосинтез или связанные с ним биохимические или физиологические процессы будут изменены, выход и кинетика рассеянной флуоресценции будут значительно изменены. По этой причине кривая кинетики флуоресценции, известная как эффект Каусткого, использовалась, чтобы указать на изменение способности фотосинтеза, когда повреждение вызвано загрязнителями или условиями окружающей среды (Stober F., Lichtenthaler H. K., 1993; Stirbet A., 2011).

За последние 15 лет технологические преимущества способствовали развитию флуорометрических методов, которые используются в фундаментальных и прикладных исследованиях. В настоящее время использование амплитудно-импульсной модуляции (РАМ) и анализатора эффективности растений (РЕА) дают возможность проводить неинвазивные измерения фотосинтетической активности и связанных с ней физиологических процессов в растительной ткани (DeEll J. R., Toivonen P. M. A. и др., 2012).

Важно отметить, что в последние годы измерения хлорофилла и флуоресценции все шире применяются в различных областях физиологии растений. Хлорофилл можно рассматривать как собственный флуоресцентный зонд фотосинтетической системы (Krause G. H., Weis E., 1984).

Многие гербициды способны напрямую ингибировать активность фотосистемы II водорослей и высших растений исследования, основанные на флуоресценции хлорофилла, показывают это ингибирование. В таких исследованиях растения используют как биосенсоры. Некоторые гербициды могут оказывать косвенное воздействие на фотосинтез, то есть изменять вторичные метаболические процессы, связанные с ассимиляцией углерода фотодыханием и метаболизмом азота (или синтез липидов, пигментов или аминокислот). Большинство коммерческих гербицидов напрямую воздействует на фотохимию фотосистемы II, блокируя транспорт электронов на вторичном акцепторе электронов ФС II Q_B, который связан с белком D1, что приводит к предотвращению образования

АТФ и NADPH и тем самым оказывает вредное воздействие на рост и развитие растений (DeEll J. R., Toivonen P. M. A. и др,2012).

Популярным методом изучения состояния фотосинтетического аппарата является флуоресцентный анализ. Исследования проводят на РАМ флуориметрах. Новая система использует миниатюрный фотоумножитель для обнаружения импульса модуляции флуоресцентного сигнала. Полученные данные позволяют регистрировать кинетику индукции флуоресценции (эффект Каутского), тушение флуоресценции методом импульса насыщения и определение квантового выхода преобразования энергии в фотосистеме II на разных участках листа. Известно, что кинетика повышения флуоресценции заметно быстрее, когда хлоропласты внутри губчатого мезофилла освещаются, по сравнению с хлоропластами находящимися в палисадном мезофилле. Показано, что фотоингибирование влияет, главным образом, на квантовый выход хлоропластов в палисадном мезофилле (Daley P. F., 1995; Sayed O. H., 2003; Krause G. H., Weis E., 1984; Krause G. H., Weis E., 1991; Lang M., Stober F., и др,1991; Гаевский Н. А., Моргун В. Н., 1993; Adams W. W., Demmig-Adams B.,2004; Juneau P., Green B. R., Harrison P. J.,2005; Нестеренко Т. В., и др, 2007; Baker N. R.,2008; Migliavacca M. и др., 2017; Chu J.,и др, 2018).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование действия препарата метрибузина на фотосинтетический аппарат культурных и сорных растений показало:

1. Методом вакуумной инфильтрации установлено, что действие гербицида метрибузина на фотосинтетический аппарат проявляется уже при концентрации 0,05 мг/л, а его неоспоримый эффект на фотосинтез растения заметен при концентрации 0,5 мг/л.

2. Действие разных концентраций коммерческого гербицида метрибузина при довсходовой обработке зерновых культур и сорных растений показала снижение параметров фотосинтеза ($Y(II)_{max}$, $Y(NPQ)$, ETR_{max}). Не оказал достоверного влияния на всхожесть семян, рост проростков на ранних стадиях и накопление фотосинтетических пигментов, но наблюдался рост и развитие растений не зависимо от концентраций гербицида.

3. Послевсходовая обработка препаратом метрибузином показала снижение фотосинтетических параметров ($Y(II)_{max}$, $Y(NPQ)$, ETR_{max}) относительно контроля на 21 день эксперимента и гибель растений обработанных гербицидом на 35 день.

4. Применение традиционной и экспериментальной формы внесения препарата метрибузина показало, что снижение фотосинтетических параметров ($Y(II)_{max}$, $Y(NPQ)$, ETR_{max}) наблюдалось у всех обработанных растений. Эффект коммерческого препарата метрибузина имел непродолжительное действие, а действие экспериментальной формы препарата метрибузина было более продолжительным и эффективным.

5. Применение метрибузина в экспериментальной форме доставки обладает преимуществом перед традиционным способом (поливом), уменьшая токсичности и увеличивая время действия метрибузина.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гаевский Н. А. Использование переменной и замедленной флуоресценции хлорофилла для изучения фотосинтеза растений / Н. А. Гаевский, В. Н. Моргун // Физиология растений. – 1993. – Т. 40. – №. 1. – С. 119-127.
2. Горбатова О. Н. Триазиновые пестициды: структура, действие на живые организмы, процессы деградации / О. Н. Горбатова, А. В. Жердев, О. В. Королева // Успехи биологической химии. – 2006. – Т. 46. – №. 2. – С. 323-348.
3. Захарченко В. А. Гербициды / В. А. Захарченко– М.: Агропромиздат 1990.
4. Калмыков С. И. Аллелопатическое влияние сорных растений на энергию прорастания и всхожесть семян культурных растений / С. И. Калмыков, М. А. Даулетов, Н. С. Шарова, В. Б. Лебедев, Н. И. Стрижков, // Аграрный научный журнал. – 2007. – №. 5. – С. 17.
5. Куликова Н. А., Лебедева Г. Ф. Гербициды и экологические аспекты их применения. – 2010.
6. Ладыгин В. Г. Жизненный цикл, наследование, биогенез, биохимический состав, спектральные свойства и структурно-функциональная организация хлоропластов *Chlamydomonas reinhardtii* / В. Г. Ладыгин // Вопросы современной альгологии. – 2015. – №. 2. – С. 2-2.
7. Медведев С. С. Физиология растений: учебник / С. С. Медведев – БХВ-Петербург, 2013.
8. Мельников Н. Н. Пестициды. Химия, технология и применение/ Н. Н. Мельников // М.: Химия. – 1987. – Т. 712. – С. 2.
9. Мифтахутдинов А. В., Вильвер Д. С. Актуальные вопросы ветеринарии и биотехнологии: идеи молодых исследователей [Фармакокоррекция токсического действия метрибузина на организм кроликов]: материалы. – 2018
10. Нестеренко Т. В. Индукция флуоресценции хлорофилла и оценка

- устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям / Т. В. Нестеренко, А. А. Тихомиров, В. Н. Шихов //Журнал общей биологии. – 2007. – Т. 68. – №. 6. – С. 444-458.
- 11.Сельское хозяйство: Большая советская энциклопедия /Месяц В. К.. – Москва, 1998.
 - 12.Чупахина Г. Н. Физиологические и биохимические методы анализа растений / Г. Н. Чупахина //Калининград: Калинингр. ун-т. – 2000.
 - 13.Adams W. W. Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment / W. W. Adams, B. Demmig-Adams //Chlorophyll a Fluorescence. – Springer, Dordrecht, 2004. – С. 583-604.
 - 14.Agostinetto D. Changes in photosynthesis and oxidative stress in wheat plants submitted to herbicides application / D. Agostinetto, L. T Perboni, A. C Langaro, J.Gomes, D. S Fraga, J. J Franco //Planta Daninha. – 2016. – Т. 34. – №. 1. – С. 1-9.
 - 15.Baker N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo / N. R. Baker //Annu. Rev. Plant Biol. – 2008. – Т. 59. – С. 89-113.
 - 16.Birks J. B. Christophorou L. G. Stokes and anti- Stokes fluorescence of 1, 12- benzoperylene in solution / J. B. Birks, C. E. Easterly, L. G.Christophorou //The Journal of Chemical Physics. – 1977. – Т. 66. – №. 9. – С. 4231-4236.
 - 17.Boyandin A. N. Constructing slow-release formulations of metribuzin based on degradable poly (3-hydroxybutyrate) / A. N. Boyandin, N. O. Zhila, E. G. Kiselev, T. G. Volova //Journal of agricultural and food chemistry. – 2016. – Т. 64. – №. 28. – С. 5625-5632.
 - 18.Chu J. Effects of cadmium on photosynthesis of Schima superba young plant detected by chlorophyll fluorescence/ J. Chu, F. Zhu, X. Chen, H. Liang, R. Wang, X. Wang, X. Huang, //Environmental Science and Pollution Research. – 2018. – Т. 25. – №. 11. – С. 10679-10687.
 - 19.Daley P. F. Chlorophyll fluorescence analysis and imaging in plant stress and disease / Daley P. F. //Canadian journal of plant pathology. – 1995. – Т. 17. – №. 2. – С. 167-173.

20. DeEll J. R. Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology / J. R. DeEll, P. M. A. Toivonen. – Springer Science & Business Media, 2012.
21. Devine M. D. Oxygen toxicity and herbicidal action / M. D. Devine, S. O. Duke, C. Fedtke // Physiology of Herbicide Action. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall. – 1993. – C. 177-188.
22. Delancey J. O. L. Occupational exposure to metribuzin and the incidence of cancer in the Agricultural Health Study // J. O. L. Delancey, M. C. Alavanja, J. Coble, A. Blair, J. A. Hoppin, H. D. Austin, , L. E. B Freeman/Annals of epidemiology. – 2009. – T. 19. – №. 6. – C. 388-395.
23. Lang M. Fluorescence emission spectra of plant leaves and plant constituents / M. Lang, F. Stober, H. K. Lichtenthaler//Radiation and Environmental Biophysics. – 1991. – T. 30. – №. 4. – C. 333-347.
24. Migliavacca M. Plant functional traits and canopy structure control the relationship between photosynthetic CO₂ uptake and far- red sun- induced fluorescence in a Mediterranean grassland under different nutrient availability / M. Migliavacca, O. Perez- Priego, M. Rossini, T. S. El- Madany, G., van der Tol, C. Moreno, A. Carrara//New Phytologist. – 2017. – T. 214. – №. 3. – C. 1078-1091.
25. Nabipour M. Mechanisms of resistance to metribuzin in new resistant biotype of jungle rice ('Echinochloa colona') in sugarcane fields of hot semi-arid climates / M. Nabipour, S. R. Ahmadpour, M. Mesgarbashi, H. Rajabi-Memari, M. Farzane, //Australian Journal of Crop Science. – 2017. – T. 11. – №. 7. – C. 868
26. Sayed O. H. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research / O. H. Sayed //Photosynthetica. – 2003. – T. 41. – №. 3. – C. 321-330.
27. Slamet W.. Leaf area index, chlorophyll, photosynthesis rate of lettuce (*Lactuca sativa* L) under N-organic fertilizer / W. Slamet, E. D. Purbajanti, A. Darmawati, E. Fuskhah//Indian Journal of Agricultural Research. – 2017. – T. 51. – №. 4.
28. Durhman A. K. Effect of watering regimen on chlorophyll fluorescence and

- growth of selected green roof plant taxa / A. K. Durhman, D. B. Rowe, C. L. Rugh //HortScience. – 2006. – T. 41. – №. 7. – C. 1623-1628.
- 29.Schwenger-Erger C. Decreased rate of degradation of the D1 protein in metribuzin-resistant photoautotrophic *Chenopodium rubrum* cell cultures / C. Schwenger-Erger, W. Barz//Journal of plant physiology. – 2000. – T. 156. – №. 4. – C. 458-461.
- 30.Schreiber U. Measurement of chlorophyll fluorescence within leaves using a modified PAM fluorometer with a fiber-optic microprobe / U. Schreiber, M. I. KühlKlimant, H. Reising//Photosynthesis Research. – 1996. – T. 47. – №. 1. – C. 103-109.
- 31.Haggblade S. Causes and consequences of increasing herbicide use in Mali / S. Haggblade, M. Smale, V. Theriault, A. Assima//The European Journal of Development Research. – 2017. – T. 29. – №. 3. – C. 648-674.
- 32.Hermanutz L. A. Variability in metribuzin tolerance among ruderal and agrestal populations of *Solanum ptycanthum* Dun / L. A. Hermanutz, S. E. Weaver //Canadian journal of plant science. – 1994. – T. 74. – №. 2. – C. 395-401.
- 33.Holm F. A. The history of herbicide use for weed management on the prairies / F. A. Holm, E. N. Johnson //Prairie Soils Crops. – 2009. – T. 2. – C. 1-11.
- 34.Hoar S. K. Agricultural herbicide use and risk of lymphoma and soft-tissue sarcoma/ S. K. Hoar, A. Blair, F. F. Holmes, C. D. Boysen, R. J. Robel, R. Hoover, J. F. Fraumeni//Jama. – 1986. – T. 256. – №. 9. – C. 1141-1147.
- 35.Savage K. E.. Metribuzin persistence on the soil surface / K. E. Savage //Metribuzin persistence on the soil surface. – 1980.
- 36.Schwenger-Erger C. Decreased rate of degradation of the D1 protein in metribuzin-resistant photoautotrophic *Chenopodium rubrum* cell cultures / C. Schwenger-Erger, W. Barz //Journal of plant physiology. – 2000. – T. 156. – №. 4. – C. 458-461.
- 37.Stirbet A. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient/ A. Stirbet //Journal of Photochemistry and

Photobiology B: Biology. – 2011. – T. 104. – №. 1-2. – C. 236-257.

38. Stober F. Studies on the constancy of the blue and green fluorescence yield during the chlorophyll fluorescence induction kinetics (Kautsky effect)/ F. Stober, H. K. Lichtenthaler // Radiation and environmental biophysics. – 1993. – T. 32. – №. 4. – C. 357-365.
39. Juneau P. Simulation of Pulse-Amplitude-Modulated (PAM) fluorescence: limitations of some PAM-parameters in studying environmental stress effects/ P. Juneau, B. R. Green, P. J. Harrison // Photosynthetica. – 2005. – T. 43. – №. 1. – C. 75-83.
40. Krause G. H. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology / G. H. Krause, E. Weis // Photosynthesis research. – 1984. – T. 5. – №. 2. – C. 139-157.
41. Krause G. H. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics / G. H. Krause, E. Weis // Annual review of plant biology. – 1991. – T. 42. – №. 1. – C. 313-349.
42. Pfündel E. JUNIOR-PAM chlorophyll fluorometer operators guide // H Walz GmbH: Effeltrich, Germany. – 2007.
43. Pocock R. L. Metribuzin as a barley herbicide / R. L. Pocock // Metribuzin as a barley herbicide. – 1980. – №. Volume 33.
44. Tamru S. The rapid expansion of herbicide use in smallholder agriculture in Ethiopia: Patterns, drivers, and implications/ S. Tamru, B. Minten, D. Alemu, F. Bachewe // The European Journal of Development Research. – 2017. – T. 29. – №. 3. – C. 628-647.
45. Volova T. G. Constructing herbicide metribuzin sustained-release formulations based on the natural polymer poly-3-hydroxybutyrate as a degradable matrix / T. G. Volova, N. O. Zhila, O. N. Vinogradova, E. D. Nikolaeva, E. G. Kiselev, A. A. Shumilova, E. I Shishatskaya, // Journal of Environmental Science and Health, Part B. – 2016. – T. 51. – №. 2. – C. 113-125.
46. Walz H. IMAGING-PAM M-series Chlorophyll Fluorometer, Instrument Description and Information for Users. – 2009.

47. Zimdahl R. L. Fundamentals of weed science/ R. L. Zimdahl – Academic press, 2018
48. Географическая энциклопедия: залежные земли. URL: https://dic.academic.ru/dic.nsf/enc_geo/6337/%D0%B7%D0%B0%D0%BB%D0%B5%D0%B6%D0%BD%D1%8B%D0%B5
49. Пестициды, содержит информацию о многих пестицидах, агрохимикатах. [Электронный ресурс]. URL: http://www.pesticide.ru/active_substance/metribuzin
50. Агрохимия, полная влагоемкость почвы. [Электронный ресурс]. URL: <http://agrohimiya24.ru/agrohimicheskie-metody/1850-polnaya-vlagoemkost-rochvy.html>
51. Раствор Хогданда для гидропоники. [Электронный ресурс]. URL: <https://scienceinhydroponics.com/2009/02/the-hoaglands-solution-for-hydroponic-cultivation.html>

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра водных и наземных экосистем

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

М. И. Гладышев

подпись инициалы, фамилия

« 8 » июль 2019 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Исследование действия гербицида метрибузина на фотосинтетический
аппарат культурных и сорных растений

06.04.01 – Биология

06.04.01.02. – Физиология растений

Научный руководитель Гаевский проф. д-р биол. наук Н. А. Гаевский
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Выпускник Забродина М. А. Забродина
подпись, дата инициалы, фамилия

Рецензент Пахарькова доц. канд. биол наук Н. В. Пахарькова
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Красноярск 2019