

УДК 57.033:582.998

Н. О. Хромих, Л. Ф. Заморуєва, О. М. Вінниченко

Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара

**ВПЛИВ ГЕРБИЦИДНОЇ ОБРОБКИ *AMBROSIA ARTEMISIFOLIA*
НА СКЛАД ПОВЕРХНЕВИХ ВОСКІВ
РОСЛИН НАСТУПНОЇ ГЕНЕРАЦІЇ**

У вегетаційному експерименті досліджено особливості складу вуглеводнів поверхневих восків листя рослин наступної генерації, вирощених із насіння, зібраного на контрольних і оброблених гербіцидами рослинах амброзії полинолистої. Встановлено суттєве зростання вмісту високомолекулярних компонентів і зниження вмісту низькомолекулярних компонентів вуглеводнів. Виявлено залежність змін складу вуглеводнів від впливу певних гербіцидів або їх комбінацій. Зроблено припущення про посилення захисних властивостей поверхневих восків ювенільних рослин амброзії через виявлені зміни.

Н. А. Хромых, Л. Ф. Заморуева, А. Н. Винниченко

Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара

**ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДНОЙ ОБРАБОТКИ
AMBROSIA ARTEMISIFOLIA НА СОСТАВ ПОВЕРХНОСТНЫХ
ВОСКОВ РАСТЕНИЙ СЛЕДУЮЩЕЙ ГЕНЕРАЦИИ**

В вегетационном эксперименте исследованы особенности углеводородного состава поверхностных восков листьев растений следующей генерации, выращенных из семян, собранных на контрольных и обработанных гербицидами растениях амброзии полыннолистной. Установлено существенное увеличение содержания высокомолекулярных компонентов и снижение содержания низкомолекулярных углеводородных компонентов. Выявлена зависимость изменений состава углеводородов от влияния определенных гербицидов или их комбинаций. Высказано предположение об усилении защитных свойств поверхностных восков ювенильных растений амброзии вследствие выявленных изменений.

N. A. Khromykh, L. F. Zamorueva, A. N. Vinnichenko

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

**INFLUENCE OF AMBROSIA HERBICIDES TREATMENT
ON THE COMPOSITION OF SURFACE WAXES
OF THE NEXT GENERATION PLANTS**

In vegetative experiment the peculiarities of hydrocarbons composition of the leaves surface waxes of *Ambrosia artemisifolia* grown out of seeds from control plants and ones treated by herbicides were studied. The substantial increase of high-molecular hydrocarbons but reduction of low-molecular constituents are established. The dependence of hydrocarbons composition changes on the influence of particular herbicides and its combinations is revealed. The enhancing of protective properties of juvenile ambrosia's surface waxes in consequence of revealed changes is supposed.

Вступ

Місце первинного контакту токсикантів і патогенів із рослинним організмом – кутикула, яка складається з кутину та поверхневих восків – багатокомпонентної суміші *n*-алканів, складних ефірів одноосновних кислот і високомолекулярних спиртів, вільних жирних кислот, спиртів, альдегідів та інших сполук [1; 5; 11; 12]. Фізіологічні функції восків не обмежуються захистом від втрат води та УФ-променів [17]. Показано, що поверхневі воски авокадо з рослини-хазяїна індукують проростання спор патогенних грибів, тоді як воски з неінфікованих рослин інгібують цей процес [16]. Установлено, що стійкість *Rosa canina* до патогенів зумовлена співвідношенням алканів, спиртових ефірів, первинних спиртів і алкенів в епі- та інтракутикулярних восках [5]. З'ясовано, що компонентний склад восків рослин позначається на їх придатності для годування трав'яних тварин [7].

На сьогодні досліджено видові особливості складу кутикулярних восків багатьох рослин, проте зміни восків унаслідок впливу несприятливих чинників вивчено недостатньо [9; 14]. З'ясовано, що піддатливішими до дії паразитів і комах-фітофагів стають рослини *Pisum sativum* L. з мутацією, яка призводить до редукції кристалів восків на поверхні листя [6]. Виявлено кореляційний зв'язок між складом вуглеводнів поверхневих ліпідів листя кукурудзи різних генотипів та стійкістю рослин до дії екзогенних чинників [10]. Показано зростання аморфності поверхневих восків ялин за дії озону [8]. Виявлено ерозію кутикулярних восків евкаліпту під впливом гербіциду гліфосату [15]. Показано зміни складу компонентів поверхневих восків листя кукурудзи після обробки рослин ґрунтовим гербіцидом атразиним [1].

При вивченні проблеми стійкості амброзії полинолистої (*Ambrosia artemisiifolia* L.) до гербіцидів ми дослідили деякі ефекти післядії обробки бур'яну, пов'язані зі зростанням кількості поліпептидних компонентів у насінні та зниженням його чутливості до токсикантів [3]. Мета цієї роботи – оцінити вплив гербіцидної обробки амброзії на склад вуглеводнів поверхневих восків листя ювенільних рослин наступної генерації.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на ювенільних рослинах амброзії полинолистої, вирощених у ґрунті (повна вологоємність – 60 %) у вегетаційних посудинах за лабораторних умов. Для пророщування брали насіння амброзії, зібране в агроценозах кукурудзи з контрольної ділянки без обробки (контроль) та з дослідних ділянок, оброблених гербіцидами: дослід 1 – трофі (2,5 л/га, до сівби культури) + 2,4-Д (1 л/га, у фазі 5–7 листків у культурі); дослід 2 – мерлін (130 г/га без закладення у ґрунт); дослід 3 – фронт'єр (1,5 л/га) + камбіо (2,3 л/га). Вуглеводні поверхневих восків екстрагували хлороформом і випарювали до сухого стану в атмосфері азоту за [1], після чого розчиняли в 50 мкл пентану й аналізували екстракти методом газорідинної хроматографії за [4]. Умови хроматографічного аналізу: хроматограф «Хром-5» (Чехія), скляна колонка (довжина 1,2 м, діаметр 4 мм), фаза 5 % SP-2100 на носії Хроматон N-Super (розмір гранул 0,16–0,20 мм), програмований температурний режим від +180 до +270 °С зі швидкістю 6 °С/хв.; детектор полум'яноіонізаційний; витрати газу-носія 60 мл/хв. Ідентифікацію компонентів проведено відповідно до наявності стандартів вуглеводнів. Хроматограми оброблено методом внутрішньої нормалізації, вміст компонентів виражено у відсотках від загальної кількості; за усередненими результатами трьох аналізів побудовано узагальнені хроматограми.

Результати опрацьовано статистично за допомогою пакета Statistica 6.0; розбіжності між вибірками вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Хроматографічний аналіз виявив, що всі екстракти з листя рослин амброзії містили у своєму складі одні й ті самі 16 вуглеводнів (від $C_{18}H_{38}$ до $C_{33}H_{68}$). У той же час специфічні особливості впливу гербіцидних препаратів різних класів, якими було оброблено рослини амброзії на ділянках, позначились на кількісному вмісті вуглеводнів у поверхневих восках листя рослин наступної генерації, який наведено на узагальнених хроматограмах (рис.).

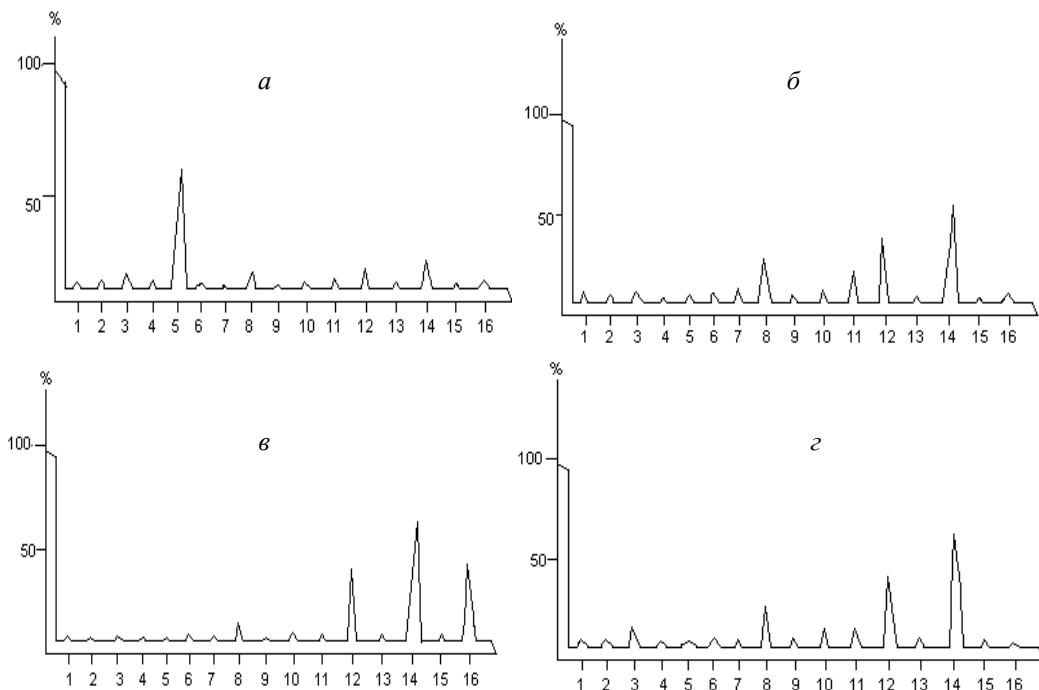


Рис. Узагальнені хроматограми вуглеводнів поверхневих восків рослин амброзії, вирощених з різного насіння: *a* – насіння з контрольної ділянки, *б* – з ділянки, обробленої гербіцидами трофі+2,4-Д, *в* – гербіцидом мерлін, *з* – гербіцидами фронт'єр + камбіо; вісь абсцис – номери компонентів-вуглеводнів за часом виходу; вісь ординат – уміст компонентів (% від суми)

Аналіз хроматограм вуглеводнів виявив у дослідних зразках порівняно з контрольним перерозподіл домінантних за вмістом компонентів із низькомолекулярних на високомолекулярні вуглеводні (табл.). У контрольному зразку найзначнішим був уміст низькомолекулярного *n*-алкану $C_{22}H_{46}$. В усіх дослідних зразках суттєво знижено вміст указанного компонента (особливо внаслідок обробки мерліном), але значно підвищено вміст високомолекулярних *n*-алканів. При цьому слід зауважити, що у контрольному та всіх дослідних зразках найбільший внесок до суми вуглеводнів зроблено 4 компонентами, за вмістом яких зразки суттєво відрізнялись.

Крім збільшення вмісту високомолекулярних *n*-алканів (компоненти 12–16) у складі поверхневих восків дослідних зразків порівняно з контролем виявлено зростання вмісту низькомолекулярних компонентів 3 та 8 унаслідок спільної дії фронт'єру та камбіо (рис. 1з), а внаслідок обробки гербіцидами трофі + 2,4-Д зростання вмісту компонентів 8 та 11 (рис. 1б). Тобто післядія кожного з варіантів гербіцидної обробки амброзії позначилась на складі та вмісті вуглеводнів поверхневих восків необроблених рослин наступної генерації.

**Уміст вуглеводнів у поверхневих восках листя рослин амброзії,
виращеної з насіння, зібраного на контрольній та обробленій гербіцидами ділянках**

Компонент (<i>n</i> -алкан)	Уміст компонента*, % від суми			
	контроль	дослід 1	дослід 2	дослід 3
$C_{22}H_{46}$	49,93 ± 1,59	1,79 ± 0,06**	сліди	1,67 ± 0,06
$C_{27}H_{56}$	1,78 ± 0,05	5,38 ± 0,23	5,95 ± 0,24	6,66 ± 0,27
$C_{29}H_{60}$	7,06 ± 0,21	16,43 ± 0,62	20,22 ± 0,83	26,97 ± 1,00
$C_{31}H_{64}$	12,48 ± 0,49	34,06 ± 1,40	32,12 ± 1,25	27,97 ± 1,17

Примітки: * – наведено компоненти, для яких виявлено найбільший вміст; ** – дані в усіх дослідках вірогідно відрізняються від контролю, $p < 0,05$.

Феномен зміни компонентного складу поверхневих восків рослин унаслідок попередньої дії несприятливих чинників відомий, але досліджений недостатньо, особливо з урахуванням важливої фізіологічної ролі восків. На листі рослин бавовника показано, що за дії водного стресу вміст поверхневих восків знижувався, а за певного часу після зняття стресу листя рослин продукувало значно більшу кількість восків, ніж до стресової дії [13]. Щодо фізіологічного значення виявленого нами індукованого гербіцидною обробкою амброзії зростання вмісту високомолекулярних вуглеводнів у складі поверхневих восків рослин наступної генерації, то потрібні подальші дослідження, але попередні висновки можна зробити спираючись на літературні дані. Посилення високомолекулярної фракції поверхневих восків позитивно корелює зі стійкістю зерна кукурудзи до грибкових захворювань [2]. Молоде листя кукурудзи містить більше низькомолекулярних компонентів восків і чутливіше до дії екзогенних чинників [1]. На підставі наведених даних можна зробити припущення, що зростання вмісту високомолекулярних *n*-алканів у складі поверхневих восків листя ювенільних рослин амброзії є таким наслідком гербіцидної обробки, який сприяє посиленню стійкості необроблених рослин наступної генерації до впливу токсикантів.

Висновки

Гербіцидна обробка рослин амброзії полинолістої спричинила зміни у складі вуглеводнів поверхневих восків листя необроблених рослин наступної генерації: зростання вмісту високомолекулярних *n*-алканів (зокрема $C_{27}H_{56}$ – $C_{31}H_{64}$) та зниження вмісту низькомолекулярного компонента $C_{22}H_{46}$. Специфічні відмінності вуглеводнів поверхневих восків виникли внаслідок обробки амброзії кожним із ґрунтових гербіцидів (трофі, мерлін, фронт'єр) та їх комбінаціями з післясходовими препаратами (2,4-Д і камбіо). Можна припустити, що індуковане гербіцидною обробкою амброзії зростання вмісту високомолекулярних вуглеводнів сприяє посиленню захисних властивостей поверхневих восків листя рослин наступної генерації, які не зазнали впливу гербіцидів.

Бібліографічні посилання

1. **Заморуєва Л. Ф.** Исследование углеводов в составе восков листьев кукурузы в связи с устойчивостью растений к экзогенному воздействию // Адаптация растений в антропогенных условиях. – Д. : Изд-во ДГУ, 1992. – С. 49–57.
2. **Поверхностные** липиды зерна кукурузы и сорго: сравнение биохимических характеристик и предположительная роль в обеспечении устойчивости / Н. И. Штеменко, Диуф Мамаду, А. Г. Троценко, И. И. Паталах // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2000. – Вип. 7. – С. 255–259.
3. **Хромых Н. А.** Аспекты последствия гербицидной обработки амброзии полыннолистной (*Ambrosia artemisifolia* L.) // Екологія та ноосферологія. – 2005. – Т. 16, № 3–4. – С. 231–237.

4. **Blaker T. W.** Developmental variation of leaf surface wax of maize *Zea mays* / T. W. Blaker, R. I. Greyson // *Can. J. Bot.* – 1988. – Vol. 66, N 5. – P. 839–846.
5. **Buschhaus C.** Chemical Composition of the Epicuticular and Intracuticular Wax Layers on Adaxial Sides of *Rosa canina* Leaves / C. Buschhaus, H. Herz, R. Jetter // *Annals of Bot.* – 2007. – Vol. 100, N 6. – P. 1557–1564.
6. **Chang G. C.** Leaf surface wax and plant morphology of peas influence insect density / G. C. Chang, J. Neufeld, S. D. Eigenbrode // *Entomologia Experimentalis et Applicata.* – 2006. – Vol. 119, N 3. – P. 197–205.
7. **Dove H.** Protocol for the analysis of *n*-alkanes and other plant-wax compounds and for their use as markers for quantifying the nutrient supply of large mammalian herbivores // H. Dove, R. W. Mayes // *Nature Protocols.* Canberra. – 2006. – N 1. – P. 1680–1697.
8. **Effect** of 3 years' free-air exposure to elevated ozone on mature Norway spruce (*Picea abies* (L) Karst.) needle epicuticular wax physicochemical characteristics / K. E. Percy, S. Manninen, K.-H. Haberle et al. // *Environmental Pollution.* – 2009. – Vol. 157, N 5. – P. 1657–1665.
9. **Influence** of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability / K. Koch, K. D. Hartman, L. Schreider et al. // *Environmental and Experimental Botany.* – 2006. – Vol. 56, N 1. – P. 1–9.
10. **Investigation** of surface layer of plant leaves / N. I. Shtemenko, L. F. Zamorueva, O. V. Duckachova, A. N. Vinnichenko // *Стійкий розвиток: забруднення навколишнього середовища та екологічна безпека. Матеріали І Міжнар. науково-практ. конф. – Д. : ДДУ, 1999. – С. 114–116.*
11. **Koch K.** The hydrophobic coating of plant surfaces: Epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly / K. Koch, H.-J. Ensikat // *Micron.* – 2008. – Vol. 39, N 7. – P. 759–772.
12. **Lemieux B.** Molecular genetics of epicuticular wax biosynthesis // *Trends in Plant Science.* – 1996. – Vol. 1, N 9. – P. 312–318.
13. **Lipid** and surface wax synthesis in water-stressed cotton leaves / J. D. Weet, G. L. Leek, C. M. Peterson, H. E. Currie // *Plant Physiology.* – 1978. – Vol. 62. – P. 675–677.
14. **Maarseveen C.** Composition of the epicuticular and intracuticular wax layers on *Kalanchoe diargremontiana* (Hamet et Perr. de la Bathie) leaves / C. Maarseveen, R. Jetter // *Phytochemistry.* – 2009. – Vol. 70, N 7. – P. 899–906.
15. **Morphological** responses of different eucalypt clones submitted to glyphosate drift / L. D. T. Santos, R. M. S. A. Meira, F. A. Ferreira et al. // *Environmental and Experimental Botany.* – 2007. – Vol. 59, N 1. – P. 11–20.
16. **Podila G. K.** Chemical signals from avocado surface wax trigger germination and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides* / G. K. Podila, L. M. Rogers, P. E. Kolattukudy // *Plant Physiology.* – 1993. – Vol. 103, N 1. – P. 267–272.
17. **Plant cuticles:** Multifunctional interfaces between plant and environment / H. Bargel, W. Barthlott, K. Koch et al. // *The Evolution of Plant Physiology.* – 2004. – P. 171–194.

Надійшла до редколегії 17.05.2009