

УДК 633.11+633.13:632.954

## **МЕТАБОЛИЗМ 2,4-Д У ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ ПОСЛЕ ОБРАБОТОК ГЕРБИЦИДОМ РЯДА ПОКОЛЕНИЙ**

**Н. Н. ПАВЛОВА, Т. А. НАЗАРОВА, В. А. ЗИНЧЕНКО**  
(Кафедра химических средств защиты растений)

Установлены существенные различия в динамике метаболизма 2,4-Д у пшеницы и ячменя в зависимости от кратности обработок гербицидом семенных репродукций.

Последствие многолетних обработок на метаболизм 2,4-Д наиболее четко проявилось через 3 сут после нанесения на лист меченого гербицида. Оно выразилось у пшеницы в уменьшении процента гидроксилированных, а у ячменя — негидроксилированных конъюгатов 2,4-Д. Гидроксилирование гербицида в ячмене Московском 121 шло интенсивнее, чем в пшенице Саратовской 29. Через 7 сут содержание гидроксилированных метаболитов 2,4-Д составляло у пшеницы 34,9—40,9 %, а у ячменя — 53,5—57,4 %.

Устойчивость растений к гербициду 2,4-Д во многом определяется скоростью его метаболизма. Так, у пшеницы и ячменя, относящихся к устойчивым растениям, уже через 7 сут после обработки 2,4-Д остается лишь 2 % гербицида, а остальная его часть включается в состав водорастворимых метаболитов [8]. Среди последних выделяют метаболиты, лабильные в щелочной среде (эферы 2,4-Д и различных углеводов) и стабильные в ней (конъюгаты с пептидами 2,4-Д, ее гидроксилированные метаболиты или их глюкозиды) [4, 10]. В пшенице и ячмене процесс этерификации протекает интенсивно в первую неделю после нанесения гербицида [5]. Важным путем метаболизма 2,4-Д в злаках является арилгидроксилирование. Часть гербицида, не успевшая трансфор-

мироваться, передвигается в направлении точек роста и может сохраняться в растениях до конца вегетационного периода, оставаться в семенах. Чаще всего остатки 2,4-Д обнаруживаются в соломе, но могут быть и в зерне [2, 3, 6, 7, 11, 12]. Остатки 2,4-Д в семенах вызвали деформацию проростков в 1-м поколении [10, 13].

Нами было установлено, что многолетние обработки ряда поколений пшеницы и ячменя послевсходовыми гербицидами оказывают длительное последствие на культуры и изменяют их реакцию на применяемый гербицид [1]. В связи с этим важно выяснить, связано ли последствие обработок в поколениях с содержанием остатков активного вещества в посевном материале и одинаково ли идет трансформация 2,4-Д у растений, ряд поколений которых подвергался обработкам этим гербицидом, и у обрабатываемых им впервые.

## Методика

Изучение метаболизма меченной по углероду 2,4-Д у ячменя и пшеницы проводилось во ВНИИ фитопатологии. Посевной материал (урожай 1983 г.) брали с трех вариантов полевых опытов: 1) контрольного (пересев без применения гербицидов); 2) 1 год обработки гербицидом (гербицид применяли только в 1983 г.); 3) многолетние обработки гербицидом (у ячменя в течение 6 лет, у пшеницы — 11 лет).

Пшеницу и ячмень выращивали в почвенной культуре до фазы кущения в естественных условиях (июнь 1984 г.). Затем на хорошо развитый у ячменя второй, а у пшеницы — на третий лист каждого растения наносили по 10 мкг 2,4-Д — 2 — С (удельная активность 219 мкюри/г) в 50 мкл 20 % этанола с 0,1 % твина 40. Обработанные растения в течение первых 24 ч находились в камере с 95 % относительной влажностью, затем для них поддерживали следующие условия: длина дня 16 ч, температура воздуха днем 25°, ночью 15°, влажность 60 %.

Через 1, 2, 3 и 7 дней после обработки убирали по 10 растений в каждом варианте в 3-кратной повторности. Непроникший гербицид смывали с обработанных листьев 20 % этанолом. Анализируемые растительные ткани (отдельно обработанные листья и всю остальную надземную часть) замораживали в жидком азоте, гомогенизировали в течение 2 мин, затем экстрагировали холодным 80 % ацетоном (10 мл на 1 г массы сырой ткани).

<sup>1</sup> Опыт с ячменем проведен В. Г. Небытовым в 1978—1983 гг. на селекционно-генетической станции ТСХА. Гербицид (40 % аминная соль 2,4-Д) вносили в фазу кущения в рекомендованной дозе — 2 кг/га.

Опыт с пшеницей проведен Ю. П. Таболиной на Карабалыкской сельскохозяйственной опытной станции Кустанайской области в 1971—1983 гг. Гербицид 33 % к. э. эфиров (С<sub>7</sub>—С<sub>9</sub>) 2,4-Д внесен в ту же фазу в дозе 1 кг/га.

Гомогенат фильтровали через стеклянный фильтр и остаток промывали 80 % ацетоном. Объединенные ацетоновые экстракты очищали от примесей (пигментов и пр.) гексаном, после чего гексан отделяли, а очищенный ацетон упаривали на роторном испарителе до водной фазы, которую подкисляли 1 н. HCl до pH 3 и трижды экстрагировали диэтиловым эфиром (общий объем диэтилового эфира равен объему водной фазы). Диэтиловый эфир, содержащий свободную 2,4-Д, упаривали и наносили на тонкий (0,25 мм) слой силикагеля *g*, дважды хроматографировали в системе гексан — диэтиловый эфир — муравьиная кислота (50:50:2). Выделяли радиоактивные зоны с Rf 0,1; 0,5 и 0,7.

Водную фазу доводили концентрированной HCl до 2 н. концентрации и гидролизировали 1 ч на кипящей бане. После охлаждения проводили экстракцию диэтиловым эфиром (трижды, как и в первом случае). Диэтиловый эфир упаривали и также хроматографировали на тонком слое силикагеля. Выделяли радиоактивные зоны с Rf 0,35 и 0,5, соответствующие разгидролизованному гидроксильрованному производному — 4-ОН-2,3-дихлорфеноксиуксусной кислоты и 4-ОН-2,5-дихлорфеноксиуксусной кислоты, и с Rf 0,7 — 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты.

Местоположение радиоактивных веществ на хроматограммах определяли радиометром ПП-8 с торцовым счетчиком Г-25БФЛ. О количестве гербицида и его метаболитов в каждой из фракций экстракта судили по радиоактивности, определенной на жидкостном сцинтилляционном спектрометре SL-40 (Интертехник) с использованием толуолдиоксанового раствора (смесь толуол — диоксан — метанол 5 : 4 : 1, содержащая 0,15 % РОРОР, 0,75 % РРО и 2,4 % нафталина).

Математическую обработку данных проводили дисперсионным методом после перевода процентов в показатели  $\varphi = 2 \arcsin \sqrt{P}$  [9]. Остаточные количества гербицида в зерне определяли по методу Д. И. Чканикова и сотр. [7].

## Результаты

Применение аминной соли 2,4-Д в посевах ячменя в условиях 1983 г. привело к снижению массы сорняков почти в 10 раз и обеспечило повышение урожайности на 7 ц/га (табл. 1). Однако в варианте обрабо-

Урожайность ячменя Московского 121 (полевой опыт 1983 г.)

Вариант	Урожайность, ц/га	Кустистость, шт.		Число колосков в колосе, шт.		Длина колоса, см	Масса 1000 зерен, г
		общая	продуктивная	общее	неразвитых		
Контроль	38,0	6,1	5,5	22,5	3,2	8,0	38,8
Обработка 2,4-Д							
1 год	45,0	5,7	5,4	22,1	3,2	8,1	39,8
6 лет	42,2	5,9	5,4	23,1	3,9	8,0	37,0
НСР <sub>05</sub>	2,0						

Примечание. Урожайность ячменя при высеве элитных семян — 38,2 ц/га, при высеве таких же семян и обработке посева 2,4-Д в 1983 г. — 43,8 ц/га.

ток 6 поколений культуры, несмотря на такое же снижение засоренности, прибавка была существенно ниже — только 4,2 ц/га. Пересев культуры в опытах в течение 6 лет не оказал отрицательного влияния на урожайность (ср. урожайность элитных посевов). Следовательно, указанное выше снижение прибавки урожая обусловлено последствием гербицида на защищаемые растения.

Пшеница Саратовская 29 в полевых опытах возделывалась на слабозасоренных участках (после черного пара). В 1983 г. урожайность ее составила: в контроле — 13,6 ц/га, в варианте 1 год обработки гербицидом — 11,9, в варианте с 11-летними обработками — 12,3 ц/га. Различия по вариантам были незначительными. Урожайность элиты в этом году — 13,9 ц/га; следовательно, пересев пшеницы в течение 11 лет не ухудшил посевных и урожайных качеств сорта.

В семенах не было обнаружено активного вещества препаратов.

Меченая 2,4-Д, нанесенная на листья, уже в первые сутки практически полностью поглощалась растениями, о чем свидетельствует низкая радиоактивность смывов с листьев.

Преобладающая часть гербицида подвергалась трансформации уже в первые же сутки. В обработанном листе пшеницы оставалось 9,0—9,6 % свободной (неизменной) 2,4-Д, в ячмене — 11,9—13,8 %. К 7-м суткам содержание свободной 2,4-Д уменьшилось до 3,6—4,0 % и 1,8—2,3 % (табл. 2 и 3).

При первичном воздействии гербицида на контрольные растения пшеницы Саратовской 29 (табл. 2) 47,0 % 2,4-Д находилось в связанном состоянии без гидроксирования кольца, а 32,6 % — подвергалось гидроксированию. Предполагается [8], что эти метаболиты представляют собой нетранспортирующиеся продукты детоксикации гербицида и способствуют выведению его из обмена веществ. Благодаря связыванию 2,4-Д в малоподвижные комплексы 89—92 % радиоактивности приходилось на обработанный лист и только 8—11 % — на другие части растения.

Существенные отклонения в метаболизме гербицида у пшеницы, материнские растения которой обрабатывались 2,4-Д 1 год, обнаружались уже через сутки после нанесения на листья радиоактивного продукта, а при многолетних (11 лет) обработках семенных репродукций — через 3 и 7 сут. Так, в первом случае гербицид в большей степени связывался в конъюгаты без одновременного гидроксирования, на что указывает уменьшение почти на 10 % гидроксированных производных 2,4-Д в обработанном листе в первые сутки. В последующие сроки отбора проб различия в соотношении фракций 2,4-Д в контрольных растениях и обрабатывавшихся гербицидом 1 год сгладились.

Через 7 сут после обработки обнаружались существенные различия в содержании связанной и гидроксированной 2,4-Д в листьях пшени-

Динамика метаболизма 2,4-Д в пшенице Саратовской 29

Состояние 2,4-Д	Время после нанесения 2,4-Д, сут								
	1			3			7		
	вариант обработок гербицидом семенных репродукций								
	контроль	1 год	11 лет	контроль	1 год	11 лет	контроль	1 год	11 лет
Суммарная радиоактивность тканей 10 растений, тыс. имп/мин									
	11 947	12 876	12 463	11 251	12 329	12 601	11 287	11 736	10 842
	В % к суммарной радиоактивности тканей Обработанный лист								
Свободное	9,6	9,6	9,0	4,5	2,9	2,5	3,6	3,0	4,0
Связанное	47,0	58,6 <sup>+а</sup>	52,0	49,5	50,2	56,9	55,5	61,2	49,3 <sup>+6</sup>
Гидроксилиро- ванное	32,6	23,7 <sup>-а</sup>	29,4	35,6	30,4	26,2 <sup>-а</sup>	26,9	23,8	33,6 <sup>+6</sup>
В сумме	89,2	91,9	90,4	89,6	83,5	85,6	86,0	88,0	86,9
	За пределами обработанного листа								
Свободное	3,9	2,8	3,1	1,8	3,0	2,3	1,3	0,7	0,8
Связанное	3,6	2,6	3,5	3,2	4,9	5,8	4,7	4,3	5,0
Гидроксилиро- ванное	3,3	2,7	3,0	5,4	8,6	6,3	8,0	7,0	7,3
В сумме	10,8	8,1	9,6	10,4	16,5	14,4	14,0	12,0	13,1
	и целом растении								
Свободное	13,5	12,4	12,1	6,3	5,9	4,8	4,9	3,7	4,8
Связанное	50,6	61,2 <sup>+а</sup>	55,5	52,7	55,1	62,7 <sup>+а</sup>	60,1	65,5	54,3 <sup>-6</sup>
Гидроксилиро- ванное	35,9	26,4 <sup>-а</sup>	32,4	41,0	39,0	32,5 <sup>-а</sup>	34,9	30,8	40,9 <sup>+6</sup>
НСР <sub>05</sub> — 0,2 (по	показателю (φ)								

Примечание. Здесь и в табл. 3 <sup>+а</sup> — существенное увеличение или уменьшение по сравнению с контролем; <sup>+6</sup> — существенное увеличение или уменьшение по сравнению с обработкой 1 год.

цы, обрабатывавшейся гербицидом 1 год и 11 лет. В листьях контрольных растений негидроксилированные конъюгаты 2,4-Д превышали гидроксилированные соответственно срокам отбора проб на 14,4; 13,9 и 28,6 %. а растений варианта многолетних обработок — на 22,6; 30,7 и 15,7 %. Процент связанной 2,4-Д без гидроксилирования превышал процент гидроксилированной в 1,5—2,5 раза.

В ячмене, как и в пшенице, уже в первые сутки после обработки значительная часть 2,4-Д (84—87 %) задерживалась в обработанном листе (табл. 3). Отношение связанной без гидроксилирования к гидроксилированной 2,4-Д в большинстве случаев у ячменя было более низким, чем у пшеницы, и колебалось от 1,7 до 0,7. Различия метаболизма 2,4-Д в контрольных растениях и обрабатывавшихся гербицидом 6 лет наиболее четко проявились через 3 сут после обработки. Содержание связанной 2,4-Д в листьях контрольных растений было в 1,7 раза (или на 20,4 %) больше, чем гидроксилированной, тогда как в листьях ячменя, обрабатывавшегося 6 лет, содержание их было одинаковым. Через 7 сут после нанесения меченого препарата и в контроле, и в варианте многолетних обработок гербицидом гидроксилированных форм 2,4-Д было больше, чем связанных без гидроксилирования.

Ячмень — более чувствительная к 2,4-Д культура, чем пшеница. Известно, что причины устойчивости растений к галоидфеноксикислотам различны, а фитотоксическое действие их зависит от содержания свобод-

Динамика метаболизма 2,4-Д в ячмене Московском 121

Состояние 2,4-Д	Время после нанесения 2,4-Д, сут							
	1		2		3		7	
	вариант обработок гербицидом семенных репродукций							
	контроль	6 лет	контроль	6 лет	контроль	6 лет	контроль	6 лет
Суммарная радиоактивность тканей 10 растений				тыс. имп/мин				
	9723	9394	9704	9441	9072	7763	9286	8148
В % к суммарной радиоактивности тканей Обработанный лист								
Свободное	11,9	13,8	8,8	7,6	5,8	6,3	1,8	2,4
Связанное	41,6	38,9	45,8	49,0	50,8	36,4 <sup>-a</sup>	36,7	37,8
Гидроксилиро- ванное	33,5	31,3	32,6	28,7	30,4	38,5	51,7	45,2
В сумме	87,0	84,0	78,2	85,3	87,0	81,2	90,2	85,4
За пределами обработанного листа								
Свободное	7,7	6,7	3,8	2,8	2,6	2,4	1,0	1,3
Связанное	2,4	6,2	3,4	5,9	4,4	7,3	3,1	5,4
Гидроксилиро- ванное	2,9	3,1	5,6	10,0	6,0	9,1	5,7	7,9
В сумме	13,0	16,0	12,8	18,7	13,0	18,8	9,9	14,6
В целом растении								
Свободное	19,6	20,5	12,6	10,4	8,4	8,7	2,8	3,7
Связанное	44,0	45,3	49,2	54,9	55,2	43,7 <sup>-a</sup>	39,8	43,2
Гидроксилиро- ванное	36,4	34,2	38,2	34,7	36,4	47,6 <sup>+a</sup>	57,4	53,1
НСР <sub>05</sub> — 0.2 (по показателю ф)								

ного и подвижного гербицида. Через сутки после обработки содержание свободной 2,4-Д в растениях ячменя составляло 19,6—20,5 %, а пшеницы — 12,1—13,5 %.

Ранее [8] отмечалось, что ячмень обладал более выраженной способностью гидроксилировать 2,4-Д, чем пшеница и кукуруза. Это подтверждается нашими данными. Через 7 сут после обработки и в пшенице, и в ячмене преобладающая часть гербицида (95—97 %) находилась в связанном состоянии, но гидроксилированных форм в пшенице было 34,9 и 40,9 %, а в ячмене — 57,4 и 53,5 % (контроль и многолетние обработки соответственно). Важно отметить, что в первые сутки соотношения негидроксилированных и гидроксилированных метаболитов 2,4-Д у контрольных растений пшеницы и ячменя было близким, в дальнейшем процент гидроксилированных форм в пшенице не изменялся, а у ячменя возрастал.

Наибольшие различия метаболизма 2,4-Д в контрольных растениях и обрабатывавшихся гербицидом много лет наблюдались на третьи сутки, а впоследствии они сглаживались. Видимо, последствие многолетних обработок семенных репродукций сказывается не на характере метаболизма 2,4-Д, а на его скорости.

### Выводы

1. Обнаружены существенные различия в динамике метаболизма 2,4-Д у пшеницы и ячменя, обрабатываемых гербицидом впервые и после многолетних обработок семенных репродукций.

Последствие многолетних обработок наиболее четко проявилось через 3 сут после нанесения на лист меченого гербицида. Оно вырази-

лось у пшеницы в уменьшении процента гидроксилированных производных, а у ячменя — негидроксилированных конъюгатов 2,4-Д.

2. Содержание свободной 2,4-Д через сутки после обработки составляло у ячменя 19,6—20,5 %, у пшеницы — 12,1—13,5 % (к общей радиоактивности. Гидроксилирование гербицида в ячмене Московском 121 шло интенсивнее, чем в пшенице Саратовской 29. Через 7 сут содержание гидроксилированных метаболитов 2,4-Д составляло у пшеницы 34,9—40,9 %, а у ячменя — 53,5—57,4 %.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зинченко В. А. Модификационная изменчивость у зерновых культур, индуцированная гербицидами. — Изв. ТСХА, 1986, вып. 2, с. 13—26. — 2. Майер-Бодэ Г. Гербициды и их остатки / Пер. с нем. — М.: Мир, 1972. — 3. Назарова Т. А., Павлова Н. Н., Макеев А. М., Чкаников Д. И. Транспорт и метаболизм 2,4-Д в растениях ячменя разного возраста. — Химия в сельск. хоз-ве, 1978, № 11, с. 34—36. — 4. Назарова Т. А., Павлова Н. Н., Макеев А. М., Чкаников Д. И. Аминокислотные конъюгаты 2,4-Д в злаковых растениях. — Физиол. растений, 1980, вып. 27, № 4, с. 740—745. — 5. Назарова Т. А. Метаболизм 2,4-Д в злаковых растениях. — Автореф. канд. дис. М., 1984. — 6. Чкаников Д. И., Макеев А. М., Павлова Н. Н., Назарова Т. А. Остатки 2,4-Д в пшенице и кормовых злаках. — Химия в сельск. хоз-ве, 1978, № 5, с. 51—54. — 7. Чкаников Д. И., Макеев А. М., Павлова Н. Н., Назарова Т. А., Чмиль В. Д. Определение остатков в соломе и зерне злаковых растений. — Химия в сельск. хоз-ве, 1981, № 5, с. 60—63. — 8. Чкаников Д. И., Макеев А. М., Павлова Н. Н., Назарова Т. А. О метаболизме 2,4-Д в культурных злаках. — Физиол. растений, 1982, т. 29, № 3, с. 542—549. — 9. Урбах В. Ю. Биометрические методы. — М.: Наука, 1964. — 10. Эйдельмант Н. М., Мостовая В. И. Исследование зависимости внешних признаков аномального роста растения от сохранения в нем интактной 2,4-Д. — Химия в сельск. хоз-ве, 1970, № 9, с. 54—57. — 11. Beitz H., Stock M. Rückstand in der Pflanzenproduktion. — Nachrichten — Pflanzenschutz DDR, 1980, Bd., H. L., S. 133—137. — 12. Cessna A. L. — J. Agric. Food Chem., 1980, N 6, vol. 28, p. 1229-1232. — 13. Corbett J. R., Miller Ch. S. — Weeds, vol. 14, N 1, 1966.

*Статья поступила 9 января 1986 г.*

#### SUMMARY

Essential differences are found in 2,4-D metabolism dynamics in wheat and barley depending on frequency of treating seed reproductions with the herbicide.

The aftereffect of long-term treatments on 2,4-D metabolism was most clearly seen in three days after applying the labelled herbicide on the leaf. In wheat it was shown in lower percentage of hydroxylated 2,4-D conjugants, while in barley — in lower percentage of nonhydroxylated ones. In barley Moskovsky 121 hydroxylation was more intensive than in wheat Saratovskaja 29. In 7 days the content of hydroxylated 2,4-D metabolites in wheat made 34.9—40.9 %, and in barley — 53.5—57.4 %.