

УДК 633.15:632.954

**АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ КАТАЛАЗИ І ПЕРОКСИДАЗИ В
ЛИСТКАХ Й КОРЕНЯХ ПРОРОСТКІВ ГЕНОТИПІВ КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ
ГРУНТОВИХ ГЕРБІЦИДІВ ТА ПОСУХИ**

Г. С. РОССИХІНА-ГАЛИЧА, молодший науковий співробітник

Ю. В. ЛИХОЛАТ, доктор біологічних наук

Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара

О. І. СЕРГА, кандидат біологічних наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

І. П. ГРИГОРЮК, доктор біологічних наук, член-кореспондент НАН

України

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: anna-rossihina@rambler.ru

Досліджено реакцію-відповідь каталази і пероксидази листків й коренів проростків рослин кукурудзи гібридів Дніпровський 310МВ, Білозерський 295СВ, посухостійкої лінії ДК517 і непосухостійкої лінії ДК424 на комбіновану дію ґрунтових гербіцидів (Фронт'єр, Мерлін) та ґрунтову посуху. Встановлено, що адаптивна здатність стійкіших рослин кукурудзи до стресових чинників реалізується шляхом підвищення активності ферментів каталази та пероксидази.

Ключові слова: кукурудза, гербіциди, посуха, каталаза, пероксидаза, антиоксидантна система, стресові чинники

В промислових регіонах Придніпров'я стан сільськогосподарських культур залежить від дії чинників середовища, які мають антропогенне або природне походження. До стресових чинників, які суттєво впливають на перебіг фізіолого-біохімічних процесів і продуктивність рослин, належать гербіциди та посуха [3, 4, 7, 9, 13 - 17]. Одним із несприятливих абіотичних чинників на рослинні організми є активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і, як наслідок порушення функціонування прооксидантно-антиоксидантної рівноваги [1, 10, 11, 19]. В процесі адаптації до стресових умов активуються компоненти

ферментативної системи захисту: супероксиддисмутаза, каталаза і пероксидаза, які відіграють важливу роль у захисних реакціях рослин [5, 6]. Антиоксиданти здатні зв'язувати вільні радикали, які діють у напрямі розвитку деструктивних окисних процесів, що посилюються за умов впливу на клітину фізичних і хімічних чинників й спричиняють гальмування деструктивних реакцій вільнорадикального окиснення [6, 12]. У вирішенні питання адаптації культурних рослин до комбінованого впливу несприятливих умов (гербіциди і посуха) й вироблення захисних механізмів актуальним є вивчення стану антиоксидантної системи рослин кукурудзи у стресовий та післястресовий періоди.

Мета дослідження – оцінка динаміки активності ферментів-детоксикаторів пероксиду водню каталази і пероксидзи у листках й коренях рослин кукурудзи різних генотипів за послідовного впливу ґрунтових препаратів Фронт'єр, Мерлін та посухи.

Матеріали і методи досліджень. Для модельного експерименту в умовах ґрунтової посухи відбирали неушкоджене і чисте від сторонніх домішок насіння рослин: посухостійкого ранньостиглого гібриду кукурудзи Білозерський 295СВ, лінії ДК517 й менш стійкого гібриду Дніпровський 310МВ та нестійкої лінії ДК424 селекції Інституту сільського господарства степової зони НААН України, які вирощували у вегетаційному будинку в пластикових посудинах об'ємом 1 л на чорноземі звичайному важкосуглинковому малогумусному. Дослідження дії ґрунтових гербіцидів на рослинний організм проводили на прикладі Фронт'єру (діюча речовина – д.р. – диметенамід) та Мерліну (д.р. – ізоксафлютол), які вважають одними з найефективніших для контролювання бур'янів, особливо бур'янів-алергенів [8]. Гербіцидні препарати використовували в концентраціях $1,79 \cdot 10$ (Фронт'єр) і $0,12 \cdot 10$ моль/л (Мерлін), які вносили у ґрунт після висіву зерна. Концентрації гербіцидів були максимально наближені до таких, які використовують у сільському господарстві. Вологість ґрунту в посудинах підтримували на рівні 60 % від повної вологості (ПВ) ваговим методом. У 2-добовому віці проростків створювали модельну посуху шляхом припинення поливу рослин – 30 % ПВ, яка наставала на 4 добу дослідження. За такої вологості

грунту дослідні рослини кукурудзи витримували 3, 7 і 10 діб [18], а контрольні продовжували вирощувати за 60 % ПВ до закінчення експерименту. Матеріал для аналізів відбирали на 3, 7, і 10 добу дії посухи (30 % ПВ) на 2 добу після відновлення поливу.

Активність бензидин-пероксидази (ПО; КФ 1.11.1.7) визначали колориметричним методом [2]. В реакційну суміш, яка містила 0,2 мл супернатанту і 0,8 мл ацетатного буферу, додавали 1мл 0,1М розчину бензидину. Зміну оптичної густини реєстрували за довжини хвилі 470 нм, а активність ферменту виражали в ум.од./ г сирової речовини маси × хв.

Вимірювання активності каталази (КАТ; КФ 1.1.1.6) здійснювали титриметричним методом [12] із розчином перманганату калію після інкубування супернатанту протягом 30 хв за температури 25°C з пероксидом водню і виражали в ммоль H_2O_2 / г сирової речовини маси × хв. Повторність дослідів – чотириразова.

Статистичну обробку одержаних даних виконували за допомогою пакету Microsoft Statistica 6.0. Розбіжність між вибірками вважали значущими за $p \leq 0,05$.

Результати досліджень. Нами встановлено, що для рослин гібриду Білозерський 295СВ і посухостійкої лінії ДК517 за дії посухи і накладанні її на гербіцидний вплив активність ферменту каталази в коренях кукурудзи збільшена в середньому на 20–40 % порівняно з контрольними рослинами; а у листках – 30–50 % (рис. 1). Через 2 доби після поновлення поливу рослин фіксували наближення активності каталази до контрольних значень.

Наявність високої активності каталази у листках рослин свідчить, що в стресових умовах вона бере участь у знешкодженні активних форм кисню і тим самим підвищує стійкість рослин проти посухи та комбінування її з гербіцидами.

Протилежну тенденцію виявлено нами для рослин гібриду кукурудзи Дніпровський 310МВ та непосухостійкої лінії ДК424 (рис. 1), вегетативні органи яких за дії зневоднення відзначаються деактивованою активністю каталази на 50–40 %. Накладання посухи на дію гербіцидів

супроводжувалось більшим пригніченням каталази в листках рослин на 70–50 (на фоні Фронт'єру) і 80–40 % (на фоні Мерліну). За умов поновлення поливу рослин проростків кукурудзи відбувалося пригнічення активності каталази.

Зниження активності каталази виявлено нами у листках гібриду кукурудзи Дніпровський 310МВ і непосухостійкої лінії ДК424, що, ймовірно, свідчить про зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в напрямку посилення генерації активних форм кисню та залучення їх до процесів окиснення ліпідів мембран.

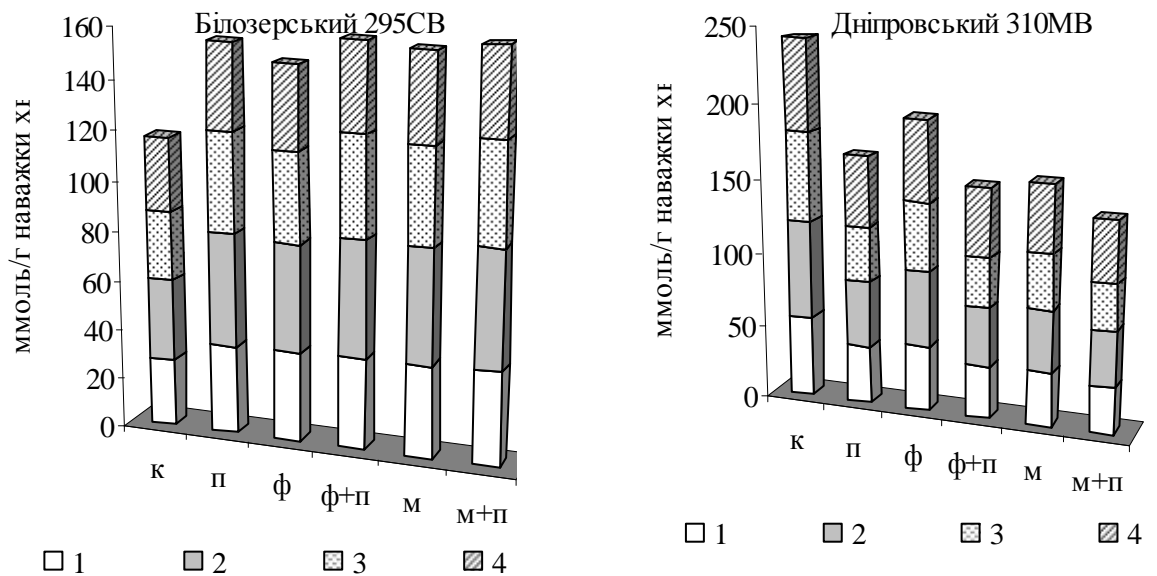


Рис. 1. Вплив гербіцидних препаратів і посухи на активність каталази у листках кукурудзи: 1, 2, 3 – 3-, 7-, 10-добова посуха; 4 – післядії стресових чинників, у розбіжності між вибірками достовірні за $p < 0,05$

Встановлено, що активність пероксидази у листках дослідних рослин кукурудзи гібриду Білозерський 295СВ і непосухостійкої лінії ДК517 збільшувалася, за дії зневоднення від 30 до 40 % в коренях та від 40-50 до 30 % - у листках. За умов накладання посухи на гербіцидну дію активність пероксидази підвищувалася в коренях від 33 до 43 %, і в листках – від 40 до 52 % (рис. 2). У період післядії стресових чинників рівень активності пероксидази в вегетативних органах рослин змінювався (рис. 2). Суттєвіше збільшення активності пероксидази відбувалося у листках рослин гібриду

кукурудзи Дніпровський 310МВ та посухостійкої лінії ДК424. Так, за дії ґрунтової посухи рівень ферментів у дослідних рослин перевищував контроль від 100 до 140 % у листках і 80 до 100 % – коренях. Комбінування гербіцидного впливу із зневодненням інтенсифікувало функціонування ферменту пероксидази від 100 до 120 %. За умов поновлення поливу активність пероксидази в листках дослідних рослин перевищувала контрольний на 80–65 % (у варіанті зневоднення) та 75–73 % (у варіанті сумісної дії стресових чинників).

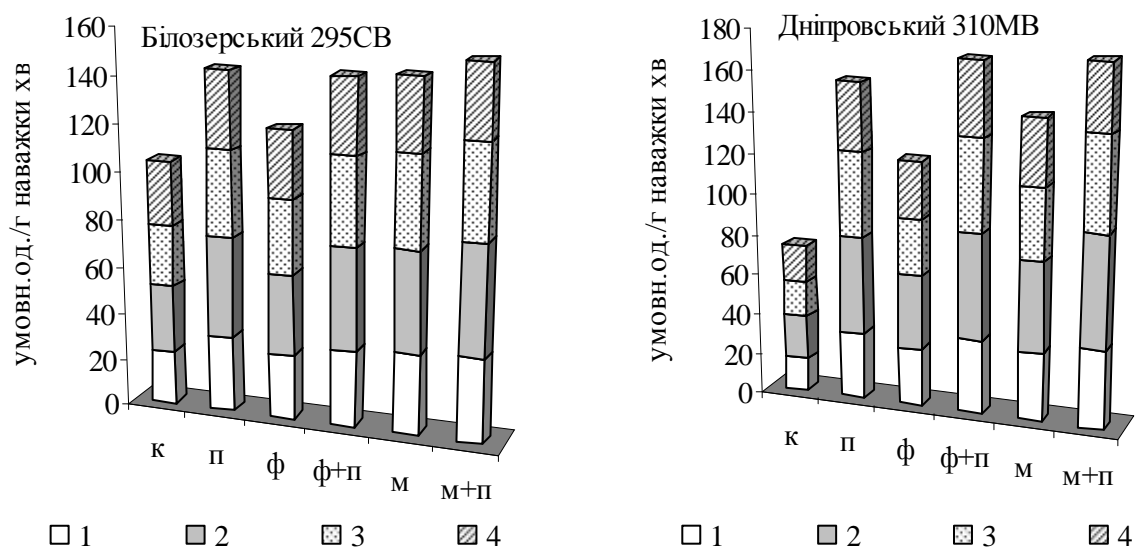


Рис. 2. Вплив гербіцидних препаратів і посухи на активність пероксидази у листках кукурудзи: 1, 2, 3 – 3-, 7-, 10-добова посуха; 4 – післядія стресорів, розбіжності між вибірками достовірні за $p < 0,05$

Висновки

1. Активність каталази і пероксидази вища в листках, ніж коренях проростків контрольних та дослідних рослин.
2. Показано, що генотипи кукурудзи відрізнялися за динамікою активності каталази і пероксидази в умовах посухи, індивідуального впливу гербіцидів та їх комбінації. У проростках рослин гібриду Білозерський 295СВ і посухостійкої лінії ДК517 упродовж експерименту активність каталази і пероксидази збільшувалася, а в

післястресовий період наближалась до контролю, що згідно [20] свідчить про її адаптацію до стресових умов.

3. Чутливі рослини кукурудзи (Дніпровський 310МВ, не посухостійка лінія ДК424) відзначалися пригніченням активності ферментів каталази і істотним збільшенням пероксидази за умов посухи й гербіцидів порівняно з стійкими, що підтверджує інтенсифікацію процесів ПОЛ. На 2 добу після поновлення поливу ці показники були достовірно пригніченими, що є наслідком утворення надлишкової кількості пероксиду водню, виснаження фонду каталази і пероксидази та зсуву прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в бік інтенсифікації процесів ліпопероксидації. Стійкість рослин проти несприятливих чинників прямо корелює з підвищенням активності компонентів системи захисту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бараненко В. В. Активність супероксиддисмутази в рослинах гороху за кліностагування / В. В. Бараненко // Наук. записки Терноп. пед. ун-ту. Сер. біол. – 2002. – Т. 1, № 16. С. – 38–42.
2. Бояркин А. Н. Колориметрическое определение активности пероксидазы / А. Н. Бояркин // Биохимия. – 1961. – Т. 16, № 2. – С. 252 – 254
3. Гарькова А. Н. Обработка гербицидом Гранстар вызывает окислительный стресс в листьях злаковых / А. Н. Гарькова, М. М. Русяева, О. В. Нуштаева [и др.] // Физиология растений. – 2011. – 58, № 6. – С. 930–943.
4. Григорюк І. П. Ріст пшениці і кукурудзи в умовах посухи та його регуляція. / І. П. Григорюк, О. І. Жук – Київ : Наук. світ, 2002. – 118 с.
5. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / Е. Л. Кордюм, К. М. Сытник, В. В. Бараненко и др. – Киев : Наук. думка, 2003. – 270 с.

6. Колупаев Ю. Е. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров / Ю. Е. Колупаев, Ю. В. Карпец – Киев.: Основа, 2010. – 352с.

7. Макаринський О. Ю. Вплив гербіцидів базаграну, агрітоксу і пантери внесених окремо та сумісно з емістимом С на активність окисно-відновних ферментів у рослинах гороху / О. Ю. Макаринський // Наук. записки Терноп. пед. ун-ту. Сер. біол. – 2002. – № 3 (18). – С. 112–115.

8. Матюха Л. А. Слагаемые эффективной защиты посевов кукурузы от сорняков / Л. А. Матюха // Бюл. Ин-ту зернового хозяйства. – 2003. – № 20. – С. – 28–30.

9. Мащенко Т. П. Зміна активності антиоксидантних ферментів у листках сортів озимої пшениці за дії посухи та у післястресовий період / Т. П. Мащенко, О. А. Ярошенко // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку: у 2 т. Т. 2 / НАН України, Ін-т фізіології рослин і генетики, Укр. т-во фізіологів рослин. – Київ : Логос, 2009. – С. 327–334.

10. Мордерер Е. Ю. Избирательная фитотоксичность гербицидов / Е. Ю. Мордерер. – К. : Логос, 2001. – 240 с.

11. Платонова А. А. Вміст малонового діальдегіду та активність антиоксидантних ферментів у проростках гороху за дії іонів кадмію / А. А. Платонова, С. С. Костишин // Физиология и биохимия культ. растений. – 2000. – 32, № 2. – С. 146–150.

12. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений / Б. П. Плешков. – М. : Колос, 1968. – 183 с.

13. Россихіна Г. С. Інтенсивність утворення прооксидантних компонентів в рослинах кукурудзи різної стійкості до дефіциту вологи та гербіцидів / Г. С. Россихіна, О. М. Вінниченко, Ю. В. Лихолат // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. – 2010. – Вип. 27. – С. – 96–103.

14. Россихина Г. С. Стан антиоксидантної ферментативної системи рослин кукурудзи за дії ґрунтових гербіцидів / Г. С. Россихина // Вісник Львів. ун-ту Сер. біол., – 2010. – Вип. 53. – С. 188–198.

15. Россихина Г. С. Активність ферментів-детоксикаторів активних форм кисню газоутворюючих трав за комплексної дії токсикантів / Г. С. Россихина, Ю. В. Лихолат, Л. В. Кирпита // Вісник Львівського університету. Сер. біол., – 2011. – Вип 56. – С. 239–244.

16. Россихина-Галича Г. С. Активность ферментов антиоксидантной защиты растений кукурузы, произрастающих в условиях гербицидной обработки / Г. С. Россихина-Галича, Ю. В. Лихолат, О. М. Винниченко // Экологический вестник Северного Кавказа. – 2014. – Т. 10, № 4. – С. 30-34.

17. Хромих Н. О. Вплив гербіцидів нового покоління на фізіолого-біохімічні показники насіння кукурудзи / Н. О. Хромих, Г. С. Россихина, В. В. Лашко // Вісник ХНАУ. Серія біологія. – 2011. – Вип. 3. – С. 50–55.

18. Шматько І. Г. Біоелектрична реакція листків озимої пшениці на водний стрес різної напруженості / І. Г. Шматько, А. П. Садовий, В. М. Федоров та ін. // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – Т. 26, № 5. – С. 494–501.

19. Smirnoff N. Plant resistance to environmental stress / N. Smirnoff // Current Opinion in Biotechnology. – 1998. – Vol. 9, N 2. – P. 214–219.

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ КАТАЛАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ В ЛИСТЬЯХ И КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ГЕНОТИПОВ КУКУРУДЗЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПОЧВЕННЫХ ГЕРБИЦИДОВ И ЗАСУХИ

Г. С. Россихина-Галычая, Ю. В. Лихолат, О. И. Серга, И. А. Григорюк

Исследовано ответную реакцию каталазы и пероксидазы листьев и корней проростков растений кукурузы гибридов Днепровский 310МВ, Белозерский 295СВ на комбинированное воздействие почвенных гербицидов (Фронтьер, Мерлин) и почвенную засуху. Установлено, что адаптивная

способность устойчивых растений кукурузы к стресс-факторам реализуется путём повышения активности ферментов каталазы и пероксидазы.

Ключевые слова: *кукуруза, гербициды, засуха, каталаза, пероксидаза, антиоксидантная система, стресс-факторы*

**THE ACTIVITY OF ENZYMES CATALASE AND PEROXIDASE IN
LEAVES AND ROOTS OF PLANTLETS MAIZE GENOTYPES UNDER
THE INFLUENCE OF SOIL HERBICIDES AND DROUGHT**

A. S. Rossikhina-Galicha, Yu. V. Lykholat, O. I. Serha, I. P. Hrygoryuk

The response of catalase and peroxidase of leaves and roots of corn plants seedlings of hybrids Dnipro 310MV, Belozerskiy 295SV on the combined effect of soil herbicides (Frontier, Merlin) and soil drought was studied. It was found that the adaptive capacity of a plant organism's resistance to stress factors is realized by increasing the activity of the studied enzymes.

Keywords: *maize, herbicides, drought, catalase, peroxidase, antioxidant system, stress factors*