

**ВПЛИВ ГЕРБІЦИДНИХ ПРЕПАРАТІВ РІЗНИХ КЛАСІВ НА  
ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНИЙ СПЕКТР БІЛКІВ І АКТИВНІСТЬ  
ФЕРМЕНТІВ-АНТИОКСИДАНТІВ У НАСІННІ РОСЛИН *ZEA MAYS* L.**

**В. Лашко, Г. Россихіна**

*Дніпропетровський національний університет  
імені Олеся Гончара, НДІ біології  
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна  
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

Досліджували вплив гербіцидів Харнес, Стеллар, Майстер, Пропоніт на фізіолого-біохімічні показники стиглого насіння *Zea mays* L. Встановлено, що досліджувані гербіцидні препарати здатні викликати суттєві відмінності в електрофоретичному спектрі білків та окисно-відновному гомеостазі насіння рослин кукурудзи. За дії гербіцидів зафіксовано як редукцію, так і синтез нових білкових компонентів. При цьому зростання активності супероксиддисмутази супроводжувалася достовірним зниженням активності каталази й пероксидази.

*Ключові слова:* кукурудза, насіння, гербіцидні препарати, білковий обмін, електрофоретичні спектри, супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза.

Застосування гербіцидів з урахуванням типів засміченості, що складаються на полях, а також хімічних і фітотоксичних властивостей окремих препаратів, допомагає запобігти втратам урожаю, скоротити кількість механічних обробок, підвищити продуктивність праці. Поряд із цим ефективне використання гербіцидів обмежене певними термінами їхнього застосування, фазами росту й розвитку культурних рослин і бур'янів, погодними умовами. Тому хімічний захист посівів слід розглядати як допоміжний спосіб у системі заходів, спрямованих на знищення бур'янів. Висока ефективність досягається за суворого дотримання норм застосування кожного препарату згідно зі «Списком пестицидів та агрохімікатів» [9].

Систематичне використання одних і тих самих препаратів часто призводить до зміни фітоценозів у бік різкого збільшення на полях стійких до них видів бур'янів. Це викликає необхідність розробити певну систему застосування різних препаратів або заміни їх новими, ефективнішими. Правильне застосування системи захисту можливе за умов ґрунтового розуміння механізмів дії гербіцидів на культурні рослини та бур'яни [5].

Адаптація рослин до умов існування супроводжується змінами активності ферментів, тобто за дії стресора у рослин може посилюватися синтез білків, які існували раніше, або нових білків, а також можуть змінюватися властивості ферментів.

Відомо, що гербіцидні препарати індукують окислювальний стрес утворенням надлишкових активних форм кисню (АФК) – таких, як супероксид-радикал, гідроксил-радикал та гідрогенпероксид. АФК реагують з ліпідами, білками, пігментами та нуклеїновими кислотами і викликають пероксидне окислення ліпідів, пошкодження мембран, інактивацію ферментів, впливаючи таким чином на життєздатність клітин [4, 12]. Щоб виключити шкідливий вплив цих реакційоздатних молекул, рослини володіють ефективними захисними системами, неферментативними (антиоксиданти – глутатіон, аскорбат і каротиноїди) та ферментативними (ферменти антиоксидантного захисту – супероксиддисмутаза (СОД), пероксидаза, каталаза тощо) [4, 11]. Зокрема,

супероксиддисмутаза перетворює супероксид-радикал у  $H_2O_2$ , що потім відновлюється до води та кисню за допомогою пероксидази й каталази в цитоплазмі та інших клітинних компартментах [4].

Тому метою нашого дослідження було вивчити електрофоретичні спектри сумарних білків і активності ключових ферментів-детоксикаторів активних форм кисню (супероксиддисмутази, каталази, пероксидази) насіння кукурудзи гібриду Оржиця 237 МВ, вирощеного на ґрунті з різною гербіцидною обробкою.

#### Матеріали та методи

Дослідження проводили на стиглому насінні кукурудзи нового середньораннього гібриду Оржиця 237 МВ (у Державному реєстрі сортів рослин, придатних до поширення в Україні, з 2010 р.) [3], урожаю 2010 р., зібраного на полях Інституту зернового господарства УААН (м. Дніпропетровськ) в умовах польового експерименту. У цей період погодні умови були такими: квітень – теплим і посушливим, з нормою опадів 1/3 від норми; травень – теплішим від норми та з опадами більше двох норм; червень – аномально теплим; липень і серпень – спекотними (середньомісячна температура перевищувала кліматичну норму на 7°C та становила 38–39°C) [1]. На дослідних ділянках гербіциди вносили у таких дозах: Харнес – 2,5 л/га; Майстер і Стеллар по 1,25 л/га; Пропоніт – 2 л/га, контрольні ділянки без гербіцидної обробки, з ручним виконанням бур'янів. Представлені гербіциди класифікувались як досходові хлорацетанлідні препарати (Пропоніт, Харнес) і післясходові похідний сульфонілсечовини (інгібітор ацетолактатсинтетази – Майстер), комплексний препарат (пошкоджував точки росту – Стеллар). Препарати вносили за допомогою ранцевого обприскувача. Ґрунт дослідних ділянок – чорнозем, рН нейтральне. Облікова площа ділянок – 10 м<sup>2</sup>, повторність чотириразова. Аналізували усереднену пробу зерна з 5-ти ділянок.

Екстракцію сумарного білка зерна кукурудзи проводили 0,0125 М натрій-боратним буфером (рН 10) з додаванням 1% ДДС та 2% β-меркаптоетанолу впродовж 1 год при 20°C. Отриманий гомогенат центрифугували 20 хв при 12 000 g. Білки розділяли методом денатуруючого SDS-електрофорезу у градієнтному (10–20%) ПААГ, використовуючи як маркери РНК-азу (15 kD), α-хімотрипсин (22,5 kD) і альбумін яєчний (43 kD) [10]. За молекулярною масою поліпептиди були умовно поділені на низько- (10-20 kD), середньо- (30-50 kD) та високомолекулярні (60–80 kD).

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за рівнем гальмування відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) в присутності НАДН і феназинметасульфату (ФМС) [7]. Реакційна суміш містила 1,2 мл фосфатного буферу, 0,1 мл ФМС, 0,3 мл НСТ, 0,3 мл супернатанту. Реакцію ініціювали додаванням 0,2 мл НАДН і зупиняли 1 мл льодяної оцтової кислоти.

Каталазну активність оцінювали титриметричним методом [8] і виражали в ммоль перекису водню, розкладеного за хвилину.

Активність пероксидази визначали за швидкістю реакції окислення бензидину й виражали в умовних одиницях [6].

Статистичну обробку даних, отриманих у трьох аналітичних повтореннях, проведено за допомогою програми Microsoft Statistica 6.0, розбіжності між вибірками вважали значущими при  $p < 0,05$ .

#### Результати і їхнє обговорення

Аналіз поліпептидного складу сумарних білків виявив якісні відмінності дослідних зразків від контрольного варіанта, спричинені дією гербіцидів. Так, у контролі кількість

білкових спектрів становить 31 з молекулярними масами від 58,9 до 11,0 кДа (табл. 1). Розподіл білка в насінні кукурудзи, вирощеної за дії гербіциду Майстер, значною мірою подібний до електрофоретичних спектрів контролю. Відмінності полягають у відсутності компонентів з Мг 40,7; 34,7; 12,0; 11,0 кДа та появі компонентів 35,5; 25,1; 16,2; 13,5 кДа.

Таблиця 1

Фракційний склад сумарних білків насіння кукурудзи гібриду Оржиця 237 МВ  
за дії гербіцидних препаратів, Мг (кДа)

№	Rf	Варіанти дослідження				
		Харнес	Майстер	Стеллар	Пропоніт	Контроль
1	0,02	-	-	-	81,3	-
2	0,05	-	-	-	74,1	-
3	0,08	-	-	-	69,2	-
4	0,11	-	-	-	64,1	-
5	0,14	-	58,9	-	58,9	58,9
6	0,16	-	56,3	-	56,3	56,3
7	0,17	-	53,7	-	53,7	53,7
8	0,20	-	50,1	-	50,1	50,1
9	0,21	-	48	-	-	48
10	0,23	-	46,8	-	46,8	46,8
11	0,24	-	44,7	-	44,7	44,7
12	0,25	-	-	-	43,7	-
13	0,26	-	42,7	-	42,7	42,7
14	0,28	-	-	-	-	40,7
16	0,30	-	38,1	-	38,1	38,1
17	0,32	-	37,2	-	37,2	37,2
18	0,33	-	35,5	-	35,5	-
19	0,34	-	-	-	34,7	34,7
20	0,35	-	33,9	-	33,9	33,9
21	0,38	-	30,9	-	30,9	30,9
22	0,40	-	29,5	-	29,5	29,5
23	0,42	-	28,2	-	28,2	28,2
24	0,43	-	26,3	-	26,3	26,3
25	0,46	-	25,1	-	25,1	-
26	0,48	-	24,0	-	24,0	24,0
27	0,50	22,4	22,4	-	22,4	22,4
28	0,52	21,4	21,4	-	21,4	21,4
29	0,55	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
30	0,58	18,2	18,2	-	18,2	18,2
31	0,60	17,4	17,4	-	17,4	17,4
32	0,62	-	16,6	-	16,6	16,6
33	0,63	-	16,2	-	-	-
34	0,64	15,5	15,5	-	15,5	15,5
35	0,66	15,2	15,2	15,2	15,2	15,2
36	0,67	14,8	-	-	-	-
37	0,68	14,1	-	-	-	-
38	0,69	13,8	13,8	13,8	13,8	13,8
39	0,70	-	13,5	13,5	13,5	-
40	0,72	12,9	12,9	12,9	12,9	12,9
41	0,74	12,0	-	-	12,0	12,0
42	0,75	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5
43	0,77	-	-	-	11,0	11,0

Вплив Пропоніту викликає збільшення кількості білкових фракцій до 37. У цьому варіанті слід відзначити появу високомолекулярних компонентів з Мг 81,3; 74,1; 69,2; 64,1 кДа; середньомолекулярних з Мг 43,7; 35,5 та низькомолекулярного – 13,5 кДа, а також відсутність компонента з Мг 48.

Суттєве зменшення кількості електрофоретичних спектрів встановлено у насінні

при обробці Харнесом і Стелларом. Вони становлять відповідно 13 і 6 низькомолекулярних компонентів. Діапазон молекулярних мас за дії гербіциду Харнес коливається від 22,4 до 11,5 кДа, 9 з них були аналогічними контролю. При цьому спостерігається поява компонентів з Мг 14,8 й 14,1 кДа та зникнення білків з Мг 16,6 й 11,0 кДа.

За дії препарату Стеллар фракційний склад білків різко змінюється, кількість фракцій зменшується до 6, вона представлена компонентами з Мг 20,0; 15,2; 14,1; 13,5; 12,9; 11,5 кДа. У варіантах обробки препаратами Стеллар і Харнес високо- та середньомолекулярні фракції з білкового спектра зникають, що свідчить про пригнічуючу дію цих препаратів на рослини кукурудзи гібриду Оржиця 237 МВ.

Необхідно зазначити, що в усіх варіантах обробки гербіцидом відзначено наявність 5 постійних низькомолекулярних білкових компонентів з Мг 20,0; 15,2; 13,8; 12,9 та 11,5 кДа.

Результати досліджень супероксиддисмутазної активності представлені на рис. 1. Аналіз отриманих даних свідчить про те, що у стиглому насінні представленого гібриду кукурудзи за дії гербіцидних препаратів активність СОД достовірно збільшена. Так, за впливу Харнесу даний показник перевищував контроль на 160%, за впливу Майстра – на 95%, Стеллара – на 460%, Пропоніту – на 97%.

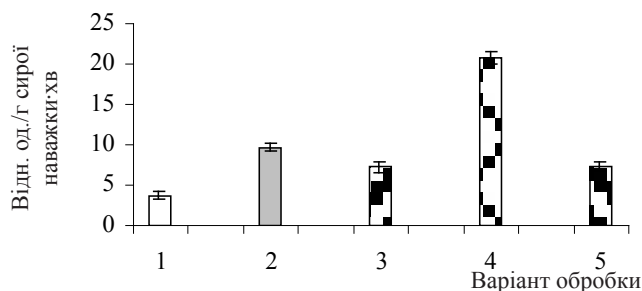


Рис. 1. Активність супероксиддисмутазы стиглого зерна кукурудзи за дії гербіцидів: 1 – контроль; 2 – Харнес; 3 – Майстер; 4 – Стеллар; 5 – Пропоніт. Похибка вибірки не перевищує 5% від середніх значень.

На фоні підвищення активності СОД у дослідних варіантах спостерігали пригнічення активності каталази та пероксидази. За дії препарату Харнес рівень ензиматичної активності порівняно з контрольними рослинами достовірно знижений відповідно на 62 та 28%, Майстер – 60 і 20%, Стеллар – 65 і 56%, Пропоніт – 59 і 54% (рис. 2).

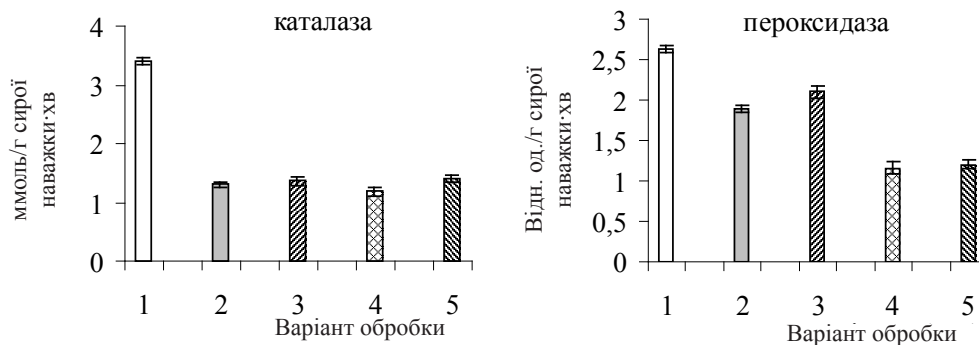


Рис. 2. Активність каталази та пероксидази стиглого зерна кукурудзи за дії гербіцидів: 1 – контроль; 2 – Харнес; 3 – Майстер; 4 – Стеллар; 5 – Пропоніт. Позначення ті ж, що й на рис. 1.

Відзначено, що активність цих трьох ферментів змінювалась під впливом гербіцидного навантаження неоднаково. Високий рівень СОД вказує, що зазначені умови росту рослин кукурудзи гібриду Оржиця 237 МВ призводять до індукції ключового антиоксидантного захисного ензиму. Це, ймовірно за все, було наслідком підвищення експресії генів, які кодують СОД, і збільшеного утворення активних форм кисню. У той же час пригнічена активність ферментів, що розкладають пероксид водню, свідчить про його значне накопичення, внаслідок чого й було зафіксовано зниження активності каталази та пероксидази. Ймовірно, рослини кукурудзи гібриду Оржиця 237 МВ виявилися занадто слабкими, щоб утворити достатню для руйнування АФК кількість ферментів антиоксидантного захисту, і це може відбитись як на якості зерна, так і на ростовому й адаптивному потенціалі наступного покоління.

Таким чином, встановлено, що досліджувані гербіцидні препарати Харнес і Стеллар викликають суттєві зміни в білковому обміні та окисно-відновному гомеостазі репродуктивних органів рослин кукурудзи гібриду Оржиця 237 МВ. Відсутність високо-та середньомолекулярних компонентів у спектрі білків за дії цих препаратів, ймовірно, свідчили про їхню негативну дію на насіння досліджуваних рослин.

Дія препарату Майстер, що містив у своєму складі антидот ізоксадифенетил, який характеризується високою селективністю за рахунок механізму токсичної дії, м'яким впливом на культуру навіть у чутливій фазі онтогенезу та можливістю реалізації потенціалу врожайності даного гібриду, спричинила менш негативний вплив на досліджувані фізіолого-біохімічні показники стиглого насіння кукурудзи. Таким же незначним ушкоджувальним ефектом, за нашими даними, характеризується й препарат Пропоніт. Цей гербіцид, згідно з літературними даними, не має ознак фітотоксичності, що сприяє одержанню високого врожаю. Неперевершена селективність Пропоніту дозволяє його використання без антидоту й виключає прояви фітотоксичності до культури незалежно від погодних умов (відсутності опадів, підвищення або зниження температури) [2].

Вважаємо за доцільне при впровадженні нових гербіцидних препаратів у сільському господарстві проводити тестові комплексні дослідження їхнього впливу на фізіолого-біохімічні показники (чутливість) культурних рослин, в посівах яких вони застосовуються.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аномальная жара на Украине [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://ru.wikipedia.org/wiki>.
2. Григоренко Я. В. Як уникнути фітотоксичності від ґрунтових гербіцидів на соняшнику / Я. В. Григоренко [Електронний ресурс] // Режим доступа: <http://agroscom.ua/ua/article/21.html>.
3. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні. Офіційне видання. К.: ТОВ "Алефа", 2010. 230 с.
4. Лу Т. К., Лу Л. Л., Жу Е. и др. Антиоксидантная система в корнях двух контрастных экотипов *Sedum alfredii* при повышенных концентрациях цинка // Физиология растений. 2008. № 6. Т. 55. С. 886–894.
5. Мержинский Ю. Г. Биохимия действия гербицидов при комплексном применении // Физиология и биохимия культ. растений. 1974. № 4. Т. 3. С. 339–349.
6. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И. Ермакова, 3-е изд. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
7. Перслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лабораторное дело. 1989. № 11. С. 20–23.
8. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1968. 183 с.

9. Циков В. С. Кукуруза: технология, гибриды, семена. Днепропетровск: Зоря, 2003. 296 с.
10. Laemmli U. K. Cleavage of structural of bacteriophage T-4 // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
11. Shradha S., Susan E., Dsouza S. F. Cadmium Accumulation and Its Influence on Lipid Peroxidation and Antioxidative System in an Aquatic Plant *Vasopa monnieri* L. // Chemosphere. 2006. Vol. 62. P. 233–246.
12. Yan X., Yu D., Wang H. Y., Wang J. W. Response of Submerged Plant (*Vallisneria spirulosa*). Clones to Lead Stress in the Heterogenous Soil // Chemosphere. 2006. Vol. 63. P. 1459–1465.

Стаття: надійшла до редакції 30.06.11

доопрацьована 18.10.11

прийнята до друку 19.10.11

## THE INFLUENCE OF DIFFERENT CLASSES OF HERBICIDE PREPARATIONS ON THE ELECTROPHORETIC SPECTRUM OF PROTEINS AND ACTIVITY OF ENZYMES-ANTIOXIDANTS IN THE PLANT *ZEA MAYS* L. SEEDS

V. Lashko, A. Rossihina

*Oles Gonchar National University of Dnipropetrovsk, Biological Institute  
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine  
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

The influence of herbicides harness, stellar, mayster, proponit to the physiological and biochemical indicators of ripe seed *Zea mays* L. was studied. Was determined that in investigated herbicide preparations can cause significant differences in the electrophoretic spectrum of proteins and redox homeostasis of *Zea mays* L. seeds. A reduction and synthesis of new protein components was recorded by action of herbicides. The increase superoxide dismutase activity was accompanied by significant reduction in activity of catalase and peroxidase.

*Key words: Zea mays* L., seeds, herbicide preparations, protein metabolism, electrophoretic spectrums, superoxide dismutase, catalase, peroxidase.

## ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ РАЗНЫХ КЛАССОВ НА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЙ СПЕКТР БЕЛКОВ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ В СЕМЕНАХ РАСТЕНИЙ *ZEA MAYS* L.

В. Лашко, А. Россихина

*Днепропетровский национальный университет  
имени Олесь Гончара, НИИ биологии  
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина  
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

Исследовали влияние гербицидов Харнес, Стеллар, Майстер, Пропонит на физиолого-биохимические показатели семян *Zea mays* L. Установлено, что исследуемые гербицидные препараты способны вызывать существенные отличия в электрофоретическом спектре белков и окислительно-восстановительном гомеостазе семян растений кукурузы. Под действием гербицидов зафиксированы как редукция, так и синтез новых белковых компонентов. При этом рост активности супероксиддисмутазы сопровождался достоверным снижением активности каталазы и пероксидазы.

*Ключевые слова:* кукуруза, семена, гербицидные препараты, белковый обмен, электрофоретические спектры, супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза.