

УДК 581.32:632.954:633.15

АКТИВНІСТЬ НАДФН-ОКСИДАЗИ У МЕРИСТЕМАХ КОРЕНІВ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ ГЕРБІЦИДУ ІНГІБІТОРУ АЦЕТИЛ-КоА-КАРБОКСИЛАЗИ

М.П. РАДЧЕНКО, А.М. СИЧУК, Є.Ю. МОРДЕРЕР

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: SychukAnna@i.ua*

З метою визначення джерел утворення супероксидного аніон-радикала (САР) досліджено активність НАДФН-оксидази у меристемах коренів проростків кукурудзи за дії гербіциду інгібітору ацетил-КоА-карбоксилази галоксифоп-*R*-метилу (ГФ). Встановлено, що активність НАДФН-оксидази підвищується лише на початкових етапах розвитку фітотоксичної дії гербіциду. Зроблено висновок, що окрім НАДФН-оксидази існує інше джерело утворення САР, яке зумовлює тривале збільшення вмісту цієї активної форми кисню з початку розвитку фітотоксичної дії гербіциду до моменту появи некрозів у меристемах.

Ключові слова: гербіциди, галоксифоп-*R*-метил, ацетил-КоА-карбоксилаза, активні форми кисню, супероксидний аніон-радикал, НАДФН-оксидаза.

Гербіциди — інгібітори ацетил-КоА-карбоксилази (АКК) (КФ 6.4.1.2) утворюють групу так званих грамініцидів, оскільки діють виключно на рослини родини злакових (Poaceae). Розвиток індукованого грамініцидами патогенезу опосередкований утворенням активних форм кисню (АФК). Це підтверджують дані щодо ослаблення фітотоксичної дії грамініцидів екзогенними антиоксидантами [1, 2, 4], а також залежність чутливості рослин до дії цих гербіцидів від стану антиоксидантно-прооксидантної рівноваги [3, 9]. Зокрема встановлено, що за дії грамініциду галоксифоп-*R*-метилу антиоксидант іонол гальмував, а екзогенний пероксид водню пришвидшував появу некрозів у меристемах коренів етіюльованих проростків кукурудзи. Після обробки гербіцидом у меристемах короткочасно зростав вміст ендогенного пероксиду водню й пролонговано збільшувався вміст САР із початку розвитку фітотоксичної дії ГФ до появи некрозів у меристемах. За обробки антиоксидантом іонолом зменшувалась, а пероксидом водню — збільшувалась інтенсивність утворення АФК за дії ГФ. Встановлено також, що після обробки ГФ у проростках короткочасно підвищувалась активність іонозв'язаної пероксидази клітинних стінок (ПКС) [2]. Відомо, що ПКС здатна виявляти оксидазну активність і продукувати пероксид водню та САР [7]. Отже, короткочасне збільшення вмісту АФК у меристемах коренів за дії ГФ можна пояснити підвищенням активності ПКС. Водночас залишається невизначеним джерело утворення САР, яке спричинило тривале збільшення його вмісту. Вважають, що утворення САР у клітинах може зумовлюватись активуванням НАДФН-оксидази [10].

У зв'язку з цим метою нашого дослідження було вивчення активності НАДФН-оксидази у меристемах коренів проростків кукурудзи за дії грамїніциду ГФ.

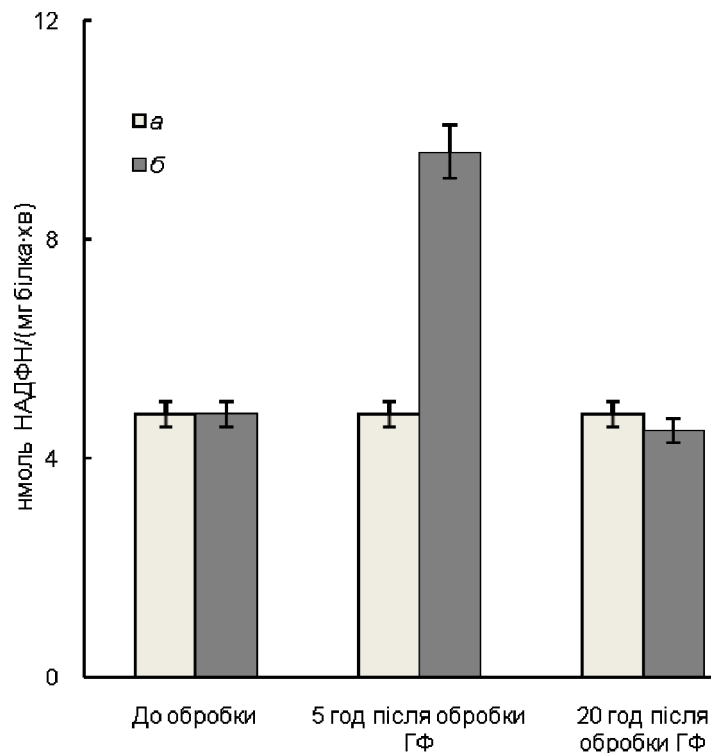
Методика

У дослідженнях використано чутливі до гербіцидів інгібіторів АКК рослини кукурудзи (*Zea mays* L.) як модель однодольних видів бур'янів з родини тонконогових. Насіння пророщували в термостаті за температури 24 °С в кюветах на фільтрувальному папері, змоченому дистильованою водою. Проростки замочували в розчині гербіциду ГФ концентрацією 0,5 мМ протягом однієї години. Активність НАДФН-оксидази визначали за окисненням НАДФН у цитоплазматичній та мітосомальній клітинних фракціях [8]. Результати оброблено статистично методом дисперсійного аналізу за допомогою стандартного комп'ютерного пакета Microsoft Excel.

Результати та обговорення

Встановлено, що через 5 год після обробки проростків кукурудзи ГФ активність НАДФН-оксидази у мітосомальній фракції зростала вдвічі порівняно з контролем. На 20-ту годину після обробки вона знижувалася до початкового рівня (рисунок).

Отже, очевидно, що початкове підвищення вмісту АФК за дії ГФ може бути зумовлене двома чинниками: активуванням ПКС та НАДФН-оксидази. Водночас, оскільки активність цих ферментів зростає тільки



Активність НАДФН-оксидази в мітосомальній фракції меристем коренів проростків кукурудзи в контролі (а) та за дії грамїніциду галоксифоп-*R*-метилу (0,5 мМ) (б)

протягом перших годин після обробки ГФ, то підвищення вмісту САР, яке спостерігалось на наступних стадіях розвитку патогенезу [2], свідчить про існування іншого джерела утворення АФК.

Відомо, що гербіцидна дія грамініцидів зумовлена інгібуванням АКК у хлоропластах і мітохондріях рослин родини тонконогових. Специфічність дії грамініцидів на ці рослини детермінована тим, що тільки у рослин зазначеної родини у пластидах міститься чутлива еукаріотична форма цього ферменту. Інші види рослин, у пластидах яких локалізована стійка прокаріотична форма АКК, стійкі до гербіцидів цього класу [6]. Відомо також, що порушення функціонування електронтранспортних ланцюгів у пластидах рослин інтенсифікує утворення АФК [5]. Отже, логічно припустити, що тривале підвищення вмісту САР за дії грамініцидів зумовлене порушенням функціонування електронтранспортних ланцюгів у пластидах чутливих рослин родини тонконогових. Ці порушення можуть бути спричинені тим, що інгібування активності АКК призводить до блокування синтезу жирних кислот, необхідних для оновлення ліпідів мембран у пластидах.

1. Мордерер Є.Ю., Паланиця М.П., Родзевич О.П. Дослідження участі вільнорадикальних окиснювальних реакцій у розвитку фітотоксичної дії грамініцидів // Физиология и биохимия культ. растений. — 2008. — 40, № 1. — С. 56–62.
2. Паланиця М.П., Трач В.В., Мордерер Є.Ю. Генерування активних форм кисню за дії грамініцидів і модифікаторів їх активності // Там само. — 2009. — 41, № 4. — С. 328–334.
3. Радченко М.П., Сичук А.М., Родзевич О.П., Мордерер Є.Ю. Підвищення вибіркової фітотоксичності та стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в разі застосування грамініциду феноксапроп-Р-етилю в потрійній суміші з гербіцидом синергістом та антагоністом // Физиология растений и генетика. — 2013. — 45, № 4. — С. 306–312.
4. Banas A., Johansson G., Stenlid G., Szymne S. Free radical scavengers and inhibitors of lipoxygenases as antagonists against the herbicides haloxyfop and alloxymid // Swed. J. Agr. Res. — 1993. — 23. — P. 65–67.
5. Dan Hess F. Light-dependent herbicides: an overview // Weed Sci. — 2000. — 48. — P. 160–170.
6. Delye C. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update // Weed Sci. — 2005. — 53. — P. 728–746.
7. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. — 2002. — 7, N 9. — P. 405–410.
8. Pinton R., Cakmak I., Marschner H. Zinc deficiency enhanced NAD(P)H-dependent superoxide radical production in plasma membrane vesicles isolated from roots of bean plants // J. Exp. Bot. — 1994. — 45, N 1. — P. 45–50.
9. Radchenko M.P., Sychuk A.M., Morderer Ye.Yu. Decrease of the herbicide fenoxaprop phytotoxicity in the drought condition: the role of antioxidant enzymatic system // J. Plant Protection Res. — 2014. — 54, N 4. — P. 390–394.
10. Sagi M., Fluhr R. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases // Plant Physiol. — 2006. — 141. — P. 336–340.

Отримано 08.07.2016

АКТИВНОСТЬ НАДФН-ОКСИДАЗЫ В МЕРИСТЕМАХ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЕРБИЦИДА ИНГИБИТОРА АЦЕТИЛ-КоА-КАРБОКСИЛАЗЫ

М.П. Радченко, А.М. Сычук, Е.Ю. Мордерер

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

С целью определения источников образования супероксидного анион-радикала (САР) исследована активность НАДФН-оксидазы в меристемах корней проростков кукурузы при

АКТИВНОСТЬ НАДФН-ОКСИДАЗЫ В МЕРИСТЕМАХ КОРНЕЙ

действии гербицида ингибитора ацетил-КоА-карбоксилазы галоксифоп-*R*-метила (ГФ). Установлено, что активность НАДФН-оксидазы повышается только на начальных этапах развития фитотоксического действия гербицида. Сделан вывод, что кроме НАДФН-оксидазы существует другой источник образования САР, который вызывает продолжительное увеличение содержания этой активной формы кислорода с начала развития фитотоксического действия гербицида до момента появления некрозов в меристемах.

THE ACTIVITY OF NADPH-OXIDASE IN THE CORN SEEDLINGS ROOT MERYSTEM UNDER THE HERBICIDE INHIBITOR OF ACETYL-CoA-CARBOXYLASE ACTION

M.P. Radchenko, A.M. Sychuk, Ye.Yu. Morderer

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The activity of NADPH-oxidase in corn seedlings root merystem under the herbicide inhibitor of acetyl-CoA-carboxylase haloxyfop-methyl (HF) action was investigated to determine the sources of superoxide anion radical (SAR) formation. It was established that increased activity of NADPH-oxidase observed only at the beginning of the herbicide phytotoxic action development. It is concluded, that besides NADPH-oxidase, there is another source of SAR formation, which determines the prolonged increase in the content of this form of reactive oxygen species from the beginning of herbicide phytotoxic action to moment of the merystem necrosis occurrence.

Key words: herbicides, haloxyfop-*R*-methyl, acetyl-CoA-carboxylase, reactive oxygen species, superoxide anion radical, NADPH-oxidase.