УДК 581.1:577.1:633.15:632.954

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ ГЕРБІЦИДНОГО ЗАБРУДНЕННЯ

Россихіна-Галича Г.С., Більчук В.С., Легостаєва Т.В., Шмагайло Ю.О.
Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара

Исследовано влияние гербицидов разных классов на активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, пероксидазы и содержание фотопродукции (по накоплению малонового диальдегида) в листьях проростков кукурузы гибрида Днепровский 310МВ. Установлена взаимосвязь между этими показателями в процессе онтогенеза, которая описывается соответствующими уравнениями регрессии. Выявлены различия в токсичности гербицидных препаратов. Показана роль пероксидазы в процессе адаптации растительных организмов к гербицидному стрессу.

Zea mays L., СОД, каталаза, пероксидаза, малоновий диальдегид, гербицидный стресс.

ВСТУП

Постійна генерація активних форм кисню (АФК) у процесі фотосинтезу притаманна більшості рослинних організмів. Поява молекулярного кисню, в основному як побічного продукту фотосинтезу, стала значною подією в біологічній еволюції. Всі рослинні організми, які використовують кисень і містять його продукти відновлення, повинні захищати себе від їх токсичності. Тому АФК знаходяться під неперервним контролем організму. Одним із механізмів захисту клітин є функціонування антиоксидантної системи за участі ферментативних та неферментативних компонентів, які підтримують окисний гомеостаз. Додаткове фотосинтетичне утворення АФК за умов стресу посилює вплив прооксидантної ланки в життєздатності рослин [3, 5, 9, 17].

Стан прооксидантно-антиоксидантної системи за стресових умов в тканинах рослин різної функціональної здатності висвітлено недостатньо. Залишається недослідженими умови зміни активності основних антиоксидантів у фотосинтезуючих частинах рослин за дії ксенобіотиків [12–15].

Досить актуальним є визначення взаємозв'язку активності антиоксидантів та концентрацією фотопродукції за основним продуктом вільнорадикального окислення ліпідів – малоновим діальдегідом (МДА). Його посилене утворення призводить до гідрофілізації мембран, зміни гідрофобного бар'єру та пов'язаного з цим збільшення проникності плинності мембран, зниження їх в'язкості, порушення структури та локалізації рецепторів та ферментів [16]. Згідно літературних даних, фотосинтетично зумовлене посилення прооксидантної ланки рослин в умовах стресу викликає компенсаторне підвищення антиоксидантної активності [1, 2, 9, 11, 12].

Тому метою роботи є одержання кількісної оцінки рівня фотопродукції та активності основних антиоксидантних ферментів в процесі онтогенезу в фотосинтезуючих органах проростків рослинних організмів в умовах гербіцидного забруднення і визначення ступеню взаємозв'язку між цими показниками.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

В якості об'єктів дослідження використовували проростки кукурудзи середньостиглого гібриду Дніпровський 310МВ на ранніх стадіях онтогенезу (до 10 діб), які вирощували на середовищі розчинів гербіцидних препаратів Харнес (2,9 ммоль/л) та Мерлін (1,2 ммоль/л). У фотосинтезуючих частинах (листках) проростків визначали активність СОД за рівнем гальмування процесу відновлення нітросинього тетразолію [10], каталази за кількістю розкладеного перекису водню [8], пероксидази за швидкістю реакції окиснення бензидину згідно з [6] та вміст фотопродукції за реакцією утворення забарвленого комплексу в результаті взаємодії МДА з двома молекулами ТБК згідно з [7]. Статистичну обробку даних та кореляційно-регресивний аналіз проведено за допомогою програми Microsoft Statistica 6.0, розбіжності між вибірками вважали значущими при $p<0,05$ [4].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Гербіциди різних класів впливали токсично на рослинні організми через активацію процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) і накопичення фотопродукції (за рівнем вмісту МДА). У наших дослідженнях відмічено достовірна динаміка підвищення вмісту МДА в листках проростків на ранніх стадіях онтогенезу за дії обох гербіцидних препаратів – в 1,9–2,5 рази для гібриду Дніпровський 310МВ (табл. 1). Процес накопичення МДА проходить через максимум на 72-

годинну дію препаратів (6-добові проростки). Слід відмітити, що за дії гербіциду Мерлін інтенсивність ПОЛ вища, про що свідчить підвищений вміст його продуктів.

Таблиця 1 – Зміни вмісту ТБК-активних продуктів (нмоль/г тк.) у листках проростків гібриду Дніпровський 310МВ за дії препаратів Харнес та Мерлін

варіант	Тривалість дії гербіцидів		
	24 години	72 години	120 годин
Контроль	278,71±12,2	316,29±11,4	280,95±12,2
Харнес (2,89•10^{-2} моль/л)	529,55±12,5	664,21±11,3	547,85±11,3
Мерлін (0,12•10^{-2} моль/л)	613,16±15,1	790,73±13,2	702,38±13,3

Підтримка прооксидантного гомеостазу в рослинних організмах відбувається за участю складної системи захисту, серед яких важливу роль відіграють СОД, пероксидаза та каталаза. Аналіз результатів визначення активності СОД свідчить про те, що даний гібрид кукурудзи є чутливим до дії вивчаємих гербіцидів у зазначених концентраціях, що можливо є генетичною ознакою цього гібриду кукурудзи. При цьому активність ферменту знижувалась на ранніх стадіях і була нижчою за контрольні зразки в середньому в 1,5–1,7 рази. У випадку дії препарату Мерлін активність СОД була на 10 % менша ніж за дії Харнесу (табл. 2). Токсичний вплив продуктів ПОЛ посилюється за рахунок недостатньої ефективності антиоксидантного захисту, який проявляється в інгібуванні активності СОД та каталази. В процесі адаптації до негативної дії фотопродукції приймає участь пероксидаза, яка є одним з важливіших антиоксидантних ферментів. Аналіз активності ензиму фотосинтезуючих частин проростків за дії гербіциду Харнес свідчить про достовірне збільшення цього показника в 2,1 рази на ранній стадії (4–6 доба), з подальшим ростом у 2,3 рази і деяким зниженням на початку переходу проростків на автотрофне живлення. Слід відзначити, що за дії препарату Мерлін зафіксовано збільшення пероксидазної активності в 2,3–2,5 рази в залежності від тривалості дії гербіциду.

Дослідження активності каталази, ферменту, який приймає участь в детоксикації пероксиду водню, показали, що за умов дії гербіцидів цей показник у всіх варіантах дослідів був нижчим, ніж у контрольних зразках у 1,5–1,7 рази, аналогічно результатам змін активності СОД за стресових умов (табл. 2).

Таблиця 2 – Зміни активності оксидоредуктаз у листках гібриду Дніпровський 310МВ за дії препаратів Харнес та Мерлін

Варіант	Тривалість дії гербіцидів		
	24 години	72 години	120 годин
Супероксиддисмутаза (ум. од./г тк.)			
Контроль	18,71±0,2	16,29±0,4	20,95±0,4
Харнес (2,89•10^{-2} моль/л)	12,47±0,5	10,18±0,3	13,97±0,3
Мерлін (0,12•10^{-2} моль/л)	11,34±0,5	9,31±0,3	12,18±0,3
Каталаза (ммоль H_2O_2 / г тк.•хв)			
Контроль	13,24±0,5	15,23±0,5	14,12±0,3
Харнес (2,89•10^{-2} моль/л)	8,83±0,3	9,52±0,6	9,29±0,2
Мерлін (0,12•10^{-2} моль/л)	7,79±0,3	8,02±0,6	7,24±0,2
Пероксидаза (ум. од./ г тк.•хв.)			
Контроль	58,96±4,3	63,73±1,0	70,07±4,8
Харнес (2,89•10^{-2} моль/л)	123,82±4,9	146,58±2,3	119,12±3,8
Мерлін (0,12•10^{-2} моль/л)	135,61±2,5	159,33±3,7	175,18±4,7

Подальший аналіз отриманих даних спрямовано на розкриття взаємозв’язку цих фізіолого-біохімічних показників у фотосинтезуючих частинах проростків кукурудзи гібриду Дніпровський 310МВ за дії гербіцидів. Встановлено максимальну кількість кореляцій, які мають відношення до активності оксидоредуктаз. Це насамперед, практично функціональний взаємозв’язок між рівнем фотопродукції за стресових умов і ферментативною активністю антиоксидантів за дії гербіциду Харнес, про що свідчать високі значення коефіцієнтів кореляції.

За дії гербіциду Мерлін на проростки кукурудзи на ранніх стадіях онтогенезу між накопиченням МДА та активністю антиоксидантів виявлено аналогічні тісні взаємозв’язки (табл. 4).

Таблиця 3 – Кореляційні залежності між активністю оксидоредуктаз та ТБК-продуктами в листах кукурудзи гібриду Дніпровський 310МВ за дії препарату Харнес

Показник	МДА	СОД	Каталаза	Пероксидаза
МДА	-	-0,94	-0,89	0,99
СОД	-0,94	-	0,80	-0,90
Каталаза	-0,89	0,80	-	-0,92
Пероксидаза	0,99	-0,90	-0,92	-

Між вмістом МДА та активностями СОД і каталази виявлено значимий зворотній взаємозв'язок. Слід відмітити, що всі залежності мають лінійну форму, при цьому зворотній взаємозв'язок між МДА та СОД (r=-0,94) більш значимий, ніж між МДА та активністю каталази (r=-0,89). Поряд з цим зафіксовано наявність прямого взаємозв'язку між накопиченням МДА та активністю пероксидази (r=0,99). Високі значення коефіцієнтів кореляції вказують на значимі взаємозв'язки між активностями оксидоредуктаз (табл. 3).

Таблиця 4 – Кореляційні залежності між активністю оксидоредуктаз та ТБК-продуктами в листах кукурудзи гібриду Дніпровський 310МВ за дії препарату Мерлін

Показник	МДА	СОД	Каталаза	Пероксидаза
МДА	-	-0,94	-0,94	0,97
СОД	-0,94	-	0,86	-0,87
Каталаза	-0,94	0,86	-	-0,96
Пероксидаза	0,97	-0,87	-0,96	-

Регресивні залежності між рівнем фотопродукції МДА та активністю оксидоредуктаз у фотосинтезуючих частинах проростків показали, що ці процеси пов'язані між собою, на що вказує високі значення коефіцієнту детермінації (табл. 5).

Найбільше значення коефіцієнту детермінації притаманне взаємозв'язку МДА з активністю пероксидази в обох варіантах досліджень. Це підтверджує безпосередню участь пероксидази в процесі детоксикації продуктів пероксидного окислення ліпідів і тим самим в процесі адаптації рослинних організмів до дії ксенобіотиків.

Таблиця 5 – Регресійні залежності між активністю оксидоредуктаз та вмістом МДА в листах кукурудзи гібриду Дніпровський 310МВ за дії препаратів Харнес та Мерлін

Взаємозв'язок між показниками	Коефіцієнт детермінації	F	p<0,05	Рівняння регресії
Харнес				
ТБК(х)–СОД(у)	0,88	30,21	0,005	y=-0,02x+25,38
Мерлін				
ТБК(х)–СОД(у)	0,89	33,26	0,004	y=-0,02x+24,1
Харнес				
ТБК(х)–КАТ(у)	0,80	15,96	0,016	y=-0,02x+18,34
Мерлін				
ТБК(х)–КАТ(у)	0,88	29,00	0,005	y=-0,01x+18,24
Харнес				
ТБК(х)–ПЕР(у)	0,98	174,49	0,0002	y=0,22x-0,27
Мерлін				
ТБК(х)–ПЕР(у)	0,95	69,78	0,001	y=0,22x+1,47
Харнес				
СОД(х)–ПЕР(у)	0,81	17,42	0,014	y=-8,38x+226,35
Мерлін				
СОД(х)–ПЕР(у)	0,76	12,98	0,02	y=-10,01x+258,62
Харнес				
СОД(х)–КАТ(у)	0,63	6,96	0,05	y=0,56x+3,09
Мерлін				
СОД(х)–КАТ(у)	0,74	11,66	0,027	y=0,69x+0,79
Харнес				
ПЕР(у)–КАТ(х)	0,84	20,77	0,01	y=-12,15x+239,21
Мерлін				
ПЕР(у)–КАТ(х)	0,92	43,41	0,003	y=-13,78x+261,24

Рівняння регресії між вмістом МДА та активністю оксидоредуктаз свідчать про наявність лінійної залежності між цими показниками, а зміни рівня результативної ознаки обумовлено концентрацією фотопродукції.

Подальші дослідження доцільно було б спрямувати на вивчення особливостей компонентного складу пероксидази листків проростків даного гібриду за дії гербіцидів.

ВИСНОВКИ

1. Дія гербіцидного забруднення на проростки кукурудзи супроводжується підвищеним накопиченням МДА та змінами в активності захисних ферментів (пригнічення активності СОД, каталази з одночасною активацію пероксидази протягом онтогенезу) порівняно з контрольними умовами.
2. За даними кореляційно-регресивного аналізу виявлено наявність стабільного взаємозв'язку між рівнем фотопродукції та активністю антиоксидантних ферментів у фотосинтезуючих частинах проростків в умовах гербіцидного стресу. Достатньо тісний прямий кореляційний зв'язок між накопиченням ТБК-продуктів та активністю пероксидази свідчить про збільшення оксидоредуктазної функції ензиму в процесі адаптації до токсичної дії гербіцидів.
3. Наявність зворотних зв'язків між ТБК–СОД та ТБК–каталаза вказує на те, що дія гербіцидів перевищує рівень захисних механізмів клітин, що призводить до інгібування активності ферментів антиоксидантної системи СОД і каталази.

ЛІТЕРАТУРА:

1. *Зенков Н.К. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньщикова // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, №3. – С. 286–297.*
2. *Казначєєва М.С. Дослідження стану прооксидантно-антиоксидантногої системи часнику сорту «Дюшес» / М.С. Казначєєва // Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. – 2010. – №1. – С. 136–140.*
3. *Колупаев Ю.Е. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров / Ю.Е. Колупаев, Ю.В. Карпец. – К.: Основа, 2010. – 352 с.*
4. *Лакин К.Ф. Биометрия / К.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.*
5. *Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах / М.Ф. Тимочко, О.П. Єлисєєва, Л.Л. Кобилянська, І.Ф. Тимочко. – Львів, 1998. – С. 3–17.*
6. *Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И. Ермакова, 3-е изд. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.*
7. *Мусієнко М.М. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин / М.М. Мусієнко, Т.В. Паршикова, П.С. Славний – К.: Фотосоціоцентр, 2001. – 200 с.*
8. *Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений / Б.П. Плешков. – М.: Колос, 1968. – 183 с.*
9. *Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. Учебное пособие / О.Г. Полесская – М.: КДУ, 2007. – 140 с.*
10. *Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / Чевари С., Чаба И., Секей Й. // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.*
11. *Россихіна Г.С. Вплив гербіцидних препаратів різних класів на електрофоретичний спектр білків та активність ферментів-антиоксидантів у насінні рослин ZEA MAYS L. / Г.С. Россихіна, В.В. Лашко // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2011. – Вип. 57. – С. 249–254.*
12. *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.*
13. *Россихіна Г.С. Система антиоксидантного захисту коріння кукурудзи в разі адаптації до комбінованої дії гербіцидів та ґрунтової посухи / Г.С. Россихіна, О.М. Вінниченко // Вісник Дніпропетровського університету. Серія – біологія, екологія. – 2005. – №2. – С. 164–168.*
14. *Россихіна Г.С. Фізіолого-біохімічна реакція рослин кукурудзи на комбіновану дію гербіцидів та грунтової посухи / Г.С. Россихіна, В.М. Глубока // Питання біоіндикації та екології. – 2007. – Вип. 12, № 2. – С. 60–66.*
15. *Стороженко В.О. Роль антиоксидантних ферментів у захисті фотосинтетичного апарату від оксидного стресу / В.О. Стороженко, Т.М. Шадчина // Регуляція фотосинтезу і продуктивність рослин: фізіологічні та екологічні аспекти. – К.: Фітосоціоцентр, 2006. – С. 100–130.*

16. *Таран Н.Ю. Вторинний оксидний стрес як елемент загальної адаптивної відповіді рослин на дію несприятливих факторів довкілля / Н.Ю. Таран, О.А. Оканенко, Л.М. Бацманова // Физиология и биохимия культурных растений. – 2004. – Т. 36, №1. – С. 3–14.*
17. *Трач В.В. Супероксиддисмутаза как компонент антиоксидантной системы при абиотических стрессовых воздействиях / В.В. Трач, А.В. Стороженко // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, №4. – С. 291–302.*

ANTIOXIDANT SYSTEM OF MAIZE UNDER HERBICIDE POLLUTION INFLUENCE

A.S. Rossihina-Galicha, V.S. Bilchuck, T.V. Legostajeva, J.O. Shmagajlo

It has been investigated influence of herbicides of different classes on activity of superoxiddismutase, peroxidase, catalase, content of photoproduction in sprout leaves of maize hybrid Dneprovskij 310 MB. It has been established correlation between these indexes in process of ontogenesis. It was being described by correspond equations of regression. The differences in toxicity of herbicide preparations have been revealed. It has been shown the role of peroxidase in adaptation process of plant organisms to herbicide stress.

УДК 581.1:577.1:633.15:632.954
Россихіна Г.С., Більчук В.С., Легостаєва Т.В., Шмагайло Ю.О. Дослідження стану прооксидантно-антиоксидантної системи кукурудзи за дії гербіцидного забруднення // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2013. – Вип. 18, № 1. – С. 83-92.

Досліджено вплив гербіцидів різних класів на активність супероксиддисмутази (СОД), каталази, пероксидази та вміст фотопродукції (за накопиченням малонового діальдегіду) у листках проростків кукурудзи гібриду Дніпровський 310МВ. Установлений взаємозв’язок між цими показниками у процесі онтогенезу, який описується відповідними рівняннями регресії. Виявлені відмінності в токсичності гербіцидних препаратів. Показана роль пероксидази в процесі адаптації рослинних організмів до гербіцидного стресу.
Бібл. 17. Табл. 5.