

ВМІСТ ДЕЯКИХ АНТИОКСИДАНТІВ У ЛИСТКАХ ЯЧМЕНЮ ЯРОГО ЗА ДІЇ ГЕРБІЦИДІВ І РЕГУЛЯТОРА РОСТУ РОСЛИН

В. П. КАРПЕНКО, кандидат сільськогосподарських наук

Наведено результати досліджень з вивчення впливу гербіцидів Гранстар 75 (10; 15; 20 та 25 г/га) і 2,4-ДА 500 (1,0 л/га), внесених окремо і в поєднанні з регулятором росту рослин Емістим С, на вміст у листках ячменю ярого низькомолекулярних антиоксидантів – глутатіону й аскорбату.

Нині доведено, що антиоксидантна система рослин повноцінно функціонує лише завдяки наявності в клітинах специфічних антиоксидантних сполук, до яких відносять низькомолекулярні гідрофільні і ліпофільні органічні речовини з відновлювальними властивостями (глутатіон, аскорбат, жиророзчинні вітаміни А, Е (α -токоферол), убіхінон, біофлавоноїди та ін.) [1].

Як встановлено дослідженнями J. D. Cole [2], основну роль у детоксикації ксенобіотиків у рослинах відіграють такі антиоксиданти як глутатіон і аскорбінова кислота. Так, завдяки нуклеофільній атаці відновленого глутатіону на електрофільні зони ксенобіотиків утворюються нетоксичні гідроксильні кон'югати, які потім легше піддаються метаболічним перетворенням. Зокрема з листків ячменю і гороху, оброблених 2,4-Д ($5-10^{-5}$ М), вченим вдалося виділити фракцію $R_f=0,12$, що відповідає комплексу 2,4-Д–глутатіон [3].

У серії дослідів, виконаних на прикладі гербіцидів ацетохлору, металахлору та ін., була встановлена залежність між нормами внесення гербіцидів та утворенням кон'югатів глутатіону з гербіцидами: зі збільшенням норм препаратів у рослинах зростав вміст глутатіону, разом з тим у стійких до гербіцидів рослин вміст глутатіону був набагато вищим, ніж у чутливих [4–6].

Досить розповсюдженим метаболітом і ключовим антиоксидантом у клітинах рослин є також аскорбінова кислота. Як відновник, аскорбінова кислота бере участь у функціонуванні антиоксидантних систем, що діють у хлоропластах, мітохондріях, пероксисомах, цитозолі й апопласті. Завдяки їй відбувається регенерація α -токоферолу [7].

У науковій літературі показано, що за дії стресів різної природи, у тому числі й гербіцидів, вміст аскорбінової кислоти в рослинах значно збільшується [8]. З огляду на це, є всі підстави вважати, що збільшення вмісту аскорбінової кислоти в рослинах може бути пов'язане з нейтралізацією продуктованих гербіцидами активних форм кисню та вільних радикалів [9].

У цілому ж вивченню значення глутатіону та аскорбінової кислоти у біохімічних процесах захисту рослинної клітини за стресового впливу різноманітних абіотичних чинників у літературі приділяється велика увага [10, 11], однак питання зміни їх вмісту в рослинах за дії гербіцидів у сумішах із регуляторами росту рослин є нині вивченим недостатньо, що потребує проведення подальших всебічних досліджень у даному напрямку.

Методика досліджень. Досліди виконували в лабораторних умовах кафедри біології Уманського НУС у 2008 році. Об'єктом досліджень слугували рослини ячменю ярого (*Hordeum Tourn L.*) виду *Hordeum vulgare L.*, підвиду двохрядного (*Hordeum distichon (L.) Koern.*) сорту Соборний, які вирощували з дотриманням вимог вегетаційного методу [12]. Гербіциди Гранстар 75 (діюча речовина трибенурон-метил 750 г/кг), 2,4-ДА 500 (2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота у формі диметиламінної солі 500 г/л) і регулятор росту рослин Емістим С (екстракт ростових речовин грибів-ендофітів *Cylindrocarpum magnesianum* IMBF – 10004 у 60% етанолі) вносили, починаючи від появи в рослин третього листка, за схемою: обробка водою (контроль); Емістим С 10 мл/га; Гранстар 75 у нормах 10; 15; 20 і 25 г/га + 2,4-ДА 500 у нормі 1,0 л/га окремо і в поєднанні з Емістимом С 10 мл/га.

Норми внесення препаратів розраховували на відповідну площу з урахуванням норми витрати води 300 л/га. Повторність досліду – чотириразова. Аналізи в дослідах виконували на третій і десятий день після внесення препаратів.

Вміст глутатіону в листках ячменю ярого визначали за реакцією взаємодії із ДТНБК (5,5-дітіо-біс-2-нітробензойною кислотою) та утворенням забарвленого в жовтий колір 2-нітро-5-тіобензоата, збільшення концентрації якого відмічали при 412 нм [13], враховуючи модифікації для рослинних об'єктів [14]. Вміст аскорбінової кислоти визначали спектрофотометрично при 530 нм за реакцією з 2,6 – дихлорфеноліндофенолом [15].

Статистичну обробку даних виконували за методом дисперсійного аналізу [16].

Результати досліджень. У результаті проведених експериментів встановлено, що вміст глутатіону в листках ячменю ярого в варіантах досліду змінювався залежно від норми внесення у бакових сумішах з 2,4-ДА 500 гербіциду Гранстар 75 та поєднання застосування гербіцидів із регулятором росту рослин Емістим С (рис. 1). Так, на третю добу після застосування Гранстара 75 у нормах 10; 15; 20 і 25 г/га сумісно з 2,4-ДА 500 вміст глутатіону в варіантах досліду перевищував контроль на 50; 100; 82 і 52% відповідно, водночас за внесення цих же сумішей гербіцидів із Емістимом С – на 82; 148; 115 і 81%.

З одержаних даних видно, що в варіантах досліду, де гербіцид Гранстар 75 і 2,4-ДА 500 вносили без регулятора росту рослин, вміст глутатіону в листках ячменю ярого був значно нижчим, ніж у варіантах досліду з сумісним внесенням гербіцидів і рістрегулятора. Вочевидь, це може свідчити про більш активну витрату даного антиоксиданту в реакціях, направлених як на детоксикацію ксенобіотика, так і в реакціях ліквідації активних форм кисню, що індукуються в рослинах за діяльності комплексу Сyt P₄₅₀ [7]. Разом з тим значне зростання вмісту глутатіону в варіантах досліду Гранстар 75 + 2,4-ДА 500 + Емістим С може бути пов'язано зі стимулюючим впливом регулятора росту рослин на синтез даного антиоксиданту та з меншою його витратою в реакціях ліквідації активних форм кисню, генерування яких за сумісної дії гербіцидів і рістрегулятора знижується [17].

На десяту добу після внесення препаратів вміст глутатіону в листках ячменю ярого значно збільшувався у порівнянні з визначеннями, виконаними на третю добу, але найбільшим вміст даного антиоксиданту був у варіантах Гранстар 75 10; 15; 20 і 25 г/га + 2,4-ДА 500 1,0 л/га + Емістим С, де перевищення контролю складало 4,7; 8,5; 6,3 і 3,1 мкМоль/г сирої маси відповідно та HIP_{01} 0,4. Очевидно, це пов'язано зі стабілізацією детоксикаційних процесів у рослинному організмі, завдяки чому простежується подальший стимулюючий вплив рістрегулятора на синтез життєво важливих сполук, у тому числі й глутатіону.

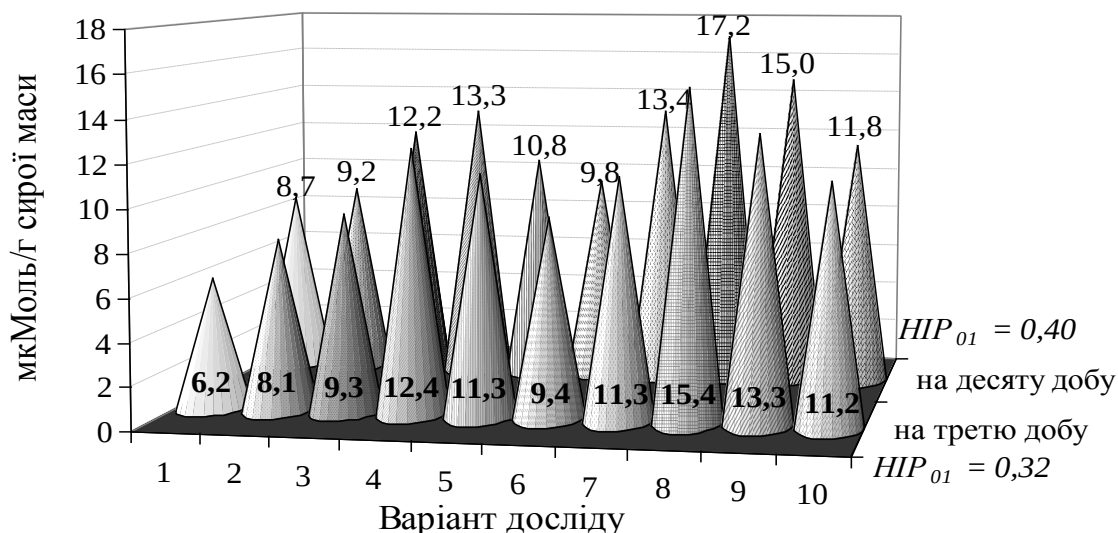


Рис. 1. Вплив різних норм гербіциду Гранстар 75, внесених у бакових сумішах із 2,4-ДА 500 роздільно і в поєднанні з Емістимом С, на вміст у листках ячменю ярого глутатіону :

1. Обробка водою (контроль); 2. Емістим С; 3. Гранстар 75 10 г/га+2,4-ДА 500 1,0 л/га; 4. Гранстар 75 15 г/га+2,4-ДА 500 1,0 л/га; 5. Гранстар 75 20 г/га+2,4-ДА 500 1,0 л/га; 6. Гранстар 75 25 г/га+2,4-ДА 500 1,0 л/га; 7. Гранстар 75 10 г/га+2,4-ДА 500 1,0 л/га+Емістим С; 8. Гранстар 75 15 г/га+2,4-ДА 500 1,0 л/га+Емістим С; 9. Гранстар 75 20 г/га+2,4-ДА 500 1,0 л/га+Емістим С; 10. Гранстар 75 25 г/га+2,4-ДА 500 1,0 л/га+Емістим С.

Різною була дія досліджуваних бакових сумішей препаратів на вміст у листках ячменю ярого аскорбінової кислоти (рис. 2). Так, за дії гербіциду Гранстар 75 сумісно з 2,4-ДА 500 встановлено, що зі збільшенням норм використання Гранстару від 10 г/га до 25 г/га вміст аскорбінової кислоти в листках ячменю в порівнянні до контролю знижувався і складав 117; 109; 96 і 91% відповідно.

У варіантах досліджу, де Гранстар 75 сумісно з 2,4-ДА 500 вносили в тих же нормах, але разом з Емістимом С, вміст аскорбінової кислоти був вищим, але з наростанням норм внесення гербіциду Гранстар 75 до 25 г/га також знижувався і складав у порівнянні до контролю 125; 115; 98 і 93% відповідно. Ймовірно, це є наслідком інтенсивного використання антиоксиданту в реакціях знешкодження вільних радикалів, на що вказують й інші вчені [1].

На десяту добу вміст аскорбінової кислоти в листках ячменю ярого значно збільшувався і суттєво перевищував контрольний показник як у варіантах із внесенням гербіцидів Гранстар 75 і 2,4-ДА 500 без регулятора росту рослин, так і в варіантах, де гербіциди вносили в поєднанні з Емістимом С.

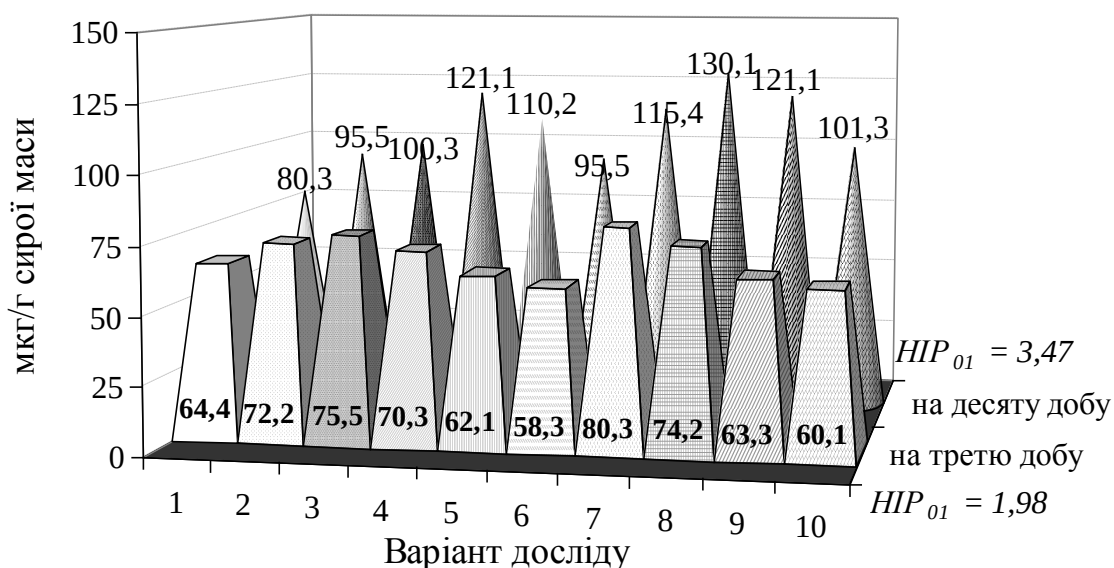


Рис. 2. Вплив різних норм гербіциду Гранстар 75, внесених у бакових сумішах із 2,4-ДА 500 роздільно і в поєднанні з Емістимом С, на вміст у листках ячменю ярого аскорбінової кислоти.

Примітка. Назви варіантів як у рис. 1.*

Разом з тим більш високий вміст аскорбінової кислоти в варіантах дослідження було відмічено за сумісної дії Гранстара 75 у нормах 10; 15; 20 і 25 г/га з 2,4-ДА 500 – 1,0л/га та з Емістимом С, зокрема перевищення контролю в цих варіантах дослідження складало 35; 50; 41 і 21 мкг/г сирової маси відповідно, а перевищення до тих же варіантів, де регулятор росту з гербіцидами не застосовували, становило відповідно 15; 9; 11 і 6 мкг/г сирової маси за HIP_{01} 3,47. Очевидно, що за високої концентрації ксенобіотики синтез даного антиоксиданту в рослинах дещо пригнічується, водночас не виключеною на десяту добу внесення препаратів залишається більша витрата аскорбінової кислоти на процеси детоксикації хімічних речовин, які активно проходять і в подальшому.

Висновки. 1. За сумісного використання гербіцидів Гранстар 75, 2,4-ДА 500 і регулятора росту рослин Емістим С вміст низькомолекулярних антиоксидантів – глутатіону і аскорбату у листках ячменю ярого зростає, але при цьому простежується залежність їх вмісту в рослинах від концентрації ксенобіотики.

2. З наростанням у сумішах з 2,4-ДА 500 норм внесення гербіциду Гранстар 75 до 25 г/га вміст у листках ячменю ярого антиоксидантів знижується, особливо аскорбінової кислоти, що є свідченням більш активної її витрати в реакціях, направлених на детоксикацію у рослинах продуктів метаболізму гербіцидів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Полесская О. Г. Растительная клетка и активные формы кислорода / Полесская О. Г. – М. : КДУ, 2007. – 140 с.
2. Cole J. D. Detoxification and activation of agrochemicals in plants / J. D. Cole // *Pestic Sci.* – 1994. – 42. – P. 209 – 222.
3. Пронина Н. Б. Эндогенные биохимические системы растений – участники процессов геммобилизации гербицидов / Н. Б. Пронина // *Доклады ТСХА.* – 2002. – Вып. 274. – С. 562–564.
4. Zama P. Effects of SGA – 92194 on the chemical reactivity of metalachlor with glutathione and metabolism of metalachlor in grain sorghum / P. Zama, K. K. Hatzios // *Weed Sc.* – 1986. – 34. – № 6. – P. 834–841.
5. Breaux E. J. Initial metabolism of acetochlor in tolerant and susceptible seedlings / E. J. Breaux // *Weed Sc.* – 1987. – 35. – № 4. – P. 463–468.
6. Gulner G. Enhanced tolerance of transgenic poplar plants over-expressing γ -glutamyl-cysteine synthetase towards chloroacetanilide herbicides / G. Gulner, T. Komives // *J. Exp. Bot.* – 2001. – 52. – 358. – P. 971–979.
7. Foyer C. H. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants / C. H. Foyer, P. Descourvieres, R. J. Kunert // *Plant Cell Environ.* – 1994. – V. 17. – № 2. – P. 507–523.
8. Изменение содержания низкомолекулярных антиоксидантов в зеленых листьях ячменя под влиянием низкой положительной температуры / М. С. Радюк, И. Н. Доманская, Р. А. Щербаков [и др.] // *Мат. V Межд. науч. конф. [«Регуляция роста, развития и продуктивности растений»]*, (Минск, 28 – 30 ноября 2007 г.). – Минск: Право и экономика, 2007. – С. 166.
9. Conklin P. L. Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogenes and the onset of senescence / P. L. Conklin, C. Barth // *Plant, Cell and Env.* – 2004. – V. 27. – P. 959–970.
10. Smirnoff N. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule / N. Smirnoff // *Current Opinion in Plant Biol.* – 2000. – V. 3. – P. 229–235.
11. Гришко В. М. Функціонування глутатіонзалежної антиоксидантної системи рослин при дії фтористого водню / В. М. Гришко, Д. В. Сищиков // *Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть : зб. навч. праць.* – К., 2001. – Т. 2. – С. 37–40.
12. Журбицкий З.И. Теория и практика вегетационного метода / Журбицкий З. И. – М.: Наука, 1968. – 268 с.
13. Beutler E. Red cell metabolism a manual of biochemical methods / E. Beutler. – Grune & Station, Orlando, 1990. – P. 131 – 134.
14. Гришко В. Н. Метод определения восстановленной формы глутатиона в вегетативных органах растений / В. Н. Гришко, Д. В. Сыщиков // *Укр. біохім. журнал.* – 2002. – Т. 74. – № 46. – С. 123 – 124.
15. Чупахина Г. Н. Физиологические и биохимические методы анализа растений / Чупахина Г. Н. – Калининград, 2000. – С. 7 – 9.
16. Комп'ютерні методи в сільському господарстві та біології / [Царенко О. М., Злобін Ю. А., Скляр В. Г. та ін.]. – Суми: Університетська книга, 2000. – 203 с.

17. Карпенко В. П. Інтенсивність процесів ліпопероксидації та стан антиоксидантних систем захисту ячменю ярого за дії гербіциду Гранстар 75 і регулятора росту рослин Емістим С / В. П. Карпенко // Зб. наук. праць Уманського ДАУ. – Умань, 2009. – Вип. 72. – С. 30-39.

Карпенко В.П. Содержание некоторых антиоксидантов в листьях ячменя ярового при действии гербицидов и регулятора роста растений.

В результате проведенных исследований установлено, что при совместном использовании гербицидов Гранстар 75 и 2,4-ДА 500 с регулятором роста растений Эмистимом С, в сравнении с вариантами опыта, где гербициды вносили самостоятельно, в растениях ячменя ярового значительно увеличивается содержание антиоксидантных соединений – глутатиона и аскорбиновой кислоты, что свидетельствует о стабилизации прохождения в растениях детоксикационных процессов.

Ключевые слова: ячмень яровой, гербициды, регулятор роста растений, глутатион, аскорбат.