

АКТИВНІСТЬ ОКРЕМИХ ФЕРМЕНТІВ КЛАСУ ОКСИДОРЕДУКТАЗ У РОСЛИНАХ ЯЧМЕНЮ ЯРОГО ЗА ДІЇ БАКОВИХ СУМІШЕЙ ГЕРБІЦИДІВ І РЕГУЛЯТОРА РОСТУ РОСЛИН

В.П.КАРПЕНКО, кандидат сільськогосподарських наук

Наведено результати досліджень з вивчення впливу бакових сумішей гербіцидів Гранстар 75 і 2,4-ДА 500, внесених роздільно й разом із регулятором росту рослин Емістим С, на активність ферментів класу оксидоредуктаз – каталази, пероксидази, аскорбатоксидази і поліфенолоксидази.

Ферменти класу оксидоредуктаз відіграють важливу роль в антиоксидантних системах захисту рослинних організмів за дії різного роду абіотичних чинників, у тому числі й ксенобіотиків. Першочергова роль серед них відводиться таким ферментам, як каталаза та пероксидаза (аскорбатпероксидаза і гваяколова пероксидаза). Ці ферменти нейтралізують негативну дію на клітини рослин пероксиду водню: каталаза – розкладає пероксид до водню й кисню; пероксидази – відновлюють пероксид до води, використовуючи в якості донорів електронів різні субстрати. Дуже часто ферментативну активність, зокрема пероксидазну, використовують в якості індикатора стресового стану рослин. Тому дослідженню активності пероксидази та стану інших антиоксидантних ферментів у рослинах за дії фізіологічно активних речовин (у тому числі й гербіцидів) у літературі присвячено ряд робіт [1–3]. У більшості із них вчені констатують підвищення активності основних ферментів класу оксидоредуктаз за дії різних видів препаратів. Так, підвищений рівень пероксидаз було відмічено у семи сортів ячменю ярого, обробленого Трефланом (1,0 мг/л), що в 1,4 і 2,5 рази перевищувало контрольні варіанти [1]. Про важливу роль ферментних систем рослин та зміну їх активності за дії різних видів гербіцидів повідомляють у своїх працях й інші вчені [3]. Вони також припускають [4], що зміни балансу ферментних систем за дії гербіцидів, зокрема збільшення гідроксильюючої активності пероксидази в тканинах культурних рослин, можуть свідчити про участь даного фермента в детоксикації гербіцидів.

Значну роль в стимулюванні антиоксидантної системи рослинного організму відіграють екзогенні регулятори росту рослин (РРР). Так, обробка рослин сої Агрозимуліном зумовлює зростання вмісту фенольних сполук на 52% та, водночас, знижує активність ферменту поліфенолоксидази [5]. За використання Агроемістиму-екстра на помідорах, активність пероксидази може зростати в середньому у три рази [6]. Менш вивченою на ферменти залишається дія сумішей гербіцидів і РРР, однак, літературні дані останніх років свідчать про зростання їхньої активності за обробки рослин такими сумішами [7, 8].

Зважаючи на це, можна констатувати, що дослідження функціонування в рослинах детоксикаційних та антиоксидантних систем за сумісного використання гербіцидів і РРР має важливе теоретичне і практичне значення, розкриття якого дасть можливість встановити сутність і направленість метаболічних процесів у рослинах.

Методика досліджень. Досліди з вивчення дії гербіцидів різних хімічних класів та їх сумішей із РРР виконували в польових і лабораторних умовах кафедри біології Уманського НУС впродовж 1999 – 2009 рр. Зокрема, у 2001 та 2002 рр. проводились дослідження активності в рослинах ячменю ярого (*Hordeum distichum*) окремих ферментів класу оксидоредуктаз за дії бакових сумішей гербіцидів Гранстар 75 (сульфонілсечовини) і 2,4-ДА 500 (феноксикарбоксилові кислоти), внесених роздільно й разом із регулятором росту рослин Емістим С.

Гранстар 75, в.г. (діюча речовина – трибенурон-метил 750 г/кг), 2,4-ДА 500, в.р. (2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота у формі диметиламіної солі 500 г/л), Емістим С, в.р. (композиція біологічно активних речовин, одержана шляхом культивування грибів-ендофітів, зокрема *Cylindocarpon magnesianum* (IMBF -10004), на синтетичних живильних середовищах) [9, 10].

Закладання дослідів виконували в триразовому повторенні рендомізованим методом згідно схеми: без застосування препаратів (контроль I); ручні прополювання одночасно з внесенням препаратів (контроль II); ручні прополювання впродовж вегетаційного періоду (контроль III); Емістим С 10мл/га; бакові суміші Гранстару 75 у нормах 10; 15; 20 і 25 г/га з 2,4-ДА 500 у нормі 1,0 л/га роздільно й разом із Емістимом С. Внесення препаратів виконували у фазу повного кушіння ячменю ярого з витратою робочого розчину 300 л/га.

Аналізи виконували в лабораторних умовах у відібраних зразках рослин польових дослідів на початку виходу рослин у трубку. Активність ферментів – каталази (КФ. 1.11.1.6), пероксидази (КФ. 1.11.1.7), аскорбатоксидази (КФ. 1.10.3.3), поліфенолоксидази (КФ. 1.14.18.1) визначали за методикою, викладеною Х.М.Починком [11].

Результати досліджень. Як показали одержані експериментальні дані, за використання у посівах ячменю ярого бакових сумішей сульфонілсечовинного гербіциду Гранстар 75 із гербіцидом феноксикарбоксилових кислот 2,4-ДА 500, активність всіх досліджуваних ферментів значно зростає, що демонструє загальне підвищення рівня обмінних процесів у рослинах (табл. 1). Так, за дії бакових сумішей гербіциду Гранстар 75 у нормах 10; 15; 20 і 25 г/га сумісно з 2,4-ДА 500 у нормі 1,0 л/га активність каталази в листках ячменю ярого на початку виходу в трубку в порівнянні до контролю I підвищувалась відповідно на 13,4; 21,2; 23,5; 7,7 мкМоль розкладеного H_2O_2 , пероксидази – на 18,2; 25,0; 33,1 і 27,5 мкМоль окисленого гваяколу відповідно; при застосуванні тих же бакових сумішей гербіцидів, але разом із Емістимом С активність каталази на 20,1; 26,6; 28,1 і 11,2 мкМоль розкладеного H_2O_2 (HIP_{05} 4,6), пероксидази – на 20,3; 51,2; 38,6 і 28,4 мкМоль окисленого гваяколу (HIP_{05} 2,8) перевищувала

відповідні показники у варіантах, де бакові суміші гербіцидів вносились без регулятора росту рослин.

1. Активність ферментів класу оксидоредуктаз у листках ячменю ярого за дії бакових сумішей гербіцидів Гранстар 75 і 2,4-ДА 500, внесених роздільно й разом із Емістимом С, 2001р.

Варіант досліджу	Каталаза, мкМоль розкладеного H ₂ O ₂ /г сирої маси за 1 хв.	Пероксидаза, мкМоль окисленого гваяколу/г сирої маси за 1 хв.	Аскорба- токсидаза, мкМоль окисленої аскорбінової кислоти/г сирої маси за 1 хв.	Поліфено- оксидаза, мкМоль окисленої аскорбінової кислоти/г сирої маси за 1 хв.
Без застосування препаратів (контроль I)	72,1	90,2	15,0	11,1
Ручні прополювання одночасно з внесенням препаратів (контроль II)	75,3	100,8	15,2	12,0
Ручні прополювання впродовж вегетаційного періоду (контроль III)	80,2	110,3	14,8	12,8
Емістим С	78,8	105,5	15,3	13,0
Гранстар 75 10 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га	85,5	108,4	15,7	12,9
Гранстар 75 15 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га	93,3	115,2	18,8	13,6
Гранстар 75 20 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га	95,6	123,3	19,3	14,5
Гранстар 75 25 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га	79,8	117,7	19,7	14,1
Гранстар 75 10 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га + Емістим С	92,2	110,5	16,1	13,5
Гранстар 75 15 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га + Емістим С	98,7	121,4	21,1	14,7
Гранстар 75 20 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га + Емістим С	100,2	128,8	21,8	15,5
Гранстар 75 25 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га + Емістим С	83,3	118,6	21,0	15,0
НІР ₀₅	4,6	2,8	0,9	0,7

З одержаних даних видно, що поєднання застосування бакових сумішей гербіцидів Гранстар 75 і 2,4-ДА 500 з регулятором росту рослин Емістим С зумовлює більш суттєве підвищення активності каталази і пероксидази, що, очевидно, є результатом зростання інтенсивності детоксикаційних процесів у

рослинному організмі, пов'язаних із ліквідацією шкідливого для рослин продукту метаболізму (H_2O_2), індукованого дією препаратів. Однак, слід відмітити, що за норми внесення у баковій суміші гербіциду Гранстар 75 25 г/га активність ферментів, у порівнянні з попередніми нормами, дещо знижувалась. Це може свідчити про надходження в рослини ячменю ярого більш високої концентрації ксенобіотиків, за якої активність ферментів дещо пригнічується.

Висока активність у дослідях була відмічена у фермента аскорбатоксидази, особливо у варіантах, де бакові суміші гербіцидів Гранстару 75 у нормах 10; 15; 20 і 25 г/га з 2,4-ДА 500 у нормі 1,0 л/га вносили разом із Емістимом С, зокрема, у відношенні до контролю I активність ферменту зростала в 1,1; 1,4; 1,5 і 1,4 рази, що, можливо, є наслідком адаптації рослин до стресу, одним із механізмів якої є реакції перетворення аскорбінової кислоти.

Високу активність проявляв і фермент поліфенолоксидаза. Так, за використання бакових сумішей гербіцидів Гранстар 75 у нормах 10 – 25 г/га сумісно з 2,4-ДА 500 у нормі 1,0 л/га активність поліфенолоксидази в порівнянні до контролю I збільшувалась в середньому в 1,2 – 1,3 рази, а за використання тих же норм бакових сумішей сумісно з РРР – у 1,2 – 1,4 рази. Підвищення активності поліфенолоксидази є наслідком процесів розпаду фенольних сполук, синтез яких можливий у рослинах за дії сульфонілсечовинних препаратів (зокрема Гранстару 75)[12].

Визначення активності ферментів класу оксидоредуктаз у листках ячменю ярого за дії бакових сумішей гербіциду Гранстар 75 і 2,4-ДА 500, внесених роздільно й разом із Емістимом С у 2002 році, показало аналогічну залежність дії препаратів. Так, за використання гербіциду Гранстар 75 (10 – 25 г/га) з 2,4-ДА 500 (1,0 л/га) як роздільно, так і в комплексі з Емістимом С, активність каталази, пероксидази і поліфенолоксидази значно перевищувала відповідні показники в контролях I, II і III (табл. 2). Особливо відчутним це перевищення було у варіантах дослідів, де бакові суміші вносились сумісно з Емістимом С. Однак, слід зауважити, що в порівнянні з 2001 р. показники активності ферментів були дещо нижчими, що може свідчити про залежність ферментативних процесів у рослинах не тільки від дії досліджуваних препаратів, а й від факторів зовнішнього природного середовища, зокрема, у 2002 році на початку фази виходу рослин ячменю в трубку прослідковувалась нестача вологи.

Підвищення активності основних антиоксидантних ферментів класу оксидоредуктаз, зокрема каталази і пероксидази, було відмічено нами також у варіантах дослідів з ручними прополюваннями одночасно з внесенням препаратів (контроль II) та з ручними прополюваннями впродовж вегетаційного періоду (контроль III). Очевидно, зростання активності ферментів у цих варіантах дослідів, є наслідком покращення умов росту і розвитку рослин ячменю ярого, які створюються за часткової або повної відсутності конкуренції з боку бур'янів за світло, вологу й поживні речовини, що в цілому підвищує активність обмінних процесів, невід'ємною складовою яких є ферменти.

2. Активність ферментів класу оксидоредуктаз у листках ячменю ярого за дії бакових сумішей гербіцидів Гранстар 75 і 2,4–ДА 500, внесених роздільно й разом із Емістимом С, 2002р.

Варіант досліджу	Каталаза, мкМоль розкладеного H ₂ O ₂ /г сирої маси за 1 хв.	Пероксидаза, мкМоль окисленого гваяколу/г сирої маси за 1 хв.	Аскорба- токсидаза, мкМоль окисленої аскорбінової кислоти/г сирої маси за 1 хв.	Поліфено- локсидаза, мкМоль окисленої аскорбінової кислоти/г сирої маси за 1 хв.
Без застосування препаратів (контроль I)	53,3	61,1	8,3	9,3
Ручні прополювання одночасно з внесенням препаратів (контроль II)	55,2	65,5	8,7	10,2
Ручні прополювання впродовж вегетаційного періоду (контроль III)	60,1	70,3	8,0	11,4
Емістим С	58,3	68,8	8,4	11,0
Гранстар 75 10 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га	63,3	70,7	9,1	11,1
Гранстар 75 15 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га	68,7	81,3	10,2	12,3
Гранстар 75 20 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га	73,3	92,7	11,3	14,3
Гранстар 75 25 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га	65,5	83,3	9,8	13,2
Гранстар 75 10 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га + Емістим С	69,7	81,2	10,4	12,7
Гранстар 75 15 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га + Емістим С	74,4	95,7	10,9	13,4
Гранстар 75 20 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га + Емістим С	81,2	101,3	12,0	16,7
Гранстар 75 25 г/га + 2,4- ДА500 1,0 л/га + Емістим С	76,6	98,8	8,7	14,8
HIP ₀₅	2,2	2,0	0,7	0,5

У той же час підвищення активності каталази і пероксидази у варіантах із самостійним внесенням Емістиму С може свідчити про пряму дію цього біологічного препарату на стан ферментативних систем, які активізуються у результаті інтенсифікації в рослинах обмінних процесів. Подібне припущення висловлюють й інші вчені[13].

Висновки. 1. Поєднання застосування у бакових сумішах гербіциду класу сульфонілсечовин Гранстару 75 і гербіциду класу феноксикарбоксилових кислот 2,4-ДА 500 із біологічним препаратом Емістим С зумовлює значне зростання активності ферментів класу оксидоредуктаз – каталази, пероксидази, поліфенолоксидази і аскорбатоксидази, що може свідчити про підвищення рівня детоксикаційних процесів у рослинному організмі, направлених на ліквідацію шкідливих для рослини продуктів метаболізму, індукованих впливом гербіцидів.

2. Активність досліджуваних ферментів знаходиться в залежності від норми внесення у бакових сумішах гербіциду Гранстар 75 та поєднання застосування бакових сумішей препаратів із РРР Емістим С: активність ферментів каталази і пероксидази із наростанням у складі бакової суміші норми внесення гербіциду Гранстар 75 до максимальної (25 г/га) дещо знижується, але в порівнянні з контролями залишається високою; активність аскорбатоксидази і поліфенолоксидази із наростанням норми внесення гербіциду Гранстар 75 до максимальної, як за роздільного, так і за сумісного застосування бакових сумішей гербіцидів із Емістимом С, значно підвищується, що є наслідком активної участі цих ферментів в адаптаційних процесах до умов стресу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Семенчик Е.А. Характеристики зависимой от сорта ответной реакции на стресс у растений ячменя / Е.А.Семенчик // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології : мат І Міжн. наук. конф. студентів, аспірантів та молодих учених, 23 – 26 лютого 2009 р., Донецьк. – Донецьк : Вид-во «Вебер», 2009. – С. 310 – 311.
2. Пронина Н.Б. Физиолого-биохимические особенности ответных реакций растений на действие гербицидов / Н.Б.Пронина // Применение пестицидов и их воздействие на сельскохозяйственные культуры и сорные растения при интенсивной химизации сельского хозяйства. – М., 1986. – С. 49 – 59.
3. Татарінова В.І. Фізико-хімічний метод проведення скринінгу стійкості культурних рослин та бур'янів до гербіцидів класу сульфонілсечовин в модельних системах / В.І.Татарінова, Б.Д.Чіванов // Зб. наук. праць Уманської СГА. – К., 1997. – С. 251 – 253.
4. Ладонин В.Ф. Особенности метаболизма сорных растений при совместном действии удобрений и гербицидов / В.Ф.Ладонин, Н.Б.Пронина, Е.И.Маркс // Актуальные проблемы современной гербологии : тез. докл. конф., 12.04.1990 г., Ленинград. – Л., 1990. – С. 90.
5. Рикун Л. Вплив агростимуліну на нагромадження фенольних сполук та активність поліфенолоксидази у рослин сої / Л.Рикун, Г.Закалик, О.Терек // Онтогенез рослин у природному та трансформованому середовищі. Фізіолого – біохімічні та екологічні аспекти : тез. II Міжн. конф., 18 – 21 серпня 2004 р., Львів. – Львів, 2004. – С. 117.
6. Гаврись І.Л. Вплив регуляторів росту на активність окисно-відновних ферментів в листках помідора / І.Л.Гаврись // Мат. тез Міжн. наук.-практ.

- конф. [«Інноваційні агротехнології в умовах глобального потепління»], (Мелітополь–Кирилівка, 4 – 6 червня 2009 р.) / Мін. АПК, Таврійський ДАТУ. – Мелітополь – Кирилівка, 2009. – С. 26.
7. Притуляк Р.М. Біологічні особливості застосування гербіцидів і регулятора росту рослин на посівах тритикале озимого в умовах Лісостепу України : автореферат дис. на здоб. наук. ступеня канд. с-г. наук : спец. 03.00.12 «Фізіологія рослин». – Умань, 2009. – 21 с.
 8. Грицаєнко З.М. Вплив гербіциду Калібру 75 і біологічно активних речовин на активність антиоксидантних ферментних систем ячменю ярого / З.М.Грицаєнко, В.П.Карпенко // Екологія – шляхи гармонізації відносин природи та суспільства : зб. тез Міжн. наук. конф., 23 – 24 квітня 2009р., Умань. – Умань, 2009. – С. 12 – 14.
 9. Перелік пестицидів і агрохімікатів дозволених до використання в Україні. – К. : Юнівест-Медіа, 2008. – 447 с.
 10. Пономаренко С. П. Створення та впровадження нових регуляторів росту рослин в агропромисловому комплексі України / С.П. Пономаренко // Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. – К., 2001. – Т.1. – С. 375-378.
 11. Починок Х. Н. Методы биохимического анализа растений / Починок Х.Н. – К. : Наукова думка, 1976. – С. 165 – 178.
 12. Макеева-Гурьянова Л. Т. Сульфонилмочевины – новые перспективные гербициды / Макеева-Гурьянова Л. Т., Спиридонов Ю. Я., Шестаков В. Г. – М.,1989. – 49 с.
 13. Влияние препарата рифтал на морфофизиологические параметры проростков пшеницы при нормальном и дефицитном минеральном питании / С.Р. Рахматуллина, В.В.Федяев, Р.Ф.Талипов [и др.] // Агрохимия. – 2007. – № 5. – С. 42 – 48.

Карпенко В.П. Активность отдельных ферментов класса оксидоредуктаз в растениях ярого ячменя при действии баковых смесей гербицидов и регулятора роста растений.

В результате проведенных исследований установлено, что при действии баковых смесей гербицидов Гранстар 75 и 2,4-ДА 500 совместно с регулятором роста растений Эмистим С активность ферментов класса оксидоредуктаз (каталазы, пероксидазы, аскорбатоксидазы и полифенолоксидазы) в растениях ярого ячменя существенно увеличивается, что свидетельствует о повышении уровня детоксикационных процессов в растительном организме, направленных на уменьшение вредных для растений продуктов метаболизма, индуцированных действием гербицидов.

Ключевые слова: гербициды, баковая смесь, регулятор роста растений, каталаза, пероксидаза, аскорбатоксидаза, полифенолоксидаза.