

АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У РОСЛИНАХ ПШЕНИЦІ ПОЛБИ ЗВИЧАЙНОЇ ЗА ДІЇ ГЕРБІЦИДУ ПРИМА ФОРТЕ 195 І РЕГУЛЯТОРА РОСТУ РОСЛИН ВУКСАЛ БІО ВИТА

В. П. Карпенко, доктор сільськогосподарських наук, професор

С. В. Павлишин, аспірант

Уманський національний університет садівництва

У статті представлено результати досліджень впливу різних норм гербіциду Пріма Форте 195 і його сумішей з регулятором росту рослин (PPP) Вуксал БІО Віта на активність основних антиоксидантних ферментів (каталази, пероксидази, поліфенолоксидази) у рослинах пшениці полби звичайної. Встановлено, що за дії гербіциду Пріма Форте 195 у нормах 0,5; 0,6 і 0,7 л/га як окремо, так і в сумішах з PPP Вуксал БІО Віта 1,0 л/га у рослинах пшениці полби звичайної активність досліджуваних ферментів значно зростала, що може свідчити про активізацію проходження обмінних процесів, направлених на детоксикацію продуктів метаболізму, утворених за дії ксенобіотика.

Ключові слова: антиоксидантні ферменти, гербіцид, регулятор росту рослин, пшениця полба звичайна.

Постановка проблеми. Важливе значення у зниженні негативного впливу гербіцидів на культурні рослини відіграють оксидоредуктази – група ферментів, які знешкоджують надлишок оксидних радикалів, утворених внаслідок стресових реакцій, у відповідь на потрапляння ксенобіотика. Серед цих ферментів найважливішими є каталаза, пероксидаза та поліфенолоксидаза [1].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. У процесі вегетації сільськогосподарські культури піддаються негативному впливу численних факторів навколишнього середовища, у тому числі й ксенобіотиків, за дії яких у клітинах рослин індукується окиснювальний стрес. Його наслідком може бути некроз тканин, порушення дихання і фотосинтезу, зниження швидкості метаболічних реакцій [2 – 11]. Серед первинних реакцій рослинної клітини на дію низки ксенобіотиків, у тому числі й гербіцидів, є продукування активних форм кисню (АФК) [12]. Така форма АФК як H_2O_2 першочергово знешкоджується у клітинах ферментами каталазою і пероксидазою: каталаза – розкладає пероксид до водню та кисню; пероксидази – відновлюють пероксид до води, використовуючи в якості донорів електронів різні субстрати. Ферментативну активність, зокрема пероксидазу, нерідко використовують як індикатор стресового стану рослин [13]. Важливе значення в антиоксидантному статусі рослин відіграє такий фермент, як поліфенолоксидаза, який за

стресових умов каталізує механізми утворення захисних бар'єрів механічної або хімічної природи [14].

Мета статті – з'ясувати дію різних норм гербіциду Пріма Форте 195, внесених окремо і в бакових сумішах з регулятором росту рослин (PPP) Вуксал БІО Віта по фоні передпосівної обробки насіння цим же PPP і без нього, на активність основних ферментів класу оксидоредуктаз (каталази, пероксидази, поліфенолоксидази).

Методика досліджень. Предметом дослідження слугували рослини пшениці полби звичайної (*Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl.) сорту Голіковська, гербіцид Пріма Форте 195, с.е. (діючі речовини – флорасулам 5 г/л, амінопіралід 10 г/л, 2-етилгексилловий ефір 2,4-Д 180 г/л), регулятор росту рослин (PPP) Вуксал БІО Віта (діюча речовина – витяжка з морських водоростей *Ascophyllum nodosum*, азот (N) – 52 г/л, марганець (Mn) – 38 г/л, сірка (S) – 29 г/л, залізо (Fe) – 6,4 г/л, цинк (Zn) – 6,4 г/л) [15; 16].

Польові досліди виконували у триразовому повторенні упродовж 2017–2018 рр. в умовах сівзміни кафедри мікробіології, біохімії і фізіології рослин Уманського національного університету садівництва за схемою: без застосування препаратів (контроль I); ручні прополювання упродовж вегетації (контроль II); Пріма Форте 195 у нормах 0,5; 0,6 та 0,7 л/га роздільно і сумісно з Вуксалом БІО Віта у нормі 1,0 л/га по фоні передпосівної обробки насіння

Вуксалом БІО Vita 1,0 л/т і без фону. Детальну схему досліду представлено в таблицях. Внесення препаратів виконували у фазу повного куціння пшениці з витратою робочого розчину 200 л/га. Аналізи ферментативної активності виконували в лабораторних умовах у відібраних зразках рослин польових дослідів у фазі виходу рослин у трубку. Активність каталази (КФ. 1.11.1.6), пероксидази (КФ. 1.11.1.7) і поліфенолоксидази (КФ. 1.14.18.1) визначали за методикою, викладеною Х. М. Починком [17], зокрема активність каталази – за різницею результатів контрольного досліду і досліду із зразком (за кількістю розкладеного перекису водню шляхом титрування тіосульфатом натрію); пероксидази – спектрофотометричним методом за довжини

хвилі 440 нм; поліфенолоксидази – за залишком аскорбінової кислоти шляхом титрування 0,01 н. розчином йодату калію в присутності 0,5 % розчину крохмалю до появи стійкого синього забарвлення. Статистичний аналіз одержаних результатів досліджень проводили методом дисперсійного аналізу [18] з використанням Microsoft Office Excel.

Основні результати дослідження. Одержані експериментальні дані засвідчили значну залежність активності основних антиоксидантних ферментів у рослинах пшениці полби звичайної від норм гербіциду Пріма Форте 195, внесених окремо і в сумішах з РРР Вуксал БІО Vita по фону обробки цим же РРР перед сівбою насіння і без нього (табл. 1).

Таблиця 1

Активність антиоксидантних ферментів у листках пшениці полби звичайної за дії гербіциду Пріма Форте 195 і РРР Вуксал БІО Vita (2017 р.)

Варіант досліду	Каталаза, мкМоль розкладеного H ₂ O ₂ /г сирової речовини за 1 хв.	Пероксидаза, мкМоль окисненого гваяколу/г сирової речовини за 1 хв.	Поліфенолоксидаза, мкМоль окисненої аскорбінової кислоти/г сирової речовини за 1 хв.
Без застосування препаратів (контроль I)	74,1	89,1	17,5
Ручні прополювання (контроль II)	77,6	93,6	18,2
Пріма Форте 0,5 л/га	93,4	105,2	19,9
Пріма Форте 0,6 л/га	98,2	108,3	20,4
Пріма Форте 0,7 л/га	103,7	123,5	21,7
Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	88,5	101,8	18,6
Пріма Форте 0,5 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	102,9	112,9	20,8
Пріма Форте 0,6 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	107,3	115,7	21,1
Пріма Форте 0,7 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	115,2	132,0	22,3
Вуксал БІО Vita 1 л/т - обробка насіння (фон)	78,4	92,5	17,8
Фон + ручні прополювання	81,0	95,8	18,7
Фон + Пріма Форте 0,5 л/га	96,2	110,3	22,0
Фон + Пріма Форте 0,6 л/га	101,6	121,2	23,5
Фон + Пріма Форте 0,7 л/га	107,8	139,4	24,1
Фон + Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	94,2	108,1	19,2
Фон + Пріма Форте 0,5 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0	118,3	137,2	23,1
Фон + Пріма Форте 0,6 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0	125,7	149,3	24,8
Фон + Пріма Форте 0,7 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0	131,2	156,3	25,9
НІР ₀₅	2,34	2,18	2,02

Так, у 2017 р. за використання гербіциду Пріма Форте 195 у нормах 0,5; 0,6 і 0,7 л/га простежувалося підвищення активності каталази у листках пшениці полби звичайної, порівняно із контролем I на 26,0; 32,5; 39,9%, пероксидази – 18,0; 21,5 і 38,6% відповідно. Таке зростання активності ферментів може свідчити про пряму дію

ксенобіотика на стан антиоксидантних систем, які активізуються у відповідь на АФК, що утворюються у результаті інтенсифікації в рослинах метаболічних процесів. Ці дані підтверджується дослідженнями й інших вчених [19].

Застосування Вуксалу БІО Vita у нормі 1,0 л/га викликало зростання активності каталази на

19,4%, пероксидази – на 14,3%. Очевидно, активізація ферментативної активності за використання PPP може бути зумовлена прискоренням обмінних процесів у рослинах [20]. Застосування бакових сумішей Пріми Форте 195 у вищевказаних нормах з Вуксалом БІО Vita спричинило зростання активності каталази на 38,9; 44,8 і 55,5%, пероксидази – на 26,7; 29,9 і 48,2%.

Передпосівна обробка насіння Вуксалом БІО Vita у нормі 1,0 л/т викликала зростання активності каталази на 6,0%, пероксидази – 3,8%. У варіантах з ручними прополюваннями (контроль II) і ручними прополюваннями на фоні передпосівної обробки насіння відмічали незначне зростання активності ферментів. Так, активність каталази зростала на 5,0 і 9,3%, а пероксидази – 5,0 і 7,5%. Очевидно, що підвищення активності ферментів у варіантах з ручними прополюваннями є результатом покращення умов росту і розвитку рослин пшениці, які створюються за відсутності конкуренції з боку сегетальної рослинності, внаслідок чого зростає активність обмінних процесів, невід'ємною складовою яких є ферменти [21].

Використання Пріми Форте 195 у нормах 0,5; 0,6 і 0,7 л/га на фоні передпосівної обробки насіння регулятором росту рослин забезпечило зростання активності каталази на 29,8; 37,1 і 45,5%, пероксидази – 23,8; 36,0 і 56,5%. Активність ферментів зростала і за обробки посівів Вуксалом БІО Vita на фоні передпосівної обробки цим же PPP насіння: каталази – на 27,1 %, пероксидази – на 21,3 %.

Найвищі показники активності антиоксидантних ферментів зафіксували у варіантах сумісного застосування гербіциду Пріма Форте 195 (0,5 – 0,7 л/га) з Вуксалом БІО Vita (1,0 л/га) на фоні передпосівної обробки насіння цим же PPP (1,0 л/т). Так, активність каталази порівняно з контролем I зростала на

59,6; 69,6 і 77,0%, а пероксидази – 54,0; 67,6 і 75,4% відповідно. Отже, можна стверджувати, що за використання бакових сумішей гербіциду з PPP, у порівнянні з варіантами самостійного використання гербіциду, активність каталази і пероксидази значно зростає. Це може свідчити про підвищення рівня детоксикаційних процесів у рослинному організмі, направлених на ліквідацію шкідливих для рослини продуктів метаболізму, індукованих впливом гербіциду, зокрема й H_2O_2 [15].

Деяко нижчими були темпи зростання активності ферменту поліфенолоксидази. Так, за використання Пріми Форте 195 у нормах 0,5; 0,6 і 0,7 л/га активність даного ферменту у порівнянні з контролем I збільшувалася на 13,7; 16,6 і 24%; за використання тих же норм препарату в баковій суміші з Вуксалом БІО Vita 1,0 л/га – 18,9; 20,6 і 27,4%, а за самостійного застосування PPP – на 6,3%.

Обробка насіння перед сівбою Вуксалом БІО Vita у нормі 1,0 л/т викликала незначне зростання активності поліфенолоксидази (на 2,0% порівняно з контролем I). Пріма Форте 195 у вищевказаних нормах на фоні обумовлювала підвищення активності поліфенолоксидази на 25,7; 34,3 і 37,7%, водночас внесена в суміші з Вуксалом БІО Vita – 32,0; 41,7 і 48% відповідно. У разі самостійного внесення PPP на фоні активність ферменту зростала на 9,7%. Очевидно, що підвищення активності поліфенолоксидази є наслідком процесів розпаду фенольних сполук, синтез яких у рослинах можливий за дії гербіциду, що підтверджується експериментальними даними, наведеними в літературних джерелах [3].

Визначення активності ферментів класу оксидоредуктаз у листках пшениці полби звичайної за дії гербіциду Пріма Форте 195 і PPP Вуксал БІО Vita у 2018 році показало подібну залежність у спрямованості дії препаратів (табл. 2).

**Активність антиоксидантних ферментів у листках пшениці полби звичайної за дії гербіциду
Пріма Форте 195 і PPP Вуксал БІО Vita (2018 р.)**

Варіант досліджу	Каталаза, мкМоль розкладеного H ₂ O ₂ /г сирової речовини за 1 хв.	Пероксидаза, мкМоль окисненого гваяколу/г сирової речовини за 1 хв.	Поліфенолоксидаза, мкМоль окисненої аскорбінової кислоти/г сирової речовини за 1 хв.
Без застосування препаратів (контроль I)	85,3	92,2	19,3
Ручні прополювання (контроль II)	89,5	94,5	20,6
Пріма Форте 0,5 л/га	96,0	108,8	21,2
Пріма Форте 0,6 л/га	101,2	110,9	22,2
Пріма Форте 0,7 л/га	106,7	118,4	23,9
Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	92,1	96,3	19,7
Пріма Форте 0,5 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	108,1	116,2	23,6
Пріма Форте 0,6 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	114,9	121,0	24,5
Пріма Форте 0,7 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	122,4	136,7	25,8
Вуксал БІО Vita 1 л/т - обробка насіння (фон)	91,7	95,3	21,3
Фон + ручні прополювання	92,5	98,7	22,4
Фон + Пріма Форте 0,5 л/га	99,7	115,1	23,8
Фон + Пріма Форте 0,6 л/га	105,3	117,4	24,6
Фон + Пріма Форте 0,7 л/га	114,1	143,6	25,2
Фон + Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	97,9	103,2	21,0
Фон + Пріма Форте 0,5 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0 л/га	131,5	146,5	24,0
Фон + Пріма Форте 0,6 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0	133,8	148,9	25,6
Фон + Пріма Форте 0,7 л/га + Вуксал БІО Vita 1,0	136,0	160,1	27,1
НІР ₀₅	2,18	2,23	1,94

Так, за використання гербіциду Пріма Форте 195 у нормах 0,5 – 0,7 л/га активність каталази, пероксидази і поліфенолоксидази зростала порівняно із контролем I на 12,5 – 25,1%; 18,0 – 28,4% і 9,8–23,8% відповідно; Вуксалу БІО Vita – на 8,0; 4,4 і 2,1%; водночас за внесення цих же норм гербіциду з PPP показники активності зростали на 26,7–43,5%; 26,0–48,3% і 22,3–33,7%. За використання Пріми Форте 195 у нормах 0,5 – 0,7 л/га по фоні активність вищезазначених ферментів зростала до контролю I на 16,9 – 33,8 – для каталази; на 24,8–55,7% – для пероксидази; 23,3 – 30,6 – для поліфенолоксидази.

Значне перевищення активності антиоксидантних ферментів каталази, пероксидази і поліфенолоксидази простежувалася за сумісного внесення Пріми Форте 195 у нормах 0,5 – 0,7 л/га з PPP Вуксал БІО Vita на фоні обробки PPP насіння, де перевищення до контролю I складало 54,2–59,4% – для каталази; 58,9–73,6% – для

пероксидази; 24,3–40,4% – для поліфенолоксидази. Однак, слід зауважити, що у порівнянні з 2017 р. показники активності ферментів були дещо вищими, що може свідчити про залежність ферментативних процесів у рослинах не тільки від дії досліджуваних препаратів, а й від факторів зовнішнього природного середовища.

Висновки. Застосування у бакових сумішах гербіциду Пріма Форте 195 у нормах 0,5 – 0,7 л/га з PPP Вуксал БІО Vita у нормі 1,0 л/га на фоні передпосівної обробки цим же PPP насіння у нормі 1,0 л/т зумовлює зростання активності ферментів класу оксидоредуктаз – каталази (56,7–67,6%), пероксидази (56,4–74,4%), поліфенолоксидази (28,3–44,0%), що може свідчити про підвищення рівня детоксикаційних процесів у рослинному організмі, спрямованих на ліквідацію шкідливих для рослини метаболітів, індукованих впливом гербіциду.

Список використаних джерел:

1. Максимов И. В. Про-/антиоксидантная система и устойчивость растений к патогенам / Максимов И. В., Черепанова Е. А. // Успехи современной биологии. – 2006. – Т. 126, № 3. – С. 250–261.
2. Обработка гербицидом гранстар вызывает окислительный стресс в листьях злаков / А.Н. Гарькова, М.М. Русяева, О.В. Нуштаева та ін. // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, №6. – С. 930-943.
3. Карпенко В. П. Активність окремих ферментів класу оксидоредуктаз у рослинах ячменю ярого за дії бакових сумішей гербіцидів і регулятора росту рослин / В. П. Карпенко // Збірник наукових праць Уманського НУС. – 2010. – Вип. 74. – С. 64–71.
4. Біологічні основи інтегрованої дії гербіцидів і регуляторів росту рослин / В.П. Карпенко, З.М. Грицаєнко, Р.М. Притуляк та ін. – Умань : Сочінський, 2012. – 357 с.
5. Apel K. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction / Apel K., Hirt H. // Annu. Rev. Plant Biol. – 2004. – V. 55. – P. 373-399.
6. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life / Halliwell B. // Plant Physiol. – 2006. – V. 141. – P. 312-322.
7. Hassan N.M. Oxidative stress in herbicide-treated broad bean and maize plants / Hassan N.M., Alla M.M.N. // Acta Physiol. Plant. 2005. V. 27. P. 429-438.
8. Manoranjan K. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence / K. Manoranjan, M. Dinabandhu. // Plant Physiol. – 1976. – V.57. – P. 315–319.
9. Bartosz G. Oxidative stress in plants / G. Bartosz // Acta Physiologiae Plantarum. – 1997. – V.19. – P. 47–64.
10. Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology / V. Demidchik. // Environmental and Experimental Botany. – 2015. – V.109. – P. 212–228.
11. Chakraborty U. Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H₂O₂ accumulation / U. Chakraborty, B. Pradhan. // Brazilian Journal of Plant Physiology. – 2012. – №24. – С. 117–130.
12. Спиридонов Ю. Я. Современные проблемы изучения гербицидов (2006–2008 г.) / Спиридонов Ю. Я., Жемчужин С.Г. // Агротехника. – 2010. – № 7. – С. 73-91.
13. 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.
14. Дыхательные ферменты / [Под ред. В. А. Энгельгардта]. – М. : Изд-во иностранной литературы, 1952. – С. 235–266.
15. ПРИМА ФОРТЕ 195, с. е.- Гербіциди / Сингента Україна [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу : <https://www.syngenta.ua/product/crop-protection/gerbicidi/prima-forte-195-s-e>.
16. Вуксал БІО Vita - Unifer [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу : <http://unifer.de/ua/zhivlennya-roslin/wuxal/wuxal-bio-vita>.
17. Починок Х. Н. Методы биохимического анализа растений / Починок Х. Н. – К. : Наукова думка, 1976. – С. 165 – 178.
18. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. – 5-е изд., доп. и перераб. – М. : Агропромиздат, 1985. – 351 с.: ил.
19. Карпенко В. П. Фізіологічні зміни в рослинах ячменю ярого за дії біологічно активних речовин / В. П. Карпенко, Р. М. Притуляк. // Вісник Уманського національного університету садівництва. – 2014. – №1. – С. 60–65.
20. Карпенко В. П. Активність окремих антиоксидантних ферментів класу оксидоредуктаз за дії гербіциду Калібр 75 і регулятора росту рослин Біолан / В. П. Карпенко, Р. М. Притуляк, А. О. Чернега. // Збірник наукових праць Уманського НУС. – 2013. – №83. – С. 19–25.
21. Карпенко В. П. Біологічне обґрунтування інтегрованого застосування гербіцидів і ристрегуляторів на ячмені ярому : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. с.-г. наук : спец. 03.00.12 "Фізіологія рослин" / Карпенко В. П. – Умань, 2011. – 44с.

В. П. Карпенко, С. В. Павлишин. Активність антиоксидантних ферментів в рослинах пшениці полби обыкновенной при действии гербицида Прима Форте 195 и регулятора роста растений Вуксал БІО Vita.

В статье представлены результаты исследований влияния различных норм гербицида Прима Форте 195 и его смесей с регулятором роста растений (PPP) Вуксал БІО Vita на активность основных антиоксидантных ферментов (каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы) в растениях пшеницы полбы обыкновенной. Доказано, что при действии гербицида Прима Форте 195 в нормах 0,5; 0,6 и 0,7 л/га как отдельно, так и в смесях с PPP Вуксал БІО Vita 1,0 л/га в растениях пшеницы полбы обыкновенной активность изучаемых ферментов значительно возрастала, что может свидетельствовать об активизации прохождения обменных процессов, направленных на детоксикацию продуктов метаболизма, образованных при действии ксенобиотика.

Ключевые слова: антиоксидантныe ферменты, гербицид, регулятор роста растений, пшеница полба обыкновенная.

V. Karpenko, S. Pavlyshyn. **Activity of antioxidant enzymes in plants of amelcorn under the influence of Prima Aorte 195 herbicide and Wuxal BIO Vita plant growth regulator.**

The article presents the findings of the research into the influence of different rates of herbicide Prima Forte 195 and its mixtures with plant growth regulator Wuxal BIO Vita on the activity of main anti-oxidant enzymes (catalase, peroxidase, polyphenol oxidase) in the plants of a common amelcorn. It has been found that under the influence of Prima Forte 195 at the rates of 0.5; 0.6 and 0.7 l/ha applied separately as well as in the mixtures with Wuxal BIO Vita 1.0 l/ha the activity of the enzymes under study increased considerably in a common amelcorn. This indicates that xenobiotic directly affects the state of antioxidant systems, that become active in response to reactive oxygen species, formed as a result of the intensification of metabolic processes in plants.

Key words: antioxidant enzymes, catalase, peroxidase, polyphenol oxidase, herbicide, plant growth regulator, amelcorn.