

УДК [577.112-026.81+577.115]:633.112:[632.954:631.811.98]

АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗИ ТА ПЕРЕБІГ РЕАКЦІЙ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЛИСТКАХ ПШЕНИЦІ ПОЛБИ ЗВИЧАЙНОЇ ЗА ДІЇ ГЕРБИЦИДУ ТА РЕГУЛЯТОРА РОСТУ РОСЛИН

Карпенко В.П. – д.с.-г.н., професор,

Уманський національний університет садівництва

Притуляк Р.М. – к.с.-г.н., доцент,

Уманський національний університет садівництва

Павлишин С.В. – аспірант,

Уманський національний університет садівництва

У статті наведено результати вегетаційного дослідження із впливу різних норм гербициду «Пріма Форте 195» (0,5, 0,6 і 0,7 л/га) за різних способів використання регулятора росту рослин «Вуксал БІО Віта» на інтенсивність проходження процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у рослинах пшениці полби звичайної та на активність ферменту глутатіон-S-трансферази. Як показали результати проведених досліджень, гербицид «Пріма Форте 195» та його суміші з регулятором росту рослин (РРР) «Вуксал БІО Віта» здатні значно впливати на активність глутатіон-S-трансферази та на перебіг реакцій ПОЛ. Наприклад, за визначення GST встановлено, що активність ферменту була досить високою та зростала на десяту добу після внесення препаратів. Варто зазначити, що на десяту добу активність GST у варіантах сумісного використання гербициду й РРР дещо знижувалася, порівняно з показниками на третю добу, що свідчить про позитивний вплив комплексного застосування препаратів на проходження детоксикаційних процесів у рослинах пшениці полби звичайної. Також встановлено, що за використання «Пріми Форте 195» і «Вуксалу БІО Віта» вміст ТБК-активних продуктів (МДА) у листках пшениці полби звичайної значно зростає. Водночас найінтенсивніше зростання показників простежувалось у разі застосування гербициду без РРР.

Ключові слова: ферменти, пероксидне окиснення ліпідів, глутатіон-S-трансфераза, гербицид, регулятор росту рослин, пшениця полба звичайна.

Карпенко В.П., Притуляк Р.М., Павлишин С.В. Активность глутатион-S-трансферазы и прохождение реакций пероксидного окисления липидов в листьях пшеницы полбы обыкновенной при действии гербицидов и регуляторов роста растений

В статье приведены результаты вегетационного опыта по влиянию различных норм гербицида «Прима Форте» 195 (0,5, 0,6 и 0,7 л/га) при различных способах использования регулятора роста растений «Вуксал БИО Вита» на интенсивность прохождения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в растениях пшеницы полбы обыкновенной и на активность фермента глутатион-S-трансферазы. Как показали результаты проведенных исследований, гербицид «Прима Форте 195» и его смеси с регулятором роста растений (РРР) «Вуксал БИО Вита» способны значительно влиять на активность глутатион-S-трансферазы и на ход реакций ПОЛ. Так, при определении GST установлено, что активность фермента была достаточно высокой и росла на десятые сутки после внесения препаратов. Стоит отметить, что на десятые сутки активность GST в вариантах совместного использования гербицида и РРР несколько снижалась, по сравнению с показателями на третьи сутки, что свидетельствует о положительном влиянии комплексного применения препаратов на прохождение детоксикационных процессов в растениях пшеницы полбы обыкновенной. Также установлено, что при использовании «Примы Форте 195» и «Вуксала БИО Вита» содержание ТБК-активных продуктов (МДА) в листьях пшеницы полбы обыкновенной значительно возрастало. В то же время наиболее интенсивно рост показателей прослеживался в случае применения гербицида без РРР.

Ключевые слова: ферменты, перекисное окисление липидов, глутатион-S-трансфераза, гербицид, регулятор роста растений, пшеница полба обыкновенная.

Karpenko V.P., Prytuliak R.M., Pavlyshyn S.V. The activity of glutathione-S-transferase and the course of lipid peroxidation reactions in *Triticum dicoccum* leaves under the application of herbicides and plant growth regulators

The article presents the results of the vegetative experiment on the influence of various rates of the herbicide Prima Forte 195 (0.5, 0.6 and 0.7 l/ha) under various methods of using the plant growth regulator Wuxal BIO Vita on the intensity of lipid peroxidation reactions in emmer wheat plants and on the activity of the enzyme glutathione-S-transferase. It shows that Prima Forte 195 and its mixtures with the plant growth regulator Wuxal BIO Vita can significantly influence the activity of glutathione-S-transferase and the flow of lipid peroxidation reactions. Thus, while determining GST, it was established that the activity of the enzyme was sufficiently high and grew on the tenth day after the application of the herbicide and plant growth regulator. It is worth noting that on the tenth day, the GST activity in the variants of the tank mix of the herbicide and plant growth regulator decreased as compared to the indicators on the third day, which indicates the positive effect of the complex application of the preparations on the course of detoxification processes in emmer wheat plants. It was also found that when using Prima Forte 195 and Wuxal BIO Vita, the content of TBA-active products (MDA) in the leaves of emmer wheat increased significantly. The most intensive growth was traced when the herbicide was used without the plant growth regulator.

Key words: enzymes, lipid peroxidation, glutathione-S-transferase, herbicide, plant growth regulator, emmer wheat, *Triticum dicoccum*.

Постановка проблеми. У сучасному сільськогосподарському виробництві гостро постає проблема реакції рослин на токсичну дію хімічних сполук. Нині проведено значну кількість досліджень [1–5], у яких висвітлюються структурні та метаболічні зміни на різних етапах фізіологічних процесів у рослинах, проте з'ясування їхніх механізмів потребує подальшого вивчення.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Гербіциди як фізіологічно активні речовини здатні швидко проникати в рослини, де вони піддаються метаболічній трансформації (детоксикації). Особливе значення в цих процесах відіграють ферментативні системи [6].

Глутатіон-S-трансфераза (GST) – це велика родина ензимів, що каталізують нуклеофільне приєднання непротеїнового тіолу глутатіону до електрофільних молекул ксенобіотиків [7–11]. Утворення глутатіонових кон'югатів здебільшого веде до зниження токсичності чужорідних сполук і полегшує виведення їх із клітин за допомогою спеціальних АТФ-залежних транспортних систем [12]. Завдяки активації глутатіон-S-трансферази посилюється здатність до детоксикації різноманітних токсикантів [13; 14]. Встановлено, що за дії гербіцидів активність GST зростає, що є наслідком кон'югування токсикантів із глутатіоном [15; 16]. Також досліджено, що із збільшенням норми внесення гербіцидів простежується інтенсифікація генерування активних форм кисню (АФК), які зумовлюють розвиток у рослин оксидативного стресу, наслідком якого є підвищений рівень пероксидного окиснення ліпідів (далі – ПОЛ) [1].

Постановка завдання. Метою досліджу було вивчення впливу різних норм гербіциду «Пріма Форте 195» (0,5, 0,6, 0,7 л/га) та регулятора росту рослин (далі – РРР) «Вуксал Біо Віта» (1,0 л/га, 1,0 л/т насіння), який використаний у бакових сумішах із гербіцидом і для обробки насіння, на активність глутатіон-S-трансферази та перебіг ПОЛ у листках пшениці полби звичайної.

Матеріали та методи досліджень. Предметом дослідження слугували рослини пшениці полби звичайної (*Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl.) сорту Голіковська, гербіцид «Пріма Форте 19»5, с.е. (діючі речовини – флорасулам 5 г/л, амінопіралід 10 г/л, 2-етилгексилловий ефір 2,4-Д 180 г/л), регулятор росту рослин «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).

Досліди виконували з дотриманням вимог вегетаційного методу [17] за схемою: без застосування препаратів (контроль), «Пріма Форте 195» у нормах 0,5, 0,6 та 0,7 л/га окремо і в сумішах із «Вуксалом БІО Vita» у нормі 1,0 л/га, які внесені окремо та на фоні передпосівної обробки насіння «Вуксалом БІО Vita» 1,0 л/т. Детальну схему досліду наведено в таблицях.

Аналізи проводили в лабораторних умовах на третю та десятю добу після посходового внесення препаратів у відібраних зразках листків. Основні фізіолого-біохімічні показники за дії препаратів вивчали за широковживаними та апробованими методиками, зокрема інтенсивність реакцій ПОЛ у листках пшениці полби звичайної визначали за накопиченням продукту пероксидного окиснення ліпідів – малонового діальдегіду (МДА), за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) за 532 нм згідно з методикою, що викладена у модифікації В.В. Рогожина [18], а активність GST – за методом W.B. Jacoby [19] у модифікації В.Н. Гришка [20], субстратом слугував 2,4-динітрохлорбензол (ДНХБ). Зміну оптичної щільності фіксували впродовж трьох хвилин за довжини хвилі 340 нм спектрофотометричним методом.

Виклад основного матеріалу дослідження. Відомо, що GST кагалізують один із шляхів біодеградації токсикантів у рослинах [1]. Як показали результати проведених досліджень, гербіцид «Пріма Форте 195» та його суміші з PPP «Вуксал БІО Vita» здатні впливати на активність глутатіон-S-трансферази та на перебіг реакцій ПОЛ. Наприклад, за визначення активності GST встановлено, що вона була досить високою та значно збільшувалась на десятю добу після внесення препаратів (табл. 1). Зокрема, у варіантах із використанням «Пріми Форте 195» у нормах 0,5, 0,6 і 0,7 л/га перевищення показників активності GST щодо контролю становило 7, 10 і 18% – на третю добу та 16, 25 і 31% – на 10 добу визначення. За використання PPP «Вуксал БІО Vita» перевищення щодо контролю становило 14% як на третю, так і на десятю добу. За сумісного застосування «Пріми Форте 195» у нормах 0,5, 0,6 і 0,7 л/га із «Вуксалом БІО Vita» 1,0 л/га показники активності GST на третю добу перевищували контрольні на 20, 28 і 33%, а на десятю добу їх зростання щодо контролю становило 11, 17 і 22% відповідно. Варто зазначити, що на десятю добу активність GST у варіантах сумісного використання гербіциду й PPP дещо знижувалася, порівняно з показниками на третю добу, що свідчить про позитивний вплив комплексного застосування препаратів на проходження детоксикаційних процесів у рослинах пшениці полби звичайної [21].

За використання PPP «Вуксал БІО Vita» у нормі 1,0 л/т зростання активності ферменту відбувалося як на третю, так і на десятю добу на 3%. Водночас внесення «Пріми Форте 195» у нормах 0,5, 0,6 та 0,7 л/га на фоні передпосівної обробки насіння «Вуксалом БІО Vita» у нормі 1,0 л/т зумовлювало зростання активності GST на 8, 13 і 23% (третя доба) та на 4, 10 і 20% (десята доба).

За використання PPP «Вуксал БІО Vita» у нормі 1,0 л/га на фоні передпосівної обробки насіння цим же препаратом у нормі 1,0 л/т зазначали зростання активності ферменту на 17% і 11% на третю й десятю добу визначення відповідно.

Показники активності GST за обприскування рослин баковою сумішшю «Пріми Форте 195» у нормах 0,5, 0,6 та 0,7 л/га з «Вуксалом БІО Vita» 1,0 л/га на фоні передпосівної обробки насіння «Вуксалом БІО Vita» у нормі 1,0 л/т зростали із збільшенням норми гербіциду. На третю добу перевищення, порівняно з контролем, становило 40, 49 та 53%, на десятю добу активність ферменту дещо знижувалася та становила 23, 37 і 40% відповідно.

Дослідження процесів ПОЛ у рослинах пшениці полби звичайної, як і у випадку з GST, засвідчило їхню залежність від використання біологічно активних речовин (табл. 2).

Таблиця 1

**Активність GST у листках пшениці полби звичайної за дії гербіциду
«Пріма Форте 195» і PPP «Вуксал БІО Віта»**

Варіант дослідю	GST, мкМоль/г сирової речовини за 1 хв.	
	на третю добу	на десяту добу
Без застосування препаратів (контроль)	4,17	4,43
Пріма Форте 0,5 л/га	4,46	5,13
Пріма Форте 0,6 л/га	4,62	5,54
Пріма Форте 0,7 л/га	4,93	5,81
Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	4,77	5,06
Пріма Форте 0,5 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	5,02	4,91
Пріма Форте 0,6 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	5,33	5,18
Пріма Форте 0,7 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	5,56	5,39
Вуксал БІО Віта 1,0 л/т (Фон)	4,29	4,56
Фон + Пріма Форте 0,5 л/га	4,52	4,60
Фон + Пріма Форте 0,6 л/га	4,70	4,88
Фон + Пріма Форте 0,7 л/га	5,11	5,32
Фон + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	4,89	4,95
Фон + Пріма Форте 0,5 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	5,83	5,44
Фон + Пріма Форте 0,6 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	6,22	6,08
Фон + Пріма Форте 0,7 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	6,38	6,22
НІР ₀₅	0,54	0,48

Таблиця 2

**Вплив різних норм гербіциду «Пріма Форте 195» і PPP «Вуксал БІО Віта»
на ПОЛ у листках пшениці полби звичайної**

Варіант дослідю	МДА, мкМоль/г сирової речовини	
	на третю добу	на десяту добу
Без застосування препаратів (контроль)	12,9	21,1
Пріма Форте 0,5 л/га	33,8	44,6
Пріма Форте 0,6 л/га	37,4	47,3
Пріма Форте 0,7 л/га	42,1	51,2
Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	14,3	23,4
Пріма Форте 0,5 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	23,0	37,8
Пріма Форте 0,6 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	25,1	41,0
Пріма Форте 0,7 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	27,2	45,9
Вуксал БІО Віта 1,0 л/т (Фон)	14,3	23,7
Фон + Пріма Форте 0,5 л/га	31,2	40,4
Фон + Пріма Форте 0,6 л/га	33,6	43,7
Фон + Пріма Форте 0,7 л/га	36,8	49,6
Фон + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	16,5	27,5
Фон + Пріма Форте 0,5 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	21,5	34,3
Фон + Пріма Форте 0,6 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	24,7	36,5
Фон + Пріма Форте 0,7 л/га + Вуксал БІО Віта 1,0 л/га	26,2	39,9
НІР ₀₅	1,42	2,08

Так, встановлено, що за використання «Пріми Форте 195» і «Вуксалу БІО Vita» вміст ТБК-активних продуктів (МДА) у листках пшениці полби звичайної значно збільшувався, водночас найінтенсивніше зростання простежувалось у разі застосування гербіциду без РРР. За використання «Пріми Форте 195» у нормах 0,5, 0,6 та 0,7 л/га вміст МДА на третю добу після внесення перевищував контроль на 162, 189 і 226%. На десятю добу після внесення препаратів перевищення щодо контролю складало 111, 124 і 143% відповідно.

Використання «Вуксалу БІО Vita» у нормі 1,0 л/га забезпечило зростання показників на третю та на десятю добу на 11% щодо контрольних показників. За сумісного застосування «Пріми Форте 195» у нормах 0,5, 0,6 і 0,7 л/га з «Вуксалом БІО Vita» 1,0 л/га показники активності ПОЛ на третю добу перевищували контрольні на 78, 95 і 111%, а на десятю – 79, 94 і 117%.

Передпосівна обробка насіння «Вуксалом БІО Vita» у нормі 1,0 л/т забезпечила зростання показників на третю та десятю добу на 11 і 12% відповідно. За обприскування рослин «Прімою Форте 195» у нормах 0,5, 0,6 та 0,7 л/га на фоні передпосівної обробки насіння «Вуксалом БІО Vita» 1,0 л/т показники ПОЛ щодо контролю на третю добу зростали на 142, 160 та 185%, а на десятю добу – на 91, 107 і 135% відповідно, що було дещо нижчим, ніж у варіантах без передпосівної обробки насіння РРР. Очевидно, РРР у цього разі сприяв зниженню або стабілізації проходження процесів ПОЛ у рослинах [1].

Подібною була дія на процеси ПОЛ у рослинах пшениці полби звичайної за застосування бакової суміші «Пріми Форте 195» у вищевказаних нормах і РРР «Вуксал БІО Vita» на фоні передпосівної обробки насіння цим же регулятором росту рослин. Наприклад, на третю добу зростання показників становило 67, 91 та 103%, а на десятю добу – на 62, 73 і 89%. Зниження рівня ПОЛ у варіантах із комплексним застосуванням гербіциду та РРР на фоні передпосівної обробки насіння РРР може свідчити про підвищення рівня в рослинах детоксикаційних процесів, спрямованих на знешкодження токсиканта.

Висновки і пропозиції. Отже, аналізуючи одержані дані вегетаційного дослідження стосовно проходження реакцій ПОЛ й активності ферменту глутатіон-S-трансферази в листках пшениці полби звичайної, можна зробити висновок, що сумісне застосування гербіциду «Пріма Форте 195» у нормах 0,5, 0,6 та 0,7 л/га з регулятором росту рослин «Вуксал БІО Vita» у нормі 1,0 л/га на фоні передпосівної обробки насіння цим же РРР у нормі 1,0 л/т зумовлює більш швидкі темпи детоксикації ксенобіотика в рослинах, що виявляється в зростанні активності ферменту глутатіон-S-трансферази за значного вмісту МДА.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Карпенко В.П., Грицаєнко З.М., Притуляк Р.М. та ін. Біологічні основи інтегрованої дії гербіцидів і регуляторів росту рослин. Умань: Сочінський, 2012. 357 с.
2. Карпенко В.П., Притуляк Р.М., Даценко А.А. та ін. Фізіолого-біохімічні механізми інтегрованої дії гербіцидів і регуляторів росту рослин. Вісник Уманського національного університету садівництва. 2016. № 1. С. 72–75.
3. Россихіна Г.С., Глубока В.М. Вплив Фронт'єру на активність ліпоксигенази зерна кукурудзи на ранніх етапах пророщування рослин. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. 2007. № 15. С. 140–144.
4. Грицаєнко З.М., Грицаєнко А.О., Карпенко В.П. та ін. Біологічні процеси і продуктивність сільськогосподарських культур при застосуванні хімічних і біологічних препаратів та шляхи зменшення гербіцидного навантаження на зовніш-

- не середовище. Вчені вищої школи України – селу: праці Міжнар. наук. конф. (5–7 липня, 2006 р.). 2006. С. 73–87.
5. Карпенко В.П., Пritуляк Р.М. Агроэкологическое и биологическое обоснование путей снижения отрицательного воздействия гербицидов на растения ярового ячменя. Экологическая безопасность и устойчивое развитие территорий: мат-лы I Междунар. науч.-практ. конф. Чебоксары. 2011. С. 159–161.
6. Карпенко В.П. Інтенсивність процесів ліпопероксидації та стан антиоксидантних систем захисту ячменю ярого за дії гербициду Гранстар 75 і регулятора росту рослин Емістим С. Збірник наукових праць Уманського ДАУ. 2009. № 72. С. 30–39.
7. Fields W.R., Morrow C.S., Doss A.J. et al. Overexpression of stably transfected human glutathione S-transferase P1-1 protects against DNA damage by benzo[a]pyrene dioloxide in human T47D cells. *Mol. Pharmacol.* 1998. № 2. P. 298–304.
8. Hayes J.D., Flanagan J.U., Jowsey I.R. Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005. P. 51–88.
9. Hayes P.C., May L., Hayes J.D. et al. Glutathione S-transferases in human liver cancer. *Gut.* 1991. № 12. P. 1546–1549.
10. Knapen M.F. The glutathione/glutathione-related enzyme system in reproduction. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2000. № 2. P. 127–129.
11. Слончак А.М., Оболенська М.Ю. Структура і функції глутатіон-S-трансферази P1-1. Український біохімічний журнал. 2009. № 1. С. 5–13.
12. Moscow J.A., Fairchild C.R., Madden M.J. et al. Expression of anionic glutathione-S-transferase and P-glycoprotein genes in human tissues and tumors. *Cancer Res.* 1989. № 6. P. 1422–1428.
13. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. Глутатионтрансферазы. *Успехи современной биологии.* 1989. № 2. С. 179–193.
14. Алексеева А.А. Стан глутатіон-залежної системи вегетативних органів дерев роду *Tilia l.* – інформативний тест-параметр для моніторингу урбоценозів. Рослинний світ України: теоретичні і прикладні аспекти вивчення і освоєння у виробництві основних і малопоширених видів (сільськогосподарські і біологічні науки): мат-ли Всеукр. наук.-практ. конф. 2016. С. 7–11.
15. Хромих Н.О. Зміни активності антиоксидантних ферментів у листках, оброблених гербицидами рослин амброзії полинолистої. *Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку.* Київ: Логос, 2009. Т. 1. С. 73–77.
16. Баймухаметова Э.А., Таипова Р.М., Кулуев Б.Р. Глутатион и глутатион-S-трансферазы: важнейшие компоненты системы антиоксидантной защиты растений. *Биомика.* 2016. № 4. С. 311–322.
17. Журбицкий З.И. Теория и практика вегетационного метода. Москва: Наука, 1986. 268 с.
18. Рогожин В.В. Практикум по биологической химии. Санкт-Петербург: Лань. 2006. С. 132–134.
19. Jacoby W.B. Glutathion transferases: methods in enzymology. *Acad. Press INC.* 1985. P. 495–510.
20. Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Пероксидное окисление липидов и функционирование некоторых антиокислительных ферментных систем у кукурузы и овса при остром поражении фтористым водородом. *Український біохімічний журнал.* 1999. Т. 71. № 3. С. 51–57.
21. Білоножко В.Я., Карпенко В.П., Полторецький С.П. та ін. Фізіолого-біохімічні процеси в рослинах ячменю ярого за роздільного та інтегрованого застосування гербицидів і регуляторів росту рослин. *Вісник Полтавської державної аграрної академії.* 2012. № 2. С. 7–13.