

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ПЕРЕАМІНУВАННЯ В СТИГЛОМУ ЗЕРНІ РОСЛИН ГІБРИДНОЇ КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ ГЕРБІЦИДНИХ ПРЕПАРАТІВ

Г. Россихіна, В. Лашко

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, НДІ біології
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

Досліджено вплив гербіцидів (Харнес, Майстер, Стелар, Пропоніт) на активність аспаратамінотрансферази [КФ 2.6.1.1], аланінамінотрансферази [КФ 2.6.1.2] та загальний вміст білка у стиглому зерні кукурудзи (*Zea mays* L.). Доведено, що гербіциди зумовлюють достовірне пригнічення активності ключових ферментів переамінування та накопичення загального білка.

Ключові слова: кукурудза, зерно, аспаратамінотрансфераза, аланінамінотрансфераза, загальний вміст білка, гербіцидні препарати.

На сьогоднішній день рівень розвитку хімізації сільського господарства району степового Придніпров'я впливає на посилення антропогенної дії на навколишнє середовище. Серед численних ксенобіотиків особливе місце займають гербіцидні препарати. Їх використання при обробці посівів призводить до забруднення ґрунтів і порушення метаболізму культурних рослин: зміни фізико-хімічних властивостей протоплазми та функціонування білкових структур, пошкодження мембран [6, 9, 10, 13]. У комплексі такі порушення характеризують розвиток стресової реакції, що супроводжується посиленням вільнорадикальних процесів. Адаптація до цього фактора пов'язана саме з білковою системою, яка відповідає на стрес істотними якісними та кількісними змінами. Найважливішими компонентами цієї системи є ферменти, що здатні впливати на спрямованість і інтенсивність метаболічних процесів за рахунок змін активності й поліморфізму [4, 5].

У білковому обміні рослин важливу роль відіграють реакції переамінування аспарагінової та глютамінової амінокислот. Зміна біосинтезу білків за дії екстремальних факторів пов'язана з ферментами переамінування, насамперед такими, як аспаратамінотрансфераза й аланінамінотрансфераза. Відома важлива роль аспарагінової та глютамінової амінокислот і їхніх амідів при адаптації рослин до несприятливих факторів середовища, оскільки при зміні білкового метаболізму вони є резервним матеріалом для біосинтезу інших амінокислот і органічних сполук, а також безпосередньо беруть участь у детоксикації шляхом кон'югації з ксенобіотиком [8].

У літературі описано багато досліджень, присвячених вивченню змін і порушень білкового метаболізму за дії антропогенних чинників [1–3, 7], але питання про вплив сучасних гербіцидів на вміст білка й активність рослинних амінотрансфераз вивчено недостатньо. Тому мета нашої роботи полягає у з'ясуванні реакції рослинних організмів на вплив гербіцидних препаратів за зміною вмісту загального білка й активності аланінамінотрансферази і аспаратамінотрансферази.

Матеріали та методи

Тест-об'єктом було стигле зерно кукурудзи гібриду Оржиця 237 МВ, отримане з рослин, які вирощували на дослідних полях Інституту зернового господарства УААН

(м. Дніпропетровськ) у 2010 р. за умов різної гербіцидної обробки. Як гербіцидну обробку використовували хлорацетанлідні препарати: Пропоніт, Харнес та післясходові препарати: похідний сульфонілсечовини (інгібітор ацетолактатсинтетази) Майстер, комплексний препарат (пошкоджував точки росту) Стелар. Контрольні рослини вирощували без гербіцидної обробки. Ґрунт дослідних ділянок – чорнозем, рН нейтральне. Препарати вносили за допомогою ранцевого обприскувача. Облікова площа ділянок – 10 м², повторність чотириразова.

Активність аланін- і аспаратамінотрансфераз з 2,4-динітрофенілгідазином досліджували за методом, принцип якого полягає в тому, що в результаті реакцій:



утворюються кетокислоти – пірвіноградна кислота (ПВК), щавелевооцтова кислота (ЩОК) [11]. Вони дають із 2,4-динітрофенілгідазином у лужному середовищі забарвлену (від жовтого до коричневого) сполуку – гідразон. Інтенсивність забарвлення пропорційна вмістові гідразону в пробі та визначається на фотоколориметрі при довжині хвилі 440 нм; активність ензимів виражали в нмоль пірувату/сек·г наважки. Вміст загального білка визначали фотоколориметрично за методом М. М. Bredford [14]. Повторність кожного дослідження – 3-кратна. Отримані результати оброблені статистично з визначенням достовірності різниць за критерієм Стьюдента (P=0,05) [12]. На рисунках представлені середні значення та їхні стандартні похибки.

Результати і їхнє обговорення

Виконані нами фізіолого-біохімічні дослідження засвідчили, що гербіцидна обробка призводить до порушень метаболічних процесів у репродуктивних органах кукурудзи. Гербіцидне навантаження спричинювало достовірне інгібування активності аспаратамінотрансферази в усіх варіантах дослідження. За дії препарату Пропоніт рівень ензиматичної активності був знижений щодо контролю на 12%, Стелар – на 13%, Майстер – на 17%, Харнес – на 8% (рис. 1).

Подібну тенденцію зафіксовано в реакції аланінамінотрансферази за дії гербіцидних препаратів (рис. 2). Ферментативна активність стиглого зерна була пригнічена порівняно з контрольним варіантом за впливу Пропоніту на 15%, Стелар – на 37%, Майстер – на 22%, Харнес – на 26%.

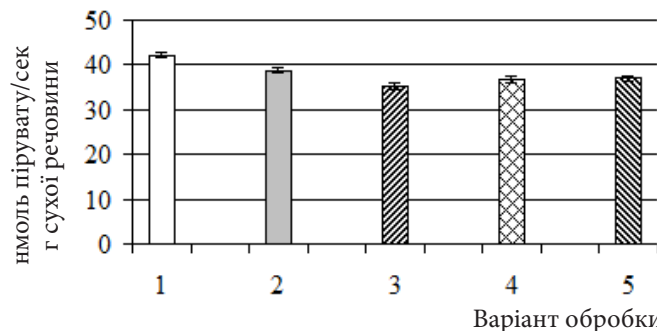


Рис. 1. Активність аспаратамінотрансферази у стиглому зерні кукурудзи за умов гербіцидної дії: 1 – контроль; 2 – Харнес; 3 – Майстер; 4 – Стелар; 5 – Пропоніт. Похибка вибірки не перевищує 5% від середніх значень.

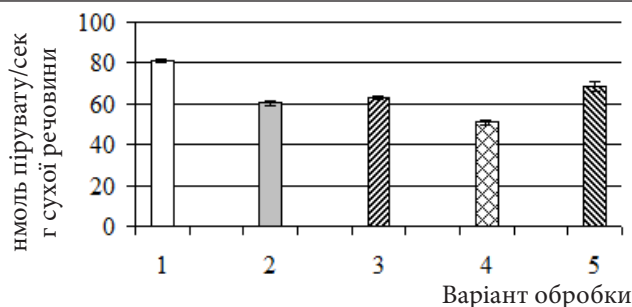


Рис. 2. Активність аланінамінотрансферази у стиглому зерні кукурудзи за умов гербіцидної дії: 1 – контроль; 2 – Харнес; 3 – Майстер; 4 – Стелар; 5 – Пропоніт.

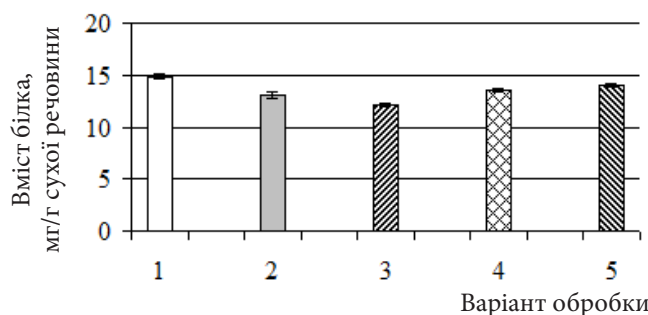


Рис. 3. Вміст загального білка в зерні кукурудзи за умов гербіцидної дії: 1 – контроль; 2 – Харнес; 3 – Майстер; 4 – Стелар; 5 – Пропоніт.

Встановлено, що пригнічення активності ферментів переамінування супроводжувалось інгібуванням накопичення вмісту загального білка (рис. 3). Порівняльне вивчення вмісту загального білка у стиглому зерні кукурудзи гібриду Оржиця 237 МВ за умов дії різних гербіцидних препаратів виявило достовірне інгібування даного показника щодо контролю на 6% (Пропоніт), на 10% (Стелар), на 23% (Майстер) та 14% (Харнес).

Порівняльний аналіз активності ферментів переамінування у стиглому зерні кукурудзи гібриду Оржиця 237 МВ дає змогу зробити висновок про те, що рівень ключових ферментів азотного метаболізму аланін- і аспаратамінотрансферази в умовах хімічного (гербіцидного) стресу знижено. Це за дії представлених ксенобіотиків відображає характер змін вмісту тих амінокислот, у метаболізмі яких беруть участь дані ферменти, і веде до дисбалансу вмісту загального білка, що може позначатися на продуктивності цих сільськогосподарських рослин. Отже, зафіксоване нами зниження активності амінотрансфераз у зерні, згідно з даними Н. П. Коцюбинської [8], може слугувати маркером змін білкового обміну за екзогенного впливу, яке корелює (особливо АсАТ) зі зниженням рівня загального білка в зерні кукурудзи. У подальшому для отримання вичерпної інформації про особливості стану рослинної клітини в умовах хімічного стресу планується вивчення ізоферментних спектрів АсАТ та ролі компонентів прооксидантно-антиоксидантної рівноваги як маркерних показників гербіцидного забруднення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Алехина Н. Д., Щиршова Е. Д.* Изоэнзимный состав аспарат- и аланинаминотрансфераз из корней кукурузы, выращенной при пониженной температуре // Докл. АН СССР. 1976. Т. 228. № 1. С. 248–251.
2. *Бильчук В. С., Панета О. А.* Влияние эндо- и экзогенных факторов на ферменты переаминирования. Днепропетровск: ДГУ, 1992. С. 4–14.
3. *Василюк О. М., Кулік А. Ф.* Фізіолого-біохімічні показники стану деревних рослин в умовах промислових зон степового Придніпров'я // Екологічні питання співіснування: людина – рослина: Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. Дніпропетровськ, 2009. С. 127–132.
4. *Винниченко А. Н., Коцюбинская Н. П.* Изменение белоксинтезирующей системы при адаптации растений к стрессовым воздействиям. Днепропетровск: ДГУ, 1992. С. 14–25.
5. *Винниченко А. Н., Коцюбинская Н. П., Бильчук В. С.* Ферменты азотного метаболизма и адаптация растений к антропогенным условиям среды // Вестн. Днепропетровск. ун-та. Сер. биол., экол. 1996. Вып. 2. С. 138–146.
6. *Винниченко О. М.* Захисні механізми рослин за дії гербіцидів // Наук. записки Тернопіль. пед. ун-ту. Сер. біол. 2002. № 3 (18). С. 90–92.
7. *Воробець Н. М.* Активність аспарат- і аланінамінотрансфераз у соняшника за дії різних доз свинцю // Физиология и биохимия культ. растений. 2002. Т. 34. № 2. С. 147–151.
8. *Коцюбинская Н. П.* Эколого-физиологические аспекты адаптации культурных растений к антропогенным условиям среды. Днепропетровск: ДГУ, 1995. 172 с.
9. *Макаринський О. Ю.* Вплив гербіцидів базаграну, агрітоксу і пантери, внесених окремо та сумісно з емістимом С, на активність окисно-відновних ферментів у рослинах гороху // Наук. записки Тернопіль. пед. ун-ту. Сер. біол. 2002. № 3 (18). С. 112–115.
10. *Мордерер Е. Ю.* Избирательная фитотоксичность гербицидов. К.: Логос, 2001. 240 с.
11. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990. 120 с.
12. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. Минск: Вышэйшая школа, 1973. 320 с.
13. *Філонік І. О., Хромих Н. О., Садовська О. Ф., Суханова І. М.* Вплив залишкових кількостей гербіциду трофі в зерні кукурудзи на фізіолого-біохімічні процеси у паростках на ранніх етапах розвитку // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Сер. біол., екол. 2001. Т. 2. Вип. 9. С. 50–57.
14. *Bredford M. M.* A rapid and sensitive method for quantitative of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.

Стаття: надійшла до редакції 18.02.11

доопрацьована 01.03.11

прийнята до друку 11.03.11

ACTIVITY OF TRANSAMINATION ENZYMES IN RIPE GRAIN OF HYBRID CORN PLANTS UNDER THE INFLUENCE OF HERBICIDIAL PREPARATIONS**A. Rossihina, V. Lashko**

*Oles Gonchar National University of Dnipropetrovsk, Biological Institute
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

The effect of herbicides (Harnes, Master, Stelar, Proponit) on the aspartataminotransferase [EC 2.6.1.1], alaninaminotransferase [EC 2.6.1.2] activities and total protein content had been determined in ripe maize (*Zea mays* L.) grains. It has been proven that herbicides cause authentic suppression of activity of key enzymes of transamination and accumulation of total protein.

Key words: a maize, grain, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, total protein, herbicides preparations.

**АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПЕРЕАМИНИРОВАНИЯ
В ЗРЕЛОМ ЗЕРНЕ РАСТЕНИЙ ГИБРИДНОЙ КУКУРУЗЫ
ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЕРБИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ****А. Россихина, В. Лашко**

*Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара,
НИИ биологии
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

Исследовано влияние гербицидов (Харнес, Майстер, Стеллар, Пропонит) на активность аспартагминотрансферазы [КФ 2.6.1.1], аланинаминотрансферазы [КФ 2.6.1.2] и общее содержание белка в зрелом зерне кукурузы (*Zea mays* L.). Показано, что гербициды обуславливают достоверное угнетение активности ключевых ферментов переаминирования и накопления общего белка.

Ключевые слова: кукуруза, зерно, аспартагминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, общее содержание белка, гербицидные препараты.