

**Фізіологія рослин**

УДК 577.12 + 632.95.025.8

**ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗИ ТА ВМІСТУ ГЛУТАТІОНУ У ЛИСТІ ДВОДОЛЬНИХ БУР'ЯНІВ ЗА ДІЇ ГЕРБІЦИДУ ХАРНЕС****Н. Хромих**

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара  
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна  
e-mail: Khromykh58@rambler.ru*

У польовому експерименті досліджено реакцію глутатіон-залежної системи дводольних бур'янів на вплив гербіциду харнес. На фоні зниження вмісту відновленого глутатіону (GSH) виявлено зростання активності глутатіон-S-трансферази (GST) у листі щиряці лободовидної в 4 рази, амброзії полинолістої майже в 3 рази, лободи білої в 2 рази, а також відсутність достовірних змін у листі чорнощиря нетреболистого. Зроблено висновок про можливість детоксикації харнесу шляхом кон'югації з глутатіоном у листі щиряці, амброзії та лободи. Обговорено можливість одночасного існування кількох механізмів антиоксидантного захисту в адвентивних рослин.

*Ключові слова:* дводольні бур'яни, глутатіон-S-трансфераза, глутатіон, гербіциди, антиоксидантний захист.

В останні роки стало очевидним, що недостатня ефективність дії гербіцидів і неминучі негативні наслідки їх застосування не відповідають сучасним вимогам екологізації агроценозів [2, 5]. Нові підходи до контролю чисельності сеgetальних рослин можуть полягати у підвищенні їхньої чутливості до гербіцидів шляхом зниження рівня фізіолого-біохімічного захисту бур'янів від впливу токсикантів. Зрозуміло, що такий підхід передбачає вивчення основ стійкості до гербіцидів кожного з видів бур'янів, викорінення яких наразі є проблематичним. Метаболічні відповіді бур'янистих рослин на дію токсикантів детально не вивчали, тому, крім суто практичних результатів, зазначені дослідження здатні розширити наукові уявлення про видові особливості функціонування захисних механізмів у рослин.

Відомо, що ефективним шляхом детоксикації гербіцидів у культурних рослинах є процес кон'югації з глутатіоном [12, 13], який каталізують глутатіон-S-трансферази (GST). Поряд із тим, у науковій літературі поширене уявлення про відсутність або низьку ефективність такого механізму у дводольних бур'янів, що забезпечує селективність дії гербіцидів [6]. У наших попередніх дослідженнях з'ясовано, що в листі та коренях амброзії полинолістої за рахунок функціонування глутатіон-залежної системи відбувалась детоксикація гербіцидів різних класів, унаслідок чого знижувалася чутливість рослини до цих препаратів [9]. У даній роботі ми мали на меті виявити здатність до кон'югації гербіциду харнес із глутатіоном у групі дводольних бур'янистих рослин, які на сьогодні є найбільш поширеними в посівах кукурудзи у Степовому Придніпров'ї.

Дослідження проведені у 2007–2009 рр. на дослідних ділянках Інституту зернового господарства УААН (м. Дніпропетровськ). Польові досліді були закладені у 5-кратній повторності, площа кожної ділянки становила 30 м<sup>2</sup>. Об'єктами дослідження були рослини таких видів: щиряця лободовидна (*Amaranthus blitoides* S. Watson), лобода

біла (*Chenopodium album* L.), амброзія полинолиста (*Ambrosia artemisifolia* L.), чернощир нетреболистий (*Iva xantifolia* Nutt.). За контрольні вважали рослини на ділянках із природною засміченістю, дослідні росли на ділянках, оброблених гербіцидом харнес (вносили у ґрунт у дозі 2,5 л/га перед сівбою культури). У листі іматурних рослин бур'янів визначали вміст відновленого глутатіону за [10]: з 0,5 г сирової тканини 0,1 М трисбуфером (рН 7,8) екстрагували тіолові сполуки, осаджували білки додаванням 50% розчину трихлороцтової кислоти, у небілковій фракції після інкубування проби при 37°C протягом 1 год спектрофотометричним методом визначали вміст тіолів за реакцією з 0,05 мл 0,001 М розчину 5,5-дитіобіс(2-нітробензойної кислоти). Вміст тіолів вираховували за допомогою калібрувального графіка, побудованого по відновленому глутатіону, і виражали в нмоль/г сирової речовини. Каталітичну активність GST визначали за реакцією з хлординітробензолом (ХДНБ) за [14], як було описано в попередній роботі [9], і виражали в нмоль ХДНБ/сек (нкатал). Статистичну обробку результатів проведено за допомогою пакету Microfoft Statistica 6.0.

У польових експериментах з'ясовано, що у посівах кукурудзи сегетальна рослинність представлена 10–15 видами, серед яких найбільш численними дводольними бур'янами були 4 види (табл. 1).

Таблиця 1

Склад групи найбільш поширених дводольних бур'янистих видів у посівах кукурудзи (усереднено по роках досліджень)

| № п/п | Вид рослини            | Кількість рослин, шт./м <sup>2</sup> |         |         | Середнє, М±m | Частка від загальної кількості рослин на ділянці, % |
|-------|------------------------|--------------------------------------|---------|---------|--------------|---|
|       |                        | 2007 р.                              | 2008 р. | 2009 р. |              |   |
| 1     | Щириця лободовидна     | 1,13                                 | 1,47    | 1,27    | 1,29±0,09    | 20,8  |
| 2     | Амброзія полинолиста   | 1,30                                 | 1,03    | 0,90    | 1,08±0,12    | 17,4  |
| 3     | Лобода біла            | 0,87                                 | 0,80    | 0,63    | 0,77±0,07    | 12,4  |
| 4     | Чорнощир нетреболистий | 0,57                                 | 0,87    | 0,47    | 0,64±0,12    | 10,3  |

Показники вмісту відновленого глутатіону у листі контрольних рослин усіх досліджуваних бур'янистих видів різнились несуттєво (табл. 2) та були одного порядку з літературними даними, наведеними для рослин арабідопсису [1], люпину [15] та ячменю [3], у яких глутатіон-залежна система є важливою ланкою антиоксидантного захисту.

Таблиця 2

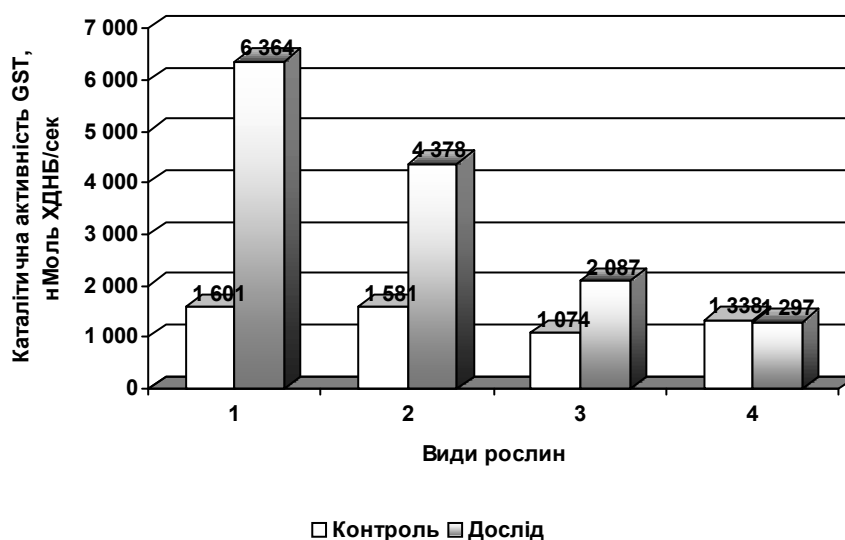
Вплив гербіциду харнес на вміст відновленого глутатіону (нмоль/г тканини) у листі бур'янистих рослин

| № п/п | Вид рослини            | Вміст глутатіону, нмоль/г тканини |              | р     | % до контролю |
|-------|------------------------|-----------------------------------|--------------|-------|---------------|
|       |                        | контроль                          | дослід       |       |               |
| 1     | Щириця лободовидна     | 259,36±17,84                      | 232,16±15,44 | 0,310 | 89,5          |
| 2     | Амброзія полинолиста   | 327,04±9,28                       | 302,72±12,36 | 0,191 | 92,6          |
| 3     | Лобода біла            | 243,04±7,20                       | 215,84±11,86 | 0,121 | 88,9          |
| 4     | Чорнощир нетреболистий | 324,32±7,05                       | 326,88±4,71  | 0,778 | 100,8         |

**Примітка.** Розбіжності достовірні при  $p < 0,05$ .

Обробка харнесом спричинила зниження вмісту відновленого глутатіону на 8–11% щодо контролю у листі рослин щиріці лободовидної, амброзії полинолистої, лободи білої, тоді як у листі рослин чорнощирю нетребололистого рівень глутатіону не змінився.

Установлено, що рівні каталітичної активності GST у листі контрольних рослин усіх видів бур'янистих рослин перебували в інтервалі 1,1-1,6 нанокатал (див. рисунок).



Вплив обробки гербіцидом харнес на рівень глутатіон-трансферазної активності (нмоль ХДНБ/сек.) у листі бур'янистих рослин: 1 – щиріця лободовидна; 2 – амброзія полинолиста; 3 – лобода біла; 4 – чорнощир нетребололистий.

Гербіцидна обробка спричинила достовірне зростання глутатіон-трансферазної активності в листі рослин щиріці (398% до контролю), амброзії (277% до контролю) та лободи (194% до контролю). У листі чорнощирю дія харнесу знижувала показник активності GST до 97% від контрольного рівня (недостовірна розбіжність).

Аналіз наведених результатів показав, що рівні відновленого глутатіону та каталітичної активності GST за контрольних умов у листі всіх видів дводольних бур'янів були близькими за значеннями, тоді як за дії гербіциду харнес виявилися неоднорідні зміни показників у досліджуваних бур'янів. Рослини щиріці лободовидної, амброзії полинолистої та лободи білої проявили здатність до значної активації глутатіон-трансферазної активності на фоні незначного зниження рівня відновленого глутатіону. Різкого зниження вмісту тіолового трипептиду не було зареєстровано, ймовірно, тому, що для аналізу відбирали листя не ювенільних (одразу після обробки гербіцидом), а іматурних рослин бур'янів. Незважаючи на це, можна дійти висновку, що зазначені зміни є свідченням функціонування механізму детоксикації гербіциду харнес шляхом кон'югації з глутатіоном за участю GST у листі щиріці, амброзії та лободи.

Водночас у листі рослин чорнощирю за дії гербіциду рівні відновленого глутатіону та глутатіон-трансферазної активності не зазнали змін, що може бути обумовлено відсутністю процесу кон'югації з глутатіоном. Необхідні додаткові дослідження, щоб

з'ясувати, в чому причина: у нездатності рослин чорнощирю до активації GST, відсутності відповідних ізоферментів GST для детоксикації молекул хлорацетаніліду (діюча речовина гербіциду харнес) або ж у функціонуванні якихось інших механізмів знешкодження гербіцидів.

Відомо, що в рослинних організмах сформовані декілька механізмів контролю гомеостазу та ліквідації індукованого токсикантами стресу. Вони включають транспортну систему, яка локалізує або ефективно виводить токсиканти, а також різноманітні ліганди, які зв'язують і знижують їхню токсичність: органічні кислоти, пептиди, фенольні сполуки [15]. Дослідження останніх років переконливо свідчать, що стійкі до несприятливих чинників рослини одночасно використовують декілька механізмів адаптації на різних рівнях [4]. Наприклад, рослини амброзії полинолістої, поряд із виявленням нами шляхом детоксикації деяких гербіцидів за участю глутатіон-S-трансферази [9], здатні до утворення їх кон'югатів з глюкозою [11]. Крім того, у рослинах амброзії виявлено високий вміст аскорбінової кислоти, яка є важливим компонентом антиоксидантної системи рослин, що також свідчить на користь існування у цього виду різних адаптивних механізмів [8].

На нашу думку, амброзія полиноліста не є винятком, і одночасне функціонування кількох механізмів антиоксидантного захисту може бути виявлене в інших адвентивних видах рослин, адже саме такі види при розширенні ареалу адаптувалися до різноманітних умов існування. Принаймні, серед досліджуваних нами найбільш поширених в агроценозах (тобто найбільш стійких до гербіцидів) дводольних бур'янів три види (щиреця лободовидна, амброзія полиноліста, чорнощир нетреболистий) є адвентивними, походженням з Північної Америки, а лобода біла – космополіт [7].

Таким чином, у польовому експерименті встановлено здатність щиреця лободовидної, амброзії полинолістої та лободи білої до значного підвищення рівня активності GST за дії харнесу, а відтак і до детоксикації гербіциду шляхом кон'югації з глутатіоном. Отримані результати пояснюють недостатню ефективність контролю бур'янів за допомогою самої обробки досходовим гербіцидом. Вивчення реакції чорнощирю нетреболистого на дію харнесу показало існування особливостей у функціонуванні глутатіон-залежної системи різних видів дводольних бур'янистих рослин.

1. *Войчик М., Павлюковская-Павлега Б., Тукиендорф А.* Физиологические и ультраструктурные ответы растений арабидопсиса на избыток меди и изменение уровня восстановленного глутатиона // Физиология растений. 2009. Т. 56. № 6. С. 906–916.
2. *Іващенко О. О.* Резерви гербології // Карантин і захист рослин. 2004. № 4. С. 12–14.
3. *Козел Н. В., Шальго Н. В.* Антиоксидантная система листьев ячменя при фотоокислительном стрессе, индуцированном бенгальским розовым // Физиология растений. 2009. Т. 56. № 3. С. 351–358.
4. *Лобачевська О. В.* Механізми толерантності рослин та їх адаптація до стресу // Наукові основи збереження біотичної різноманітності: Матеріали восьмої наук. конф. молодих учених. (5–6 листопада 2007 р., Львів). С. 25–33.
5. *Манівчук Ю. В.* Агросфера як компонент ноосфери та необхідність її екологізації в Карпатах // Екологія та ноосферологія. 2005. Т. 16. № 3–4. С. 95–102.
6. *Мордерер Е. Ю.* Избирательная фитотоксичность гербицидов / НАНУ, Ин-т физио-

- логии растений и генетики. К.: Логос, 2001. 240 с.
7. *Тарасов В. В.* Флора Дніпропетровської та Запорізької областей. Судинні рослини. Біолого-екологічна характеристика видів: Монографія. Дніпропетровськ: Вид-во ДНУ, 2005. 276 с.
  8. *Терек О. І., Пацула О. І.* Вивчення росту та розвитку рослин у Львівському національному університеті імені Івана Франка // Фізіологія рослин: Проблеми та перспективи розвитку: у 2 т. / НАН України, Ін-т фізіології рослин і генетики. К.: Логос, 2009. Т. 2. С. 602–611.
  9. *Хромих Н.* Дослідження участі глутатіон-S-трансферази амброзії полинолистої (*Ambrosia artemisifolia* L.) в детоксикації гербіцидів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2007. Вип. 44. С. 151–154.
  10. Экологическая физиология растений: Руководство к лабораторным и практическим занятиям / Уральский гос. ун-т им. А. М. Горького. Екатеринбург, 2008. 157 с.
  11. *Ballard T. O., Foley M. E., Baumann T. T.* Absorption, translocation and metabolism of imazethapir in common ragweed (*Ambrosia artemisifolia*) and giant ragweed (*Ambrosia trifida*) / *Weed Sci.* 1995. Vol. 43. P. 572–577.
  12. *Gronwald J. W., Fuerstb E. P., Eberleinb C. V., Eglib M. A.* Effect of herbicide antidotes on glutathione content and glutathione S-transferase activity of sorghum shoots // *Pesticide Biochem. Physiol.* 1987. Vol. 29. N 1. P. 66–76.
  13. *Gronwald J. W., Plaigance K. L.* Isolation and characterization of glutathione S-transferase isozymes from sorghum // *Plant Physiol.* 1998. Vol. 117. N 1. P. 677–692.
  14. *Jacoby W. B.* Glutathione Transferases: Methods in Enzymology // *Acad. Press. INC.* 1985. P. 495–510.
  15. *Vazquez S., Goldsbrought P., Carpenaa R. O.* Comparative analysis of the contribution of phytochelatins to cadmium and arsenic tolerance in soybean and white lupin // *Plant Physiol. Biochem.* 2009. Vol. 47. N 1. P. 63–67.

**CHANGES OF GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE ACTIVITY AND  
GLUTATHIONE CONTENT IN DICOTYLEDONOUS WEEDS'S LEAVES  
UNDER HERBICIDE HARNESS ACTION**

**N. Khromykh**

*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University  
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine  
e-mail: Khromykh58@rambler.ru*

Reaction of glutathione-dependent system of dicotyledonous weeds on herbicide harness treatment in field experiment was studied. Decreasing of reduced glutathione (GSH) content and enhancing of glutathione S-transferase (GST) activity 4-fold in *Amaranthus blitoides* leaves, 3-fold in *Ambrosia artemisifolia*, 2-fold in *Chenopodium album*, but absence of changes in *Iva xanthifolia* leaves were revealed. Harness detoxification mechanism due conjugation with glutathione in *A. blitoides*, *A. artemisifolia* and *Ch. album* was concluded. Functioning of several antioxidant mechanisms in adventives weeds discussed.

*Key words:* dicotyledonous weeds, glutathione S-transferase, glutathione, herbicides, antioxidant protection.

**ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОН- S-ТРАНСФЕРАЗЫ И  
СОДЕРЖАНИЯ ГЛУТАТИОНА В ЛИСТЬЯХ ДВУДОЛЬНЫХ СОРНЫХ  
РАСТЕНИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГЕРБИЦИДА ХАРНЕС**

**Н. Хромых**

*Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара  
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина  
e-mail: Khromykh58@rambler.ru*

В полевом эксперименте исследована реакция глутатион-зависимой системы двудольных сорных растений на действие гербицида харнес. На фоне снижения содержания восстановленного глутатиона (GSH) выявлено возрастание активности глутатион-S-трансферазы (GST) в листьях щирицы запрокинутой в 4 раза, амброзии полыннолистной почти в 3 раза, мари белой в 2 раза, а также отсутствие достоверных изменений в листьях циклахены. Сделан вывод о возможности детоксикации харнеса путем конъюгации с глутатионом в листьях щирицы, амброзии и мари. Обсуждена возможность одновременного существования нескольких механизмов антиоксидантной защиты у адвентивных растений.

*Ключевые слова:* двудольные сорные растения, глутатион-S-трансфераза, глутатион, гербициды, антиоксидантная защита.

Стаття надійшла до редколегії 01.03.10

Прийнята до друку 04.06.10