

УДК 581.141:632.954:612.015.1

## **ВПЛИВ ГЕРБІЦИДІВ НОВОГО ПОКОЛІННЯ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ НАСІННЯ КУКУРУДЗИ**

© 2011 р. **Н. О. Хромих, Г. С. Россихіна, В. В. Лашко**

*Науково-дослідний інститут біології*

*Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара*

*(Дніпропетровськ, Україна)*

Вивчали вплив гербіцидів нового покоління харнес, стеллар, майстер, пропоніт на фізіолого-біохімічні показники стиглого насіння *Zea mays* L. Установлено зменшення відносно контролю маси 1000 зерен, умісту розчинного білка, пулу відновленого глутатіону. Виявлено зміни у функціонуванні антиоксидантної системи (2-6-разове підвищення активності супероксиддисмутази на фоні зниження активності пероксидази і каталази) та зменшення активності глутатіон-S-трансферази. За дії гербіцидів показано суттєві зміни в поліпептидному складі білків насіння як у бік редукції, так і синтезу нових компонентів. Результати розглядаються як свідчення негативного впливу гербіцидів нового покоління на властивості зерна кукурудзи та доцільність тестування перспективних гібридів на чутливість до гербіцидів.

**Ключові слова:** *Zea mays* L., насіння, гербіциди, антиоксидантні ферменти, глутатіон, поліпептидний склад

У сучасному сільськогосподарському виробництві в Україні гербіцидна обробка посівів посідає провідне місце серед методів контролю чисельності бур'янів: витрати на гербіциди можуть становити до 15–20% собівартості вирощування (Рябченко та ін., 2000; Мордерер, 2001). Попри тривале застосування гербіцидних препаратів питання про екологічну безпеку та доцільність поширення такої практики наразі не має однозначної відповіді серед науковців. З одного боку, на 80% посівних площ рівень засміченості орного шару сягає 1,14-1,47 млрд. шт./га. Це призводить до зниження продуктивності культур внаслідок конкуренції, яку створюють бур'яни, на 20–50% для суцільних посівів і на 40–80% для посівів просапних культур (Іващенко, 2001). З іншого боку, про недостатню ефективність хімічного контролю чисельності бур'янів свідчать дослідження, в яких на фоні внесення гербіцидів у період 1991-2001 рр. сумарна засміченість орного шару ґрунту насінними зачатками зросла в 1,5 раза, а

засміченість насінням амброзії полинолистої – в 2,4 раза (Матюха та ін., 2003).

Окремого аналізу потребує проблема впливу гербіцидів на онтогенез культурних рослин. Розробники гербіцидних препаратів неодмінно вказують на відсутність токсичного ефекту відносно нецільових видів (Каталог ..., 2009). Проте дослідження дії широко застосовуваних у попередні роки гербіцидів виявили їхній негативний вплив: зниження лінійного росту, площі листової поверхні й насінневої продуктивності кукурудзи (Рябченко та ін., 2000); зростання стерильності пилку й зменшення обсягу фертильних пилкових зерен сорго (Огінова, 2006); накопичення залишкових кількостей 2,4-Д, хлорацетанлідних препаратів, атразину в органах злакових культурних рослин і стиглому зерні та суттєве погіршення якості врожаю (Коцюбинська, 1995). Серед шляхів зниження несприятливого впливу гербіцидів пропонується використання додаткових хімічних сполук – антидотів (Швартау, 1990).

Метою нашої роботи була індикація за фізіолого-біохімічними показниками стиглого насіння наслідків обробки посівів кукурудзи гербіцидами нового покоління, які містили у своєму складі антидот (майстер) або ж характе-

---

*Адреса для кореспонденції:* Хромих Ніна Олександрівна, НДІ біології Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна;  
e-mail: Khromykh58@rambler.ru

## ВПЛИВ ГЕРБІЦИДІВ

ризувалися високою селективністю за рахунок механізму токсичної дії (харнес, пропоніт, стеллар).

### МЕТОДИКА

Об'єктом дослідження було стигле насіння кукурудзи (*Zea mays* L.) середньораннього гібрида Оржиця 237 МВ. Польові експерименти проведено в 2010 р. згідно з (Методические..., 1980) на дослідних ділянках Інституту зернового господарства УААН (м. Дніпропетровськ) після попередника вико-вівсяної суміші. Грунтовий покрив – звичайні середньосуглинкові чорноземи, з умістом гумусу 4–5 %. Гербіциди вносили у таких дозах: харнес – 2,5 л/га; майстер і стеллар по 1,25 л/га; пропоніт – 2 л/га. Контроль – насіння кукурудзи, зібране на ділянках без гербіцидної обробки, з ручним виловуванням бур'янів. Аналізували середню пробу зерна з п'яти ділянок.

У стиглому зерні визначали активність супероксиддисмутази (СОД) за рівнем гальмування процесу відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) в присутності НАДН і феназинметасульфату (ФМС) згідно з (Переслегина, 1989). Реакційна суміш містила 1,2 мл 0,15 М Na-фосфатного буферу (рН 7,8), 0,1 мл 0,16 мМ ФМС, 0,3 мл 0,61 мМ НСТ, 0,3 мл супернатанту. Реакцію ініціювали додаванням 0,2 мл 1 мМ НАДН і зупиняли 1 мл льодяної оцтової кислоти.

Каталазну активність оцінювали за титриметричним методом (Плешков, 1968) і виражали в ммоль перекису водню, розкладеного за хвилину.

Активність пероксидази визначали за швидкістю реакції окиснення бензидину згідно з (Методы..., 1987) й виражали в умовних одиницях.

Для визначення активності глутатіон-S-трансферази (ГТ) за Яcobу (1985) реакційну суміш, яка містила 1 мл 0,1 М K-Na-фосфатного буферу (рН 8,0), 0,1 мл 0,02 М розчину відновленого глутатіону й 0,2 мл суперна-

танту, витримували в ультратермостаті 10 хв при 30°C. Ферментативну реакцію ініціювали додаванням 0,1 мл 0,02 М розчину 2,4-динітрохлорбензолу (ДНХБ), активність ферменту виражали в нмолях ДНХБ, перетвореного за 1 с (нкатал).

Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за (Руководство..., 2008), вимірюючи світлопоглинання реакційної суміші (2 мл 0,4 М Трис-буферу, рН 8,9, 1 мл небілкової фракції екстракту, 0,05 мл реактиву Елмана) при довжині хвилі 400 нм до та після інкубування при 37°C.

Розчинні білки зерна кукурудзи екстрагували 0,0125 М натрій-боратним буфером (рН 10) з додаванням 1% ДДС та 2% β-меркаптоетанолу і розділяли методом денатуруючого електрофорезу у градієнтному (10-20%) ПААГ за (Leammlі, 1970), використовуючи як маркери РНК-азу (15 kD), α-хімотрипсин (22,5 kD) та альбумін яєчний (43 kD). За показником молекулярної маси поліпептиди було умовно поділено на низько- (12-30 kD), середньо- (30-50 kD) та високомолекулярні (50-70 kD).

Вміст розчинного білка у зерні визначали загальноприйнятим методом (Bradford, 1976).

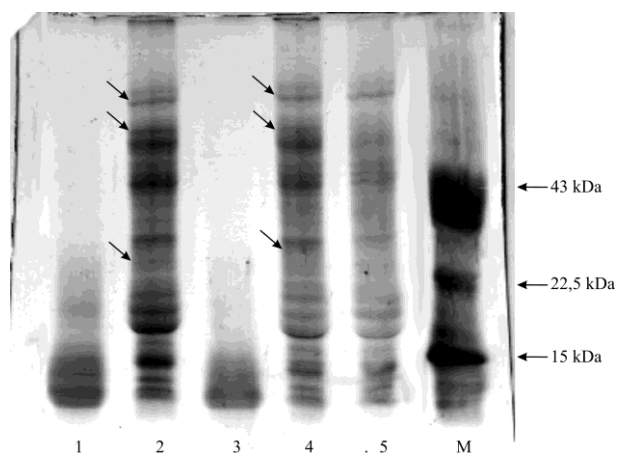
Статистичну обробку даних, отриманих у трьох аналітичних повтореннях, проведено за допомогою програми Microsoft Statistica 6.0, розбіжності між вибірками вважали значущими при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Обробка посівів гербіцидами спричинювала зменшення показників маси насіння та вмісту білка порівняно з контролем (табл. 1). Найменше зниження маси зерна (на 2,4 %) та вмісту білка (на 7,6 %) виявлено за дії харнесу, найбільше (відповідно на 4,2 % та 13,1 % відносно контролю) – за дії гербіциду майстер. Оскільки гібрид Оржиця 237 МВ рекомендовано як перспективний для вирощування на зерно (Державний..., 2009), відхилення від контроль-

Таблиця 1. Вплив гербіцидів на масу 1000 зерен і вміст розчинних білків у стиглому насінні кукурудзи гібрида Оржиця 237 МВ

Варіант обробки	Маса 1000 зерен, г	р	Вміст білка, (г/100 г борошна)	р
Контроль	205,6±2,6	-	1,72±0,01	-
Харнес, 2,5 л/га	200,8±2,4	0,435	1,58±0,01	0,010
Майстер, 1,25 л/га	197,1±2,5	0,002	1,49±0,00	0,002
Стеллар, 1,25 л/га	198,3±2,4	0,006	1,58±0,01	0,006
Пропоніт, 2,0 л/га	199,3±2,4	0,010	1,57±0,01	0,003



**Електрофореграма розчинних білків насіння кукурудзи гібрида Оржиця 237 МВ.**

1 – харнес; 2 – майстер; 3 – стеллар; 4 – пропоніт; 5 – контроль; М – маркери.

них показників внаслідок дії гербіцидів вказували на погіршення якості врожаю. Наші результати узгоджуються з даними проведених у різні роки досліджень впливу гербіцидів, зокрема, гліфосату, за дії якого було встановлено зниження енергії проростання та маси проростків гороху (Baig et al., 2003), а також зменшення сухої маси насіння квасолі (Brecke et al., 1980).

В електрофоретичному спектрі розчинних білків зерна кукурудзи виявлено досить суттєві кількісні й якісні зміни, індуковані впливом гербіцидів (рисунок). Кількість зон в

електрофоретичному спектрі (31 зона в контролі) не змінилась за дії майстера, зросла до 37 під впливом пропоніту та різко зменшилась за обробки харнесом й стелларом (відповідно до 13 та 6 зон). Вплив двох останніх гербіцидів призвів до зменшення вмісту або зникнення білків з середніми та високими значеннями Mr (від 30 до 74 kD). За дії пропоніту, навпаки, виявлено появу нових поліпептидів в інтервалі 59-74 kD (вказані стрілками на рисунку). Вплив майстера позначився на білках з середніми і низькими значеннями Mr: збільшився вміст існуючих у контролі компонентів спектра та виявлявся поліпептид 35,5 kD, зникали компоненти 34,7 і 40,7 kD. Ці ефекти свідчать про істотну перебудову у білковому метаболізмі рослин кукурудзи при формуванні насіння під впливом гербіцидів. Відомо, що зміни в експресії білків є характерною відповідною реакцією рослинних організмів на дію різноманітних стрес-факторів (Косаківська, 1996; Рябченко та ін., 2000).

Адаптивний потенціал рослинного організму за дії будь-якого чинника реалізується за умов координованого функціонування захисних ферментних систем. У насінні кукурудзи з оброблених гербіцидами посівів порівняно з контролем активність СОД підвищилася в 2,0–5,6 раза (табл. 2), що, як відомо, призводить до накопичення значної кількості перекису водню (Минибаева, Гордон, 2003). При цьому активність ферментів, які мали б знизити вміст ток-

**Таблиця 2. Вплив гербіцидів на активність антиоксидантних ферментів (СОД, каталази, пероксидази) у стиглому насінні кукурудзи гібрида Оржиця 237 МВ**

Варіант обробки	Активність СОД, відн.од/г борошна*хв	Р	Активність каталази, ммоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /г борошна*хв	Р	Активність пероксидази, відн.од/г борошна*хв	Р
Контроль	3,72±0,09	-	3,40±0,01	-	2,63±0,01	-
Харнес, 2,5 л/га	9,67±0,05	0,001	1,30±0,06	0,001	1,9±0,01	0,001
Майстер, 1,25 л/га	7,27±0,03	0,003	1,36±0,01	0,001	2,1±0,01	0,005
Стеллар, 1,25 л/га	20,82±0,29	0,005	1,18±0,01	0,001	1,16±0,01	0,001
Пропоніт, 2 л/га	7,31±0,07	0,002	1,41±0,03	0,002	1,2±0,01	0,003

**Таблиця 3. Вплив гербіцидів на вміст GSH та активність ГТ у стиглому насінні кукурудзи гібрида Оржиця 237 МВ**

Варіант обробки	Вміст GSH, нмоль/г борошна	р	Активність ГТ, нкатал/г борошна	р
Контроль	863±36	-	5,27±0,05	-
Харнес, 2,5 л/га	505±48	0,015	3,49±0,11	0,001
Майстер, 1,25 л/га	605±21	0,029	4,52±0,11	0,026
Стеллар, 1,25 л/га	636±12	0,042	3,06±0,02	0,001
Пропоніт, 2,0 л/га	545±84	0,043	4,24±0,11	0,021

## ВПЛИВ ГЕРБІЦИДІВ

сичної сполуки, була суттєво пригніченою: пероксидази в 1,3–2,3 рази, а каталази в 2,4–2,9 рази. Різностямовані зміни активності антиоксидантних ферментів було виявлено у листках кукурудзи різних ліній після обробки норфлуразоном (Jung, 2003), у 8-добових проростках пшениці після обробки паракватом (Ekmekci et al., 2005). Виявлені нами суттєві відхилення активності СОД, каталази й пероксидази у зерні вказують на порушення у функціонуванні однієї з важливих систем антиоксидантного захисту, що відбиває спричинене впливом гербіцидів послаблення захисних властивостей рослин кукурудзи та погіршення якості насіння.

Відомо, що рослини виду *Zea mays* здатні до біодеградації гербіцидів, які потрапили у клітини, через активацію глутатіон-залежної системи ферментів (Neuefeind et al., 1977), тому за станом компонентів цієї системи у зерні можна характеризувати реакцію рослин кукурудзи на гербіцидну обробку. Результати дослідження насіння гібриду Оржиця 237 МВ з оброблених гербіцидами посівів виявили зниження вмісту відновленого глутатіону в 1,4–1,7 рази та активності ГТ в 1,2–1,7 рази відносно контрольних рівнів (табл. 3), що вказує на зниження ефективності функціонування цієї захисної системи. Зменшення пулу відновленого глутатіону могло бути зумовлене як його витратами на кон'югацію з молекулами гербіцидів, так і порушенням процесу його біосинтезу. Однак, незалежно від причини, зменшення вмісту однієї з найважливіших низькомолекулярних тіолових сполук знижує редокс-статус рослинних клітин (Cuypers et al., 2001; Potters et al., 2010), що, як відомо, послаблює захисні властивості клітин та стійкість рослин до стрес-факторів.

Отримані результати дозволяють дійти висновку, що за дії гербіцидів у рослин кукурудзи гібрида Оржиця 237 МВ знижувалася здатність до активації досліджених ферментних систем та їх функціонування на рівні, який би забезпечив відновлення і підтримання гомеостазу. Процеси, спрямовані на корекцію такого становища, ймовірно, можуть спричинити активацію інших захисних систем рослинного організму. Наслідком таких метаболічних перебудов може бути посилення навантаження на клітинний метаболізм і послаблення життєвого ресурсу рослин кукурудзи, принаймні, у період формування зерна, що позначилось негативним чином на властивостях стиглого насіння.

Гібрид кукурудзи Оржиця 237 МВ зареєстрований в Україні тільки в 2010 р. (Держав-

ний..., 2010), тому нами наведено дані першого року довгострокового польового експерименту, які виявили чутливість до гербіцидів гібрида, що характеризується високою врожайністю та стійкістю до вилягання, холоду, посухи, шкідників, ураження хворобами. На нашу думку, результати дослідження вказують на доцільність тестування перспективних гібридів з метою виявлення ступеня негативного впливу нових гербіцидних препаратів на розвиток та продуктивність рослин.

## ЛІТЕРАТУРА

- Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні. – К., 2010. – 230 с.
- Іващенко О.О. Бур'яни в агрофітоценозах. Проблеми практичної гербології. – К., 2001. – 234 с.
- Каталог засобів захисту рослин. – К., 2009. – 78 с.
- Косаківська І.В. Особливості функціонування білкової системи в умовах стресу // Укр. ботан. журн. – 1996. – Т. 53, №3. – С. 238-251.
- Коцюбинская Н.П. Эколого-физиологические аспекты адаптации культурных растений к антропогенным условиям среды. – Днепропетровск: Изд-во ДГУ, 1995. – 173 с.
- Матюха Л.П., Матюха В.Л., Рябоволенко В.В. Бур'яни – алергени // Захист рослин. – 2003. – № 6. – С. 14-17.
- Методические рекомендации по проведению полевых опытов с кукурузой / Д.С. Филёв, В.С. Циков, В.И. Золотов и др. – Днепропетровск: ВНИИ кукурузы, 1980. – 54 с.
- Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
- Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х. Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 3. – С. 459-464.
- Мордерер Е.Ю. Избирательная фитотоксичность гербицидов. – Киев: Логос, 2001. – 240 с.
- Некрасова Г.Ф., Киселева И.С. Руководство к лабораторным и практическим занятиям: Экологическая физиология растений. – Екатеринбург: Изд-во Уральского гос. ун-та, 2008. – 157 с.
- Огінова І.О. Адаптивні реакції репродуктивної сфери сорго до дії гербіцидів // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Серія Біологія. Екологія. – 2006. – № 3/1. – С.135-140.

- Переслегина И.А.* Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С. 20-23.
- Плешков Б.П.* Практикум по биохимии растений. – М.: Колос, 1968. – 183 с.
- Рябченко Н.А., Коцюбинская Н.П., Домашнева Е.В. и др.* Адаптогенез растений к пестицидам. – Днепропетровск: Пороги, 2000. – 193 с.
- Швартау В. В.* Пути снижения отрицательного воздействия гербицидов на экосистемы // Экологические проблемы защиты растений: Конф. молодых ученых, 21-24 ноября 1990 г., Ленинград. – Л.: ВИЗР, 1990. – С. 168.
- Baig M.N., Darvent K.N., O'Donovan J.T.* Preharvest applications of glyphosate affect emergence and seedling grows of field pea (*Pisum sativum*) // Weed Technol. – 2003. – V. 14. – P. 655-665.
- Bradford M.M.* A rapid and sensitive method for the quantative of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – V. 72. – P. 248-254.
- Brecke B.J. Duke W.B.* Effect of glyphosate on intact bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) and isolated cells // Plant Physiol. – 1980. – V. 66. – P. 656-659.
- Cuypers A., Vangronsveld J., Clijsters A.* The redox status of plant cells (As and GSH) is sensitive to zinc imposed oxidative stress in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris* // Plant Physiol. Biochem. – 2001. – V. 39, Is. 7-8. – P. 657-664.
- Ekmerci Y., Terrioglu S.* Effect of oxidative stress induced by paraquat on wild and cultivated wheats // Pest. Biochem. Physiol. – 2005. – V. 83, Is. 2-3. – P.9-81.
- Jakoby W.B.* Glutathion transferases. // Methods in enzymology. – Acad. Press. INC, 1985. – P. 495-510.
- Jung S.* Effect of norflurason on responses of superoxid dismutase and catalase in a standard maize inbred line and superoxid dismutase mutant // J. Pest. Sci. – 2003. – V. 28. – P. 281-286.
- Laemmli U.K.* Cleavage of structural of bacteriophage T-4 // Nature. – 1970. – V. 227. – P. 680-685.
- Neuefeind T., Reinemer P., Bieseler B.* Plant glutathione S-transferases and herbicide detoxification // Biol. Chem. – 1977. – V. 378. – P. 199-205.
- Potters G., Horemans N., Jansen M.A.K.* The cellular redox state in plant stress biology – A charging concept. // Plant Physiol. Biochem. – 2010. – V. 48, Is. 5. – P. 292-300.

Надійшла до редакції  
21.03.2011 р.

## **INFLUENCE OF HERBICIDES OF NEW GENERATION ON PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL INDEXES OF CORN SEEDS**

**N. O. Khromykh, G. S. Rossikhina, V. V. Lashko**

*Biology Research Institute  
of Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University  
(Dnipropetrovsk, Ukraine)*

The influence of crops treatment by herbicides harness, stellar, mayster, proponit to the seed's metabolic properties was studied. In comparison to control, the decrease of 1000 seeds weight; soluble protein content and reduced glutathione pool was estimated. The changes in antioxidant system functioning (2-6-fold increasing of superoxid dismutase activity during decrease of catalase and peroxidase activity) and decrease of glutathione-transferase activity were indicated. The essential changes in corn seed's polypeptides content with both reduction and synthesis of new components under herbicides action were shown. The results suggest the negative herbicides action to the corn seed's properties and testify to necessity of perspective hybrid's herbicides sensitivity testing.

**Key words:** *Zea mays* L., seeds, herbicides, antioxidant enzymes, glutathione, polypeptides content

**ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ  
НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ**

**Н. А. Хромых, А. С. Россихина, В. В. Лашко**

*Научно-исследовательский институт биологии  
Днепропетровского национального университета им. Олеся Гончара  
(Днепропетровск, Украина)*

Изучали влияние гербицидов нового поколения харнес, стеллар, майстер, пропонит на физиолого-биохимические показатели спелого зерна *Zea mays* L. Установлено уменьшение относительно контроля массы 1000 зерен, содержания растворимого белка, пула восстановленного глутатиона. Выявлены изменения в функционировании антиоксидантной системы (2-6-кратный рост активности супероксиддисмутазы на фоне снижения активности пероксидазы и каталазы) и уменьшение активности глутатион-трансферазы. Под действием гербицидов показаны существенные изменения полипептидного состава белков зерна кукурузы как в сторону редукции, так и синтеза новых компонентов. Результаты рассматриваются как свидетельство отрицательного влияния гербицидов нового поколения на свойства зерна кукурузы и целесообразности тестирования перспективных гибридов на чувствительность к гербицидам.

**Ключевые слова:** *Zea mays* L., семена, гербициды, антиоксидантные ферменты, глутатион, полипептидный состав