

УДК 632.95.025.8 + 577.152.9

## ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ АМБРОЗІЇ ПОЛИНОЛИСТОЇ (*AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA* L.) В АДАПТАЦІЇ ДО ГЕРБІЦИДНОГО СТРЕСУ

Н. О. Хромих, Л. В. Матюха

*Дослідження ролі супероксиддисмутази амброзії полинолистої (*Ambrosia artemisiifolia* L.) в адаптації до гербіцидного стресу. — Н. О. Хромих<sup>1</sup>, Л. В. Матюха<sup>2</sup>. — В польовому досліді визначено шкодочинність амброзії полинолистої (*Ambrosia artemisiifolia* L.) в агроценозах кукурудзи (*Zea mays* (L.) гібриду Кадр 267 МВ. Досліджено вплив гербіцидів різних класів на рівень активності супероксиддисмутази (СОД) в листі та корінні амброзії. З'ясовано залежність активності ферменту як від механізмів токсичної дії гербіцидів, так і від фази онтогенезу рослин бур'яну. Робиться висновок про вагомую роль СОД в адаптації амброзії до оксидативного стресу, спричиненого гербіцидною обробкою.*

**Ключові слова:** *Ambrosia artemisiifolia* (L.), *Zea mays* (L.), агроценоз, гербіциди, оксидативний стрес, адаптація, супероксиддисмутаза.

**Адреси:** <sup>1</sup>— Дніпропетровський національний університет, НДІ біології вул. Наукова, 13, 49050, м. Дніпропетровськ, Україна, e-mail: bti@ff.dsu.dp.ua; <sup>2</sup>— Інститут зернового господарства УААН вул. Держинського, 14, 49027, м. Дніпропетровськ, Україна, e-mail: corn@a-teleport.com

*Investigation Of Role Of Ambrosia Artemisiifolia Superoxid Dismutase In Adaptation To Herbicidal Stress. — N. O. Hromih, L. V. Matiuhia. — In field experiment the detriment of Ambrosia artemisiifolia in maize agrocoenoses was defined. The influence of different classes of herbicides to superoxid dismutase activity in ambrosia leaves and roots was investigated. The dependence of enzymatic activity both from herbicidal mode of action and ontogenesis phase of ambrosia was revealed. The role of superoxid dismutase in adaptation of ambrosia plants to herbicidal stress was discussed.*

**Key words:** *Ambrosia artemisiifolia* (L.), *Zea mays* (L.), agrocoenose, herbicides, oxidative stress, adaptation, superoxid dismutase.

### Вступ

Зниження забур'яненості посівів культурних рослин є актуальною проблемою в сучасному землеробстві України. В зоні Степу зафіксовано 1,41–1,71 млрд. шт./га насіння бур'янів в орному шарі ґрунту. Кукурудза належить до високоврожайних культур багатопланового використання, але має низьку конкурентну здатність, і присутність бур'янів в її посівах призводить до зниження врожаю в 1,5–2 рази. Одна з найбільш шкодочинних бур'янових рослин для кукурудзи – адвентивна амброзія полинолиста [9; 13]. В системі заходів по контролю чисельності бур'янів в агроценозах важливе місце посідає гербіцидна обробка, але ефективність цього методу знижує поява резистентних до гербіцидів біотипів бур'янів на полях із щорічним внесенням тих саме препаратів. Гербіцидрезистентні біотики знайдені в 52 країнах світу [15], відмічено їх формування серед популяцій лободи білої (*Chenopodium album* L.) та плоскухи звичайної (*Echinochloa crus-galli*(L.) Pal. Beauv.) і в Україні [5]. Феномен резистентності потребує всебічного вивчення, зокрема дослідження метаболічних особливостей стійких до гербіцидів рослин [1; 5]. Відомо, що вплив ксенобіотиків викликає в рослинних організмах значні відхилення від нормального рівня відновно-окиснювальних процесів, і внаслідок

до цього – посилення генерації активних метаболітів кисню (АМК) [6; 7; 10–12]. Для нейтралізації пошкоджуючої дії АМК рослинні клітини містять захисні неферментативні і ферментативні системи. До ферментів першої лінії захисту відноситься супероксиддисмутаза (СОД) (КФ 1.15.1.1), яка каталізує реакцію дисмутації супероксиданіону в перекис водню. Рівень активності СОД є одним з показників неспецифічної резистентності організму. Тому метою роботи було дослідити вплив гербіцидної обробки на активність ферменту в корінні та листі амброзії полинолистої в різних фазах онтогенезу рослин.

### Матеріали та методи.

Дослідження проводили в агроценозах кукурудзи гібриду Кадр 267 МВ на дослідних ділянках Інституту зернового господарства УААН в 2001–2004 роках за Доспеховим [3]. Вплив рослин амброзії полинолистої на зернову продуктивність кукурудзи вивчали на ділянках по 4 м<sup>2</sup> в 6 повторностях. На контрольних ділянках не росло ніяких бур'янів, на дослідних – тільки рослини амброзії полинолистої. Матеріал для визначення ферментативної активності отримували в посівах кукурудзи на ділянках 30,8 м<sup>2</sup>. Рослини амброзії відбирали на конт-

рольній ділянці (природна засміченість, без внесення гербіцидів) та ділянках, оброблених гербіцидами харнес (2,5 л/га), фронт'єр (1,5 л/га), мерлін (125 г/га), 2,4–Д (1,0 л/га), камбіо (2,5 л/га). Активність СОД визначали за методикою Дубіної та ін. [4], рахували як ступінь інгібування реакції відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) в присутності НАДН і феназінметасульфата (ФМС) і обчислювали в умовних одиницях на мг білка. Наважку рослинної тканини 0,2 г гомогенізували в 2 мл дистильованої води, центрифугували 20 хв. при 16 тис. об/хв. Реакційна суміш містила 1,2 мл фосфатного буфера; 0,1 мл ФМС; 0,3 мл НСТ; 0,2 мл НАДН; 0,3 мл супернатанту. Оптичну гушину зразків вимірювали при 540 нм. Вміст білка визначали за Bradford [14]. Результати опрацьовано статистично за допомогою пакету Microsoft Statistica v.5.5A з довірчим рівнем 5 %.

### Результати та обговорення

Усереднені результати трирічного польового експерименту по визначенню шкодочинності амброзії полинолістої в агроценозах кукурудзи представлені в таблиці 1.

Як бачимо, присутність навіть однієї рослини бур'яну на 1 м<sup>2</sup> ділянки викликала помітне зниження врожаю культури. Зростання кількості бур'янів супроводжувалось більшими втратами врожаю; крім того, зважаючи на високу (до 100 тис. шт. насіння з рослини) генеративну продуктивність амброзії [8], слід брати до уваги збільшення потенційної засміченості орного шару [9]. За таких обставин стає безсумнівною необхідність розробки заходів по контролю чисельності амброзії в агроценозах, зокрема шляхом використання найбільш ефективних гербіцидів, які здатні знижувати активність захисних систем бур'яну.

Результати визначення активності СОД в корінні і листі амброзії в початковій фазі онтогенезу (1–2 пари справжніх листків) та фазі стеблуння (5–6 пар справжніх листків) представлені на Рис. 1,2.

В дослідях з'ясовано, що за контрольних умов активність СОД в 4,0–4,6 рази вища в корінні, ніж в листі в обох фазах розвитку рослин. І в корінні, і в листі ферментативна активність має тенденцію до зростання протягом онтогенезу. Очевидно, це пояснюється посиленням метаболічних (в тому числі окисно–відновних) процесів в рослинах в період активної вегетації.

Вплив ґрунтових гербіцидів (харнес, фронт'єр, мерлін) призвів уже в ранній фазі онтогенезу до помітного зростання ферментативної активності в корінні рослин. Особливим чином це стосується мерліну, який викликав збільшення активності СОД до 501,53 % від контролю в початковій фазі та до 227,93 % в фазі стеблуння. Дія харнесу і фронт'єру супроводжувалась більшим зростанням ферментативної активності не в першій, а в другій фазі розвитку рослин (відповідно до 218,83 % і

158,48 % від контролю). Слід зробити висновок, що адаптація рослин амброзії до ґрунтових гербіцидів потребує зростання активності СОД в корінні рослин на досить тривалий термін. В дослідженнях на корінні пшениці показано, що редокс-система плазмалеми коріння рослин здатні продукувати супероксид, який приймає участь в детоксикації деяких ксенобіотиків [2]. Можна зробити припущення, що такий механізм має універсальний характер, і саме у зв'язку з окисненням молекул гербіцидів в плазмалемі коріння амброзії збільшується кількість супероксиду, що індукує зростання активності СОД. В листі оброблених ґрунтовими гербіцидами рослин амброзії відмічено зростання ферментативної активності до 129,74 – 333,12 % від контролю в ранній фазі розвитку з поступовим зниженням активності до 102,68 – 175,98 % в фазі стеблуння. За дії харнесу в фазі стеблуння рівень активності СОД був навіть нижчим за контрольний на 26,56 %. Очевидно, в листі активно вегетуючих рослин, що певним чином адаптувались до дії фронт'єру та мерліну, рівень утворення супероксиду поступово нормалізується. Зниження активності СОД за дії харнесу в тій же фазі розвитку рослин можна пояснити накопиченням речовин, що взаємодіють з іонами металів в активному центрі ферменту, або ж зростанням концентрації перекису водню. Оскільки падіння активності СОД в асимілюючих органах рослин розцінюється як зниження ефективності захисних механізмів [7], можна вважати, що дія харнесу знизила адаптаційні можливості амброзії полинолістої.

Післясходові гербіциди (2,4–Д та камбіо) вносились в фазі 5–7 листків культури, коли кукурудза ще не сформувала зімкнутого листового покриву; тому препарати частково потрапляли на листя бур'яну, а частково – через ґрунт в коріння. За дії 2,4–Д відмічено різке зростання активності СОД в корінні та листі рослин в ранній фазі розвитку (до 325,06 % та 406,50 % відповідно). Протягом онтогенезу фермент втрачає активність в корінні до 30,54 % від контролю, а в листі активність СОД хоча і знижується порівняно з ранньою фазою розвитку, але залишається більше контрольної на 86,90 %. Вплив камбіо помітно низив рівень ферментативної активності в корінні в обох фазах онтогенезу рослин ( відповідно до 61,36 % і 47,78 % від контролю); в листі амброзії гербіцид спричинив в ранній фазі розвитку незначне ( до 117,20 % від контролю) підвищення активності СОД, яке змінилось в фазі стеблуння зниженням активності до 85,20 % від контролю. В цілому, вплив камбіо був негативним щодо ферментативної активності як в корінні, так і в листі оброблених рослин амброзії полинолістої в обох фазах розвитку. Причина може полягати в тому, що цей препарат містить дві активні хімічні речовини (бентазон і дикамба), що посилює фітотоксичну дію гербіциду.

Таблиця 1. Вплив амброзії на продуктивність кукурудзи (усеред. за 2001–2003 р.р.)

Варіант дослідю	Урожайність зерна кукурудзи, ц/га	Відносно контролю, ц/га	Відносно контролю, %
Контроль (без амброзії та інших бур'янів)	48,083 ± 2,204	–	–
Амброзія, 1–2 шт. / м <sup>2</sup>	40,583 ± 1,989	– 7,5	– 15,60
Амброзія, 3–4 шт. / м <sup>2</sup>	36,721 ± 1,873	– 11,36	– 23,63
Амброзія, 5–6 шт./ м <sup>2</sup>	32,570 ± 1,694	– 15,51	– 32,26

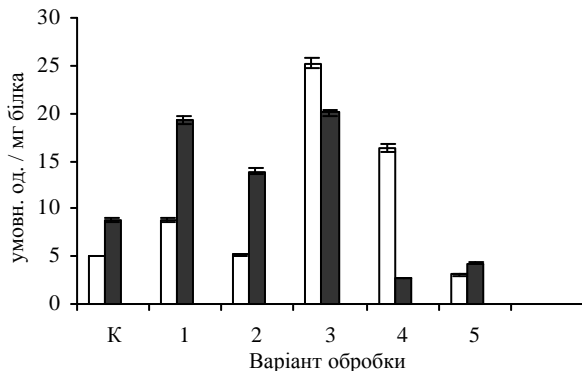


Рис. 1. Питома активність СОД (умовн.од. / мг білка) в корінні амброзії полинолістої в фазі 2 справжніх листків (світла) і в фазі стеблуння (темна) без обробки (К) та за дії гербіцидів харнес (1), фронтьєр (2), мерлін (3), 2,4–Д (4), камбіо (5).

Таким чином, в польовому досліді показано шкодочинність амброзії полинолістої в агроценозах кукурудзи та визначено залежність втрат урожаю культури від кількості рослин бур'яну. З'ясовано, що адаптація амброзії до гербіцидної обробки потребує значної активації СОД як в корінні, так і в листі рослин, що вказує на важливе місце

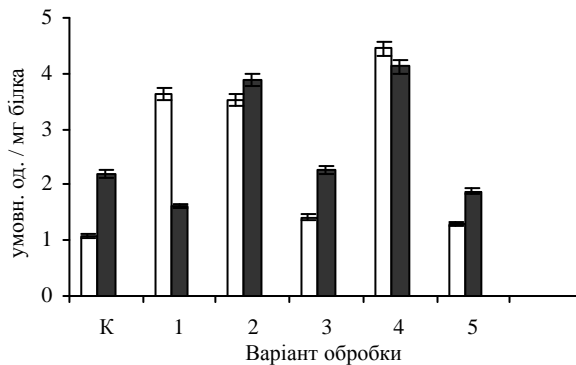


Рис.2. Питома активність СОД (умовн. од. / мг білка) в листі амброзії полинолістої в фазі 2 справжніх листків (світла) і в фазі стеблуння (темна) без обробки (К) та за дії гербіцидів харнес (1), фронтьєр (2), мерлін (3), 2,4–Д (4), камбіо (5).

досліджуваного ферменту в системі захисту бур'яну від оксидативного стресу внаслідок дії ксенобіотиків. Серед використаних в досліді гербіцидів найбільшим чином пригнічували ферментативну активність в корінні і листі бур'яну препарати ґрунтової дії харнес і фронтьєр і післясходовий гербіцид камбіо.

1. Борона В. П., Задорожний В. С. Гербологія : проблеми розвитку // Захист рослин. 2003. – № 11. – С. 21–22.
2. Гордон Л. Х., Колесников О. П., Минибаева В. Ф. Образование супероксида редокс-системой плазмалеммы корневых клеток и ее участие в детоксикации ксенобіотиков // Доклады Академии наук. 1999. – Т. 367, № 3. – С. 409–411.
3. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1985. – 416 с.
4. Дубинина Е. Е., Сальникова Л. А., Ефимова Л. Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лабораторное дело. – 1983. – № 6. – С. 24–27.
5. Іващенко О. О. Резерви гербології // Карантин і захист рослин. – 2004. – № 5. – С. 13–14.
6. Йорданова Р. І., Алексієва В. С., Попова Л. П. Влияние затопления корневой системы на фотосинтез и содержание антиоксидантов в растениях ячменя // Физиология растений. – 2003. – Т. 50., № 2. – С. 183–187.
7. Коршиков И. И. Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. – К.: Наукова думка, 1996 – 238 с.
8. Марьюшкіна В. Я., Бурда Р. І., Ткач Е. Д. Рекомендации по фитогенетическому контролю амброзии полыннолистной в Украине. – К., 2003. – 16 с.

9. Матюха Л. П., Матюха В. Л., Рябоволенко В. В. Бур'яни-алергени // Захист рослин. – 2003. – № 6. – С. 14–17.
10. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи соврем. биол. – 1993. – Т.113, № 4. – С. 442–454.
11. 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.
12. Островская Л. К. Супероксидный радикал при дефиците металлов и симптомах хлороза // Физиол. и биохим. культ. растений. – 1993. – Т. 25, № 2. – С. 107–113.
13. Циков В. С. Кукуруза: технология, гибриды, семена. – Днепропетровск: Зоря, 2003. – 296 с.
14. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantative of microgram quantatics of protein utilizing the principle of protein–dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – Vol., 2. – P. 248–254.
15. Jander G., Baerson S. R., Hudak J. A., et all. Ethylmethanesulfonate saturation mutagenesis in arabidopsis to determine frequency of herbicide resistance // Plant. Physiol. – 2003. – Vol. 131. – P. 139–146.

Отримано: 10 січня 2004 р.

Прийнято до друку: 3 червня 2006 р.