

УДК 581.131:632.9

## СОДЕРЖАНИЕ SH-ГРУПП В КОРНЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ И ОБРАБОТКИ ФУНГИЦИДОМ

Сандецкая Н.В., Карлова А.Б, Богдан М.М.

**Вміст SH-груп у корнях озимої пшениці залежно від умов мінерального живлення та обробки фунгіцидом. - Н.В. Сандецька, Г.Б. Карлова, М.М. Богдан.** - Позакоренева обробка сіркою і фосфором 14-денних проростків рослин озимої пшениці сорту Смуглянка призводить до збільшення вмісту SH-груп у корнях. Найбільш значний ефект дала обробка  $KH_2PO_4$  (100 мкМ), при якій вміст сульфгідрильних груп у корнях підвищувався на 34 %. Розчинення поживної суміші призводить до відповідного зниження вмісту SH-груп в корнях. При обробці фунгіцидом Амистар Екстра 280 SC з 0,12 мМ ортофосфату в поживному розчині спостерігалось збільшення вмісту SH-груп у корнях на 29 %. Запропоновано використання методики визначення вмісту сульфгідрильних груп, як методу діагностики ферментної активності рослинної тканини або органу.

**Ключові слова:** озима пшениця (*Triticum aestivum* L.), сульфгідрильні групи, сірка, фосфор, фунгіцид.

**Адреса:** Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, 3022, Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: lsnv@ukr.net, karlova\_anna@mail.ru

**Content of the SH-groups in roots of winter wheat depending on the conditions of mineral nutrition and treatments of fungicides. - N.V. Sandetskaya, A.B. Karlova, M.M. Bogdan.** - Foliar treatment of sulfur and phosphorus 14-day seedlings of winter wheat varieties Smuglyanka leads to an increase in the content of SH groups in the roots. The strongest effect of treatment given  $KH_2PO_4$  (100 mM) at which the content of sulfhydryl groups in the roots was increased by 34 %. Dilution of nutrient solution reduces the content of SH-groups in the roots. When treatment the fungicide Amistar Extra 280 SC with the orthophosphate of 0.12 mM in the nutrient solution to increase in the content of SH-groups in the roots increased by 29 %. The method for determining the use of content sulfhydryl groups as a method for diagnosis of enzyme activity of plant tissue or organ was proposed use.

**Key words:** winter wheat (*Triticum aestivum* L.), sulfhydryl groups, sulfur, phosphorus, fungicide.

**Address:** Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine 03022, 31/17, Vasilkivska st., Kyiv, e-mail: lsnv@ukr.net, karlova\_anna@mail.ru

### Введение

Одной из ключевых задач земледелия является повышение продуктивности культурных растений. Тесная зависимость урожайности зерновых и других сельскохозяйственных культур от уровня применения минеральных удобрений доказана многолетним опытом ведения земледелия [2, 3].

Усовершенствование технологий выращивания, сбалансирование систем питания, достижения высоких коэффициентов усвоения питательных веществ являются важными составляющими повышения урожайности наряду с созданием новых сортов с высоким генетическим потенциалом продуктивности [3].

Разработка новых подходов к регуляции и раскрытию потенциала продуктивности сельскохозяйственных растений имеет

стратегическое значение для сельского хозяйства сегодня. Одним из таких подходов на уровне клетки является субстрат-ферментное взаимодействие, его регуляция, а так же методы диагностики ферментной активности растительной ткани или органа. В качестве такого показателя нами предложено исследование содержания серосодержащих (сульфгидрильных) групп, что может иметь диагностическую ценность. Каталитическая роль сульфгидрильных групп (SH-групп), ферментов хорошо известна. SH-группы участвуют в образовании промежуточных соединений с субстратами (или их остатками), или в переносе электронов и протонов от субстратов к акцепторам (в некоторых окислительных ферментах). SH-группы обладают высокой и разнообразной реакционной способностью: легко окисляются с

образованием дисульфидов, сульфеновых, сульфидных или сульфокислот; легко вступают в реакции алкилирования, ацилирования, тиол-дисульфидного обмена, образуют меркаптиты (при реакции с ионами тяжёлых металлов), меркаптаны, меркаптолы (при реакции с альдегидами и кетонами). Сульфгидрильные группы играют важную роль в биохимических процессах. SH-группы кофермента А, липоевой кислоты и 41-фосфопантотеина участвуют в ферментативных реакциях образования и переноса ацильных остатков, связанных с метаболизмом липидов и углеводов; SH-группы глутатиона - в обезвреживании чужеродных органических соединений, восстановлении перекисей и в осуществлении коферментных функций. В составе активных центров ряда ферментов SH-группы участвуют в их каталитическом действии, в связывании субстратов, коферментов и ионов металлов. Блокирование SH-групп при помощи специфичных реагентов вызывает частичное или полное торможение активности многих ферментов. Дисульфидные связи (-S-S-) играют важную роль в стабилизации структуры белков, в том числе ферментов, антител и некоторых гормонов, которые образуются при окислении SH-групп в процессе биосинтеза белков. Расщепление дисульфидных связей приводит к нарушению нативной структуры белков и утрате ими биологической активности [5, 8, 10, 11].

Величины концентраций анионов – ортофосфата и сульфата в растениях могут существенно влиять на количество SH-групп. Фосфор в большинстве почв Земного шара содержится в труднодоступной минеральной и органической форме. Его концентрация в почвенном растворе обычно низкая (от 2 до 10 мкм), поэтому он является одним из самых труднодоступных грунтовых микроэлементов, который может лимитировать урожайность растений. Усложняет усваивание фосфора растениями также очень низкая скорость его диффузии в почве: она складывается всего от 10-12 до 10-15 м<sup>2</sup>/сек., вследствие чего прикорневая зона растений быстро истощается по содержанию этого элемента [7]. Большая часть необходимой растениям серы поглощается корнями в форме сульфата (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>). Сера включается в аминокислоты цистеин, цистин и метионин, фосфор — в аденозинтрифосфат (АТФ) и др. аденозинфосфаты, играющие ключевую роль в энергетическом обмене клетки, а также в фосфолипиды клеточных мембран и в нуклеиновые кислоты [13]. Так же, сера повышает эффективность использования других питательных веществ растениями, в особенности азота и фосфора.

Чаще всего дефицит сульфатов наблюдается на глиняных и суглинистых почвах, но наиболее

подвержены дефициту серы почвы, которые удобрялись постоянно такими веществами, как мочевины, аммиачная селитра, тройной суперфосфат, диаммонийфосфат, аммиачная вода и безводный аммиак. Перечисленные удобрения содержат серу в малых количествах или вообще ее не содержат [4].

Дефицит серы снижает уровень синтеза протеинов, скорость протекания фотосинтеза, окислительное фосфорилирование и образование хлорофилла. Содержание серы в белках относительно небольшое: в большинстве случаев оно составляет от 0,5 до 2,5 %. Однако сера в белках, встречающаяся в разных формах вносит значительный вклад в реакционную способность белковых молекул и стабилизацию их структуры [6, 8, 10].

Получение высоких урожаев также неразрывно связано с применением современных фунгицидов. Перспективами развития в этом направлении являются введение многокомпонентных препаратов для обработки семян и внекорневой обработки, синтез новых эффективных соединений. Одним из проявлений механизма защитного действия многих классов фунгицидов может быть влияние на изменения содержания SH-групп в растениях.

Таким образом, целью нашей статьи было проследить зависимость между уровнем сульфгидрильных групп в корнях пшеницы в зависимости от условий минерального питания и действия фунгицида.

### Методика работы

Растения озимой пшеницы сорта Смуглянка выращивали методом водной культуры в лабораторных условиях. В качестве питательной смеси использовали среду Хоглэнда-Арнона (Х-А). Условия выращивания: температура воздуха в помещении 25°С / 20°С день / ночь.

Варианты опыта были следующими:

I. Среду Хоглэнда-Арнона разводили 1:10 дистиллированной водой. Проростки озимой пшеницы в фазе двух листьев обрабатывали по следующей схеме: 1 - 1/10 Х-А (контроль); 2 - 1/10 Х-А + внекорневая обработка К<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,0 мкМ); 3 - 1/10 Х-А + внекорневая обработка К<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,1 мМ); 4 - 1/10 Х-А + внекорневая обработка КН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10 мкМ); 5 - 1/10 Х-А + внекорневая обработка КН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (100 мкМ); 6 - 1/10 Х-А + внекорневая обработка К<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,0 мкМ) + КН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10 мкМ);

II. Среду Хоглэнда-Арнона разводили 1/2 дистиллированной водой. Обработку проводили в фазе двух листьев по следующей схеме: 1 - 1/2 Х-А (0,12 мМоль/л Р) (контроль); 2 - 1/2 Х-А+1/4 Р (0,06 мМоль/л Р); 3 - 1/2 Х-А (0,12 мМоль/л Р) + обработка 10<sup>-3</sup> М Амистар Экстра 280 SC; 4 - 1/2 Х-А+1/4 Р (0,06 мМоль/л Р) + обработка 10<sup>-3</sup> М Амистар Экстра 280 SC. Биологическая и

аналитическая повторяемость были четырехкратными.

14-дневные проростки озимой пшеницы, выращенные в одинаковых условиях, были использованы для определения количества сульфгидрильных групп по методике Велча и Норвела [12]. Данная методика основана на использовании реактива Элмана. Реактив Элмана или 5,5'-дитиобис (2-нитробензойная кислота) (ДТНБ) может вступать в реакцию с SH-группами белков и пептидов. В результате образуется 5-тио-2-нитробензойный анион, окрашивающий раствор в интенсивно желтый цвет. Раствор объемом 50 мл, который содержал 0,2 М Трис-HCl и 0,02 М Na-ЭДТА (pH 8,2), переносили в мерную колбу и в течение 10 мин. продували аргоном, перед прибавлением 1мл 5,5'-дитиобис (2 нитробензойной кислоты). ДТНБ не проникает через клеточную мембрану и реагирует с сульфгидрильными группами на внешней поверхности плазматической мембраны [6].

Корни 4-х растений были погружены в приготовленный раствор на 15 мин. Оптическая плотность раствора определялась спектрофотометрически при длине волны 412 нм. Калибровочную кривую строили по глутатиону.

Результаты обработаны статистически [1].

### Результаты и обсуждение

Количественное определение содержания сульфгидрильных групп в корнях озимой пшеницы показало зависимость их содержания от концентрации веществ в питательном растворе. Разбавление питательного раствора приводило к соответствующему снижению содержания SH-групп в корнях (рис. 1, 2). Обработка разными концентрациями сульфата и ортофосфата, а также фунгицидом приводила к увеличению содержания SH-групп в корнях озимой пшеницы (рис.1).

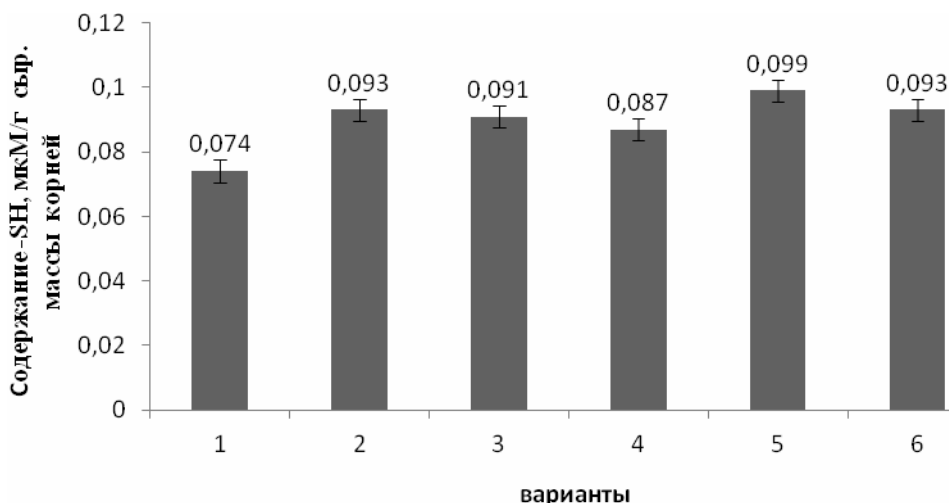


Рис.1. Влияние внекорневой обработки разными концентрациями серы и фосфора на содержание SH-групп в корнях озимой пшеницы сорта Смуглянка: 1 - 1/10 X-A; (контроль) 2 - 1/10 X-A + K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,0 мкМ); 3 - 1/10 X-A + K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,1 мМ); 4 - 1/10 X-A + KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10 мкМ); 5 - 1/10 X-A + KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (100 мкМ); 6 - 1/10 X-A + K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,0 мкМ) + KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10 мкМ)

Fig.1. Effect of foliar treatment of different concentrations of sulfur and phosphorus on content of SH-groups in the roots of winter wheat Smuglyanka variety: 1 - 1 / 10 X-A, (control) 2 - 1 / 10 X-A + K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,0 mM), 3 - 1 / 10 X-A + K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,1 mM), 4 - 1 / 10 X-A + KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10 mM), 5 - 1 / 10 X-A + KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (100 mM), 6 - 1 / 10 X-A + K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,0 mM) + KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10 mM)

Согласно полученным данным, внекорневая обработка KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (100 мкМ) приводила к увеличению содержания SH-групп на 34 %. Обработка (1,0 мкМ K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), (1,0 мкМ K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 10 мкМ KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) приводила к повышению содержания SH-групп на 26 %. А обработка KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10 мкМ) приводила к увеличению содержания SH-групп - 18 %. Максимальный эффект дала внекорневая обработка 100 мкМ KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, что в данном случае, свидетельствует

о возможном повышении ферментативной активности в тканях корня.

При обработке проростков озимой пшеницы фунгицидом наблюдалось увеличение содержания SH-групп в корнях, величина которого изменялась в зависимости от содержания фосфора в питательном растворе (рис. 2). Обработка препаратом Амистар Экстра 280 SC при содержании в питательной среде 0,12 мМ KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> приводила к увеличению содержания SH-групп в корнях на 29 %.

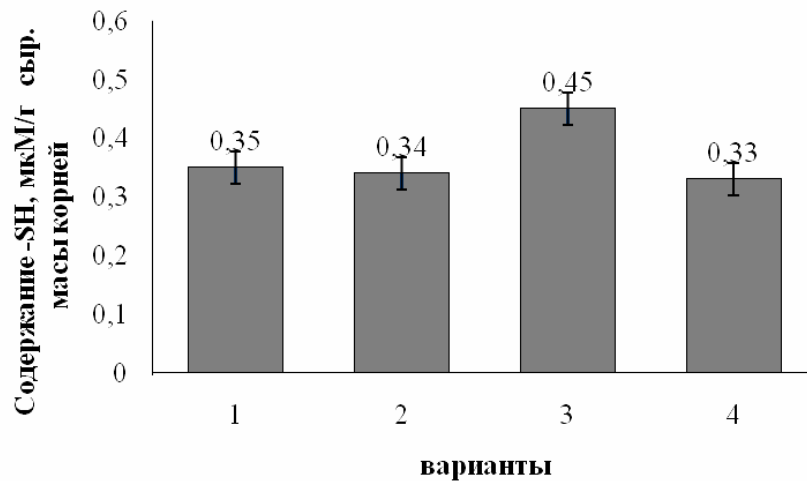


Рис.2. Влияние обработки Амистар Экстра 280 SC и содержания фосфора в растворе на содержание SH-групп в тканях корней озимой пшеницы сорта Смуглянка: 1 - контроль  $\frac{1}{2}$  X-A (0,12 мМоль/л P); 2 -  $\frac{1}{2}$  X-A+1/4 P (0,06 мМоль/л P); 3 -  $\frac{1}{2}$  X-A (0,12 мМоль/л P)+обработка  $10^{-3}$  М Амистар Экстра 280 SC; 4 -  $\frac{1}{2}$  X-A +1/4 P (0,06 мМоль/л P)+ обработка  $10^{-3}$  М Амистар Экстра 280 SC

Fig.2. Effect of treatment of Amistar 280 SC and phosphorus on SH-groups content in the root tissues of winter wheat Smuglynka variety: 1 -  $\frac{1}{2}$  X -A (0,12 mmol / l P) 2 -  $\frac{1}{2}$  X -A 1/4 P (0,06 mmol / l P), 3 -  $\frac{1}{2}$  X-A (0,12 mmol / l P) + treatment  $10^{-3}$  M Amistar Extra 280 SC; 4 -  $\frac{1}{2}$  X-A 1 / 4 P (0,06 mmol / l P) + treatment  $10^{-3}$  M Amistar Extra 280 SC

## Выводы

Показано, что внекорневая обработка серой и фосфором 14-дневных проростков озимой пшеницы сорта Смуглянка приводит к увеличению содержания SH-групп в корнях. Наиболее сильный эффект дала обработка  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (100 мкМ), при которой содержание сульфгидрильных групп в корнях повышалось на 34 %. Разбавление питательного раствора приводит к соответствующему снижению содержания SH-групп в корнях. При обработке фунгицидом Амистар Экстра 280 SC с 0,12 мМ ортофосфата в питательном растворе

наблюдалось увеличение содержания SH-групп в корнях на 29 %. Наблюдаемые изменения содержания SH-групп в корнях проростков озимой пшеницы могут быть использованы для физиологического обоснования систем питания культуры на начальных фазах развития. Обработка фунгицидом при протравливании семян или по всходам является неотъемлемым элементом технологии выращивания озимой пшеницы и может существенно влиять на уровень накопления SH-групп и, соответственно, на эффективность использования элементов питания.

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
2. Душкин А.Н., Беспалова Н.С. Комплексное действие удобрений, микроэлементов и регуляторов роста // Химизация сельского хозяйства. – 1990. – №6. – С. 59-61.
3. Моргун В.В., Швартау В.В., Киризий Д.А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – 42, № 5. – С. 371-393.
4. Минеев, В.Г. Агрохимия: учебник. 3-е издание / В.Г. Минеев // М.: издательство Московского университета; Наука, 2006. — 720 с.
5. Торчинский Ю. М. Сера в белках – М.: «Наука». – 1977. – 302 с.
6. Фрид, А. С. Международный анализ почвенных образцов. Связи между показателями химического состава почв / А. С. Фрид // Агрохимия. — 2006.-№12. — С. 54 — 60.
7. Швартау В.В., Гуляев Б.И., Карлова А.Б. Особенности реакции растений на дефицит фосфора //

8. Физиология и биохимия культурных растений. — 2009. — Т. 41, №3.- С. 208- 220.
8. Friedman M. The chemistry and biochemistry of the sulfhydryl group in amino acids, peptides and proteins, peptides and proteins. – Oxford – New York - Pergamon Press. – 1973. – 80. - p. 311–348.
9. Held K.D. and Hopcia K.L. Role of protein thiols in intrinsic radiation protection of DNA and cells// Mutation Research. – 1993. – 299 (3-4) – p. 261-269.
10. Jocelyn P.C. Biochemistry of the SH-groups. The occurrence, chemical properties, metabolism and biological function of thiols and disulphides. London- New York: Acad. Press. – 1972. – 404 p.
11. Jocelyn P.C. Spectrophotometric assay of thiols. Methods Enzymol. – 1987. – 143. – 4467 p.
12. Rengel Z. Sulfhydryl groups in root-cell plasma membranes of wheat genotypes differing in Zn efficiency // Physiologia Plantarum. – 1995. – 4. – p. 604-612.
13. Saito K. Sulfur assimilatory metabolism. The long and smelling rood // Plant Physiol. – 2004. – 136, № 1. – p. 2443-2450.

Отримано: 11 березня 2012 р.

Прийнято до друку: 21 листопада 2012 р.