

УДК 577.12 + 632.95.025.8

## **ВПЛИВ ГЕРБИЦИДІВ НА МЕТАБОЛІЗМ ГЛУТАТІОНУ У ДВОДОЛЬНИХ БУР'ЯНІВ**

© 2013 р. Н. О. Хромих

*Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара*

*Науково-дослідний інститут біології*

*(Дніпропетровськ, Україна)*

У польовому експерименті досліджено зміни вмісту відновленого глутатіону (GSH) й активності глутатіон-S-трансферази (GST), глутатіон-пероксидази (GPOX), глутатіон-редуктази (GR) у листках амброзії полинолістої та щириці звичайної після обробки гербицидами харнес, естерон, аденго, стеллар. Реакція метаболізму глутатіону у бур'янів на дію гербицидів була координована і пов'язана у рослин амброзії зі збільшенням витрат GSH внаслідок активації GST і GPOX, тоді як у рослин щириці – з накопиченням GSH та більш вираженою індукцією активності GR.

**Ключові слова:** *Ambrosia artemisiifolia L., Amaranthus retroflexus L., гербициди, глутатіон, метаболічна детоксикація*

Селективність дії гербицидів є основою стратегії хімічного захисту культурних рослин від бур'янів (Cole, 1994; Мордерер, 2001). Її підґрунтям слугує відсутність або низька ефективність механізмів метаболічної детоксикації гербицидів у бур'янових рослин. Зокрема вважається (Gronwald et al., 1998), що у дводольних бур'янів не функціонує шлях кон'югації гербицидів з глутатіоном, який здійснює глутатіон-S-трансфераза (GST) у культурних рослин (Neuefeind et al., 1997; Jain et al., 2001; Basantani et al., 2011). Враховуючи, що GST дводольних рослин індукується у відповідь на вплив різних чинників, включаючи інфекцію, рослинні гормони, іони металів, ксенобіотики (Edwards et al., 2000), можна припустити, що відсутність даних щодо активації ферменту за дії гербицидів у дводольних бур'янів зумовлена специфічністю та недостатньою вивченістю реакції рослин. Дійсно, у канатника Теофраста (*Abutilon theophrasti* Medik.) показано зростання активності GST тільки за дії атразину (Anderson et al., 1991), у щириці звичайної (*Amaranthus retroflexus* L.) виявлено кореляцію між активністю GST та чутливістю до метолахлору

(Andrews et al., 1997), а в попередньо оброблених антидотами проростків *Arabidopsis thaliana* L. виявлено здатність до синтезу ізоформ ферменту, специфічних до деяких хлорацетанлідних гербицидів (DeRidder et al., 2002). У польових дослідках нами показано активацію GST у коренях та листках амброзії полинолістої (*Ambrosia artemisiifolia* L.) за дії гербицидів різних класів (Хромих, 2007), а також зміни вмісту глутатіону та активності GST у чотирьох видів дводольних бур'янових рослин за дії гербициду харнес (Хромих, 2010).

Метою даної роботи було виявлення участі глутатіон-залежної ферментної системи у метаболічному захисті дводольних бур'янів від впливу гербицидів нового покоління.

### **МЕТОДИКА**

Досліди проведені у 2012 р. в Інституті сільського господарства степової зони УНААН (м. Дніпропетровськ) на ділянках з площею 30 м<sup>2</sup> у 4-разовому повторенні. Контрольними вважали ділянки з природною засміченістю, дослідні були оброблені гербицидами у таких дозах: аденго (до появи сходів кукурудзи) – 0,5 л/га; стеллар (у фазі 3-5 листків у культури) – 1,25 л/га; харнес – 2,5 л/га (до сходів культури) + естерон (3-5 листків у культури) – 0,6 л/га. Об'єктами дослідження були розповсюджені у

---

*Адреса для кореспонденції:* Хромих Ніна Олександрівна, НДІ біології, Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49050, Україна;  
e-mail: Khromykh2012@gmail.com

## ВПЛИВ ГЕРБІЦИДІВ НА МЕТАБОЛІЗМ ГЛУТАТІОНУ

**Таблиця 1. Забур'яненість посівів кукурудзи перед збиранням урожаю**

Вид обробки	Усереднена кількість бур'янів (шт./м <sup>2</sup> ), M±m	
	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	<i>Amaranthus retroflexus</i>
Контроль (без гербіцидів)	6,18±0,12	6,77±0,17
Аденго	1,46±0,26	1,22±0,21
Стеллар	1,35±0,16	1,61±0,18
Харнес+Естерон	1,16±0,39	1,21±0,42

посівах бур'яни щиріця звичайна (*Amaranthus retroflexus* L.) та амброзія полинолиста (*Ambrosia artemisiifolia* L.) (табл. 1).

В усереднених зразках листків бур'янів (фаза 2-4 пари справжніх листків) визначали вміст відновленого глутатіону (GSH) та активність GST згідно з описаними раніше методиками (Хромих, 2007). Активність глутатіон-редуктази (GR) та глутатіон-пероксидази (GPOX) визначали за методикою (Гришко, Сыщиков, 1999). Для визначення активності GR в інкубовану реакційну суміш, яка містила 1 мл 0,1 М фосфатного буферу, розчини ЕДТА, окисленого глутатіону та NADPH, додавали 0,2 мл центрифугованого рослинного екстракту, реєстрували зміни оптичної густини за довжини хвилі 340 нм. Активність GPOX визначали за змінами оптичної густини інкубованої реакційної суміші (1,2 мл фосфатного буферу, розчини ЕДТА, GSH, НАДФН, 0,2 мл рослинного екстракту) після додавання до неї розчину перекису водню.

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою пакета Microfoft Statistica 6.0. Розбіжності між вибірками вважали значущими при  $p \leq 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Установлено, що глутатіон-S-трансфераза у листках амброзії активувалась за всіх варіантів обробки, тоді як у листках щиріці зміни

рівня ферментативної активності були різноспрямованими (табл. 2). У листках амброзії найменшу активацію GST виявлено за дії аденго, до складу якого входить ізоксафлютол, і з урахуванням відсутності реакції на цей компонент у складі гербіциду мерлін (Хромих, 2007), можна вважати, що активність ферменту була індукована тифенкарбазон-метилом (другим компонентом аденго). Найбільше зростання активності GST у листках амброзії спричиняв стеллар, до складу якого входить дикамба, що збігається з виявленою раніше реакцією ферменту на вплив інших ауксиноподібних гербіцидів (Хромих, 2007). У листках щиріці зниження активності GST за дії аденго та стеллару свідчило про інгібуючий ефект препаратів, проте висока конститутивна активність ферменту забезпечувала його функціонування на значному рівні. У листках обох видів рослин послідовна обробка гербіцидами харнес та естерон викликала меншу активацію GST, ніж показано для харнесу (Хромих, 2010), що могло бути зумовлено інгібуючим ефектом комбінованої дії хлорацетанлідного та ауксиноподібного гербіцидів.

Активність глутатіон-пероксидази в листках щиріці в 1,2-3,3 раза перевищувала показники для амброзії, але в обох видів бур'янів зростала за дії всіх гербіцидів (табл. 3). Відомо, що фітотоксична дія гербіцидів супроводжується оксидативним стресом у рослин (Паланиця та ін., 2009; Митева и др., 2010), наслідки якого

**Таблиця 2. Вплив гербіцидів на активність GST у листках бур'янів**

Вид обробки	Активність GST (нкат/г сирової маси), M±m	p	До контролю, %
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>			
Контроль	3,700±0,183	-	-
Аденго	5,208±0,027	0,0012	140,8
Стеллар	9,272±0,263	0,0001	250,6
Харнес+Естерон	5,750±0,504	0,0188	155,4
<i>Amaranthus retroflexus</i>			
Контроль	8,046±0,088	-	-
Аденго	6,688±0,464	0,0453	83,1
Стеллар	7,651±0,182	0,1230	95,1
Харнес+Естерон	9,597±0,337	0,0112	119,3

Таблиця 3. Вплив гербіцидів на активність GPOX у листках бур'янів

Вид обробки	Активність GPOX (нкат/г сирової маси), M±m	p	До контролю, %
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>			
Контроль	17,21±0,21	-	-
Аденго	18,34±0,41	0,0695	106,5
Стеллар	25,00±0,20	0,0001	145,3
Харнес+Естерон	34,45±0,41	0,0001	200,2
<i>Amaranthus retroflexus</i>			
Контроль	35,88±0,41	-	-
Аденго	60,24±1,02	0,0001	167,9
Стеллар	37,68±0,21	0,0167	105,1
Харнес+Естерон	40,48±0,20	0,0001	112,8

ліквідуються, зокрема, завдяки функціонуванню GPOX. У листках амброзії найбільшу реакцію ферменту виявлено на послідовну обробку харнес+естерон, дещо меншу – на дію стеллару, що з урахуванням рівнів активації GST вказувало на індукцію метаболічного захисту за дії вказаних гербіцидів. Вплив аденго майже не змінював активність GPOX, що при невисокому рівні GST могло свідчити про слабе проникнення компонентів цього ґрунтового препарату у листки амброзії. Навпаки, у листках щириці саме за дії аденго виявлено найвищий рівень активації GPOX, що при помітно зниженій активності GST вказувало на суттєвий фітотоксичний ефект гербіциду. Менш значна реакція глутатіон-пероксидази на вплив гербіцидів харнес+естерон у листках щириці могла бути зумовлена інгібуючим впливом послідовної обробки.

Активність глутатіон-редуктази у рослинах амброзії була в 1,5-2 рази більшою від показників для щириці, але у щириці виявлено більшу активацію ферменту за дії гербіцидів (табл. 4). Відомо, що глутатіон-редуктаза каталізує відновлення окисленого глутатіону й активується за дії різних чинників, у тому числі гербіцидів (Митева и др., 2010). У листках обох видів бур'янів зростання активності GR було найбільш вираженим за комбінованого впливу харнес+естерон, що узгоджувалось з інтенсивними захисними процесами саме за вказаного варіанта обробки (див. табл. 2, 3). Дія аденго у листках амброзії викликала незначне зменшення активності GR, у той час як у листках щириці цей препарат активував процес відновлення окисленого глутатіону. Вплив стеллару на активність глутатіон-редуктази був незначним у листках обох видів бур'янів.

Вміст GSH у контрольних рослинах обох видів відрізнявся несуттєво, тоді як за дії гербіцидів мав тенденцію до зниження в листках амброзії і до зростання в листках щириці (табл.

5). Найбільше падіння рівня GSH у листках амброзії спричинила комбінована обробка харнес+естерон попри найвищий рівень активації GR у цьому варіанті досліду, тоді як у листках щириці найбільше накопичення відновленого глутатіону за дії стеллару відбувалось за незначної активації GR. Розбіжності між рівнями активації GR і вмісту GSH у листках бур'янів, виявлені також за дії гліфосату у рослин гороху (Митева и др., 2010), можуть свідчити про вплив гербіцидів на різні ланки метаболічного циклу глутатіону та процес його біосинтезу у рослинах.

Відомо, що функціонування аскорбат-глутатіонового циклу визначає здатність організмів до протидії стресам (Noctor et al., 2002), тому зміни пулу GSH й активності глутатіон-залежних ферментів вказують на шляхи адаптації бур'янів до впливу гербіцидів. Отже, у листках амброзії тенденція до зниження вмісту GSH зумовлювалася інтенсивним окисненням глутатіону в захисних реакціях за участю GST і GPOX на фоні недостатньої активності процесу його відновлення. У листках щириці реакції окиснення GSH за дії гербіцидів були індуковані порівняно меншою мірою, що у поєднанні з активованим функціонуванням GR сприяло зростанню пулу GSH. Різна динаміка активності глутатіон-залежних ферментів за дії гербіцидів вказує на видові особливості реалізації захисних функцій глутатіонової системи у рослин амброзії й щириці. На користь правомірності такого припущення свідчать різні стратегії захисту різних видів рослин за дії стресорів. Так, у відповідь на дію кадмію у рогозу (*Typha latifolia* L.) відбувалося посилення біосинтезу тіолових сполук, тоді як в очерету (*Phragmites australis* Trin.) – зростання активності GR (Fediuc et al., 2002). Зареєстровані також відмінності адаптації до чинників середовища в екотипів очерету, в одного з яких була найвища швидкість біосинтезу GSH при низькому рівні

## ВПЛИВ ГЕРБІЦИДІВ НА МЕТАБОЛІЗМ ГЛУТАТІОНУ

**Таблиця 4. Вплив гербіцидів на активність GR у листках бур'янів**

Вид обробки	Активність GR (нкат/г сирової маси), $M \pm m$	p	До контролю, %
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>			
Контроль	18,07±0,75	-	-
Аденго	16,83±0,76	0,310	93,2
Стеллар	18,71±0,39	0,492	103,5
Харнес+Естерон	22,17±0,83	0,022	122,7
<i>Amaranthus retroflexus</i>			
Контроль	8,92±0,74	-	-
Аденго	11,10±0,85	0,126	124,5
Стеллар	9,70±0,38	0,406	108,7
Харнес+Естерон	13,62±0,41	0,005	152,7

**Таблиця 5. Вплив гербіцидів на вміст GSH у листках бур'янів**

Вид обробки	Вміст GSH (нмоль/ г сирової маси), $M \pm m$	p	До контролю, %
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>			
Контроль	771,1±35,3	-	-
Аденго	608,4±58,8	0,077	78,9
Стеллар	753,0±45,9	0,770	97,7
Харнес+Естерон	462,6±69,3	0,016	60,0
<i>Amaranthus retroflexus</i>			
Контроль	617,4±31,6	-	-
Аденго	621,9±31,0	0,924	100,7
Стеллар	739,4±16,3	0,027	119,8
Харнес+Естерон	662,6±4,5	0,230	107,3

його накопичення, а у другого – найвищий рівень вмісту GSH (Chen et al., 2003).

З аналізу отриманих результатів випливає, що у рослин амброзії послідовна дія хлор-ацетанілідного й ауксиноподібного гербіцидів спричинила потужний окиснювальний стрес при недостатній активації GST та зумовила найбільше зниження чисельності бур'яну, тоді як обробка полікомпонентним препаратом стеллар при суттєвому зростанні активності GST супроводжувалась меншим впливом на чисельність рослин. У рослин щириці помітному зниженню чисельності передувало окиснювальний стрес як за послідовної дії гербіцидів харнес+естерон при недостатній активації GST, так і при інгібуванні активності GST внаслідок впливу аденго.

Таким чином, за дії гербіцидів різних класів у дводольних бур'янів виявлено координовану відповідну реакцію метаболізму глутатіону, яка у рослин амброзії пов'язана зі збільшенням витрат GSH внаслідок активації GST і GPOX, тоді як у рослин щириці – з накопиченням GSH та більш вираженою індукцією активності GR.

## ЛІТЕРАТУРА

- Гришко В.Н., Сьщиков Д.В. Peroxidное окисление липидов и функционирование некоторых антиокислительных ферментных систем у кукурузы и овса при остром поражении фтористым водородом // Укр. біохім. журн. – 1999. – Т. 71, № 3. – С. 51-57.
- Митева Л.П.-Е., Иванов С.В., Алексеева В.С. Изменение пула глутатиона и некоторых ферментов его метаболизма в листьях и корнях растений гороха, обработанных гербицидом глифосатом // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, №1. – С. 139-145.
- Мордерер Е. Ю. Избирательная фитотоксичность гербицидов. – Киев: Логос, 2001. – 240 с.
- Паланиця М.П., Трач В.В., Мордерер С.Ю. Генерування активних форм кисню за дії грамініцидів і модифікаторів їх активності // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т. 41. № 4. – С. 328-334.
- Хромих Н. Дослідження участі глутатіон S-трансферази амброзії полинолістої (*Ambrosia artemisiifolia* L.) в детоксикації гербіцидів // Вісн. Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2007. – Вип. 44. – С. 151-154.

## ХРОМИХ

- Хромих Н.О. Зміни активності глутатіон-S-трансферази та вмісту глутатіону у листі дводольних бур'янів за дії гербіциду харнес // Вісн. Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2010. – Вип. 54. – С. 239-244.
- Anderson M.P., Gronwald J.W. Rockville Md. Atrazine resistance in a velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) biotype due to enhanced glutathione S-transferase activity // Plant Physiol. – 1991. – V. 96. – P. 104-109.
- Andrews C.J., Skipsey M., Townson J.K., Morris C., Jepson I., Edwards R. Glutathione transferase activities toward herbicides used selectively in soybean // Pest. Sci. – 1997. – V. 51. – P. 213-222.
- Basantani M., Srivastava A., Sen S. Elevated antioxidant response and induction of tau-class glutathione S-transferase after glyphosate treatment in *Vigna radiata* (L.) Wilczek // Pest. Biochem. Physiol. – 2011. – V. 99. – P. 111-117.
- Chen K.-M., Gong H.-J., Chen G.-C., Wang S.-M., Zhang C.-L. Up-regulation of glutathione metabolism and changes in redox status involved in adaptation of reed (*Phragmites communis*) ecotypes to drought-prone and saline habitats // J. Plant Physiol. – 2003. – V. 160. – P. 302-309.
- Cole D.J. Detoxification and activation of agrochemicals in plants // Pest. Sci. – 1994. – V. 42. – P. 209-222.
- DeRidder B.P., Dixon D.P., Beussman D.J., Edwards R., Goldsbrough P.B. Induction of Glutathione S-Transferases in Arabidopsis by Herbicide Safeners // Plant Physiol. – 2002. – V. 130. – P. 1497-1505.
- Edwards R., Dixon D.P., Walbot V. Plant glutathione S-transferases enzymes with multiple functions in sickness and in health // Trends Plant Sci. – 2000. – V. 5. – P. 193-198.
- Fediuc E., Erdei L. Physiological and biochemical aspects of cadmium toxicity and protective mechanisms induced in *Phragmites australis* and *Typha latifolia* // J. Plant Physiol. – 2002. – V. 159. – P. 265-271.
- Gronwald J.W., Plaigance K.L. Isolation and characterization of glutathione-S-transferase isozymes from sorghum // Plant Physiol. – 1998. – V. 117. – P. 677-692.
- Jain M., Bhalla-Sarin N. Glyphosate-induced Increase in glutathione-S-transferase activity and glutathione content in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) // Pest. Biochem. Physiol. – 2001. – V. 69. – P. 143-152.
- Noctor G., Gomez L., Vanacker H., Foyer C. Interaction between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signaling // J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53. – P. 1283-1304.
- Neuefeind T., Reinemer P., Bieseler B. Plant glutathione S-transferases and herbicide detoxification // Biol. Chem. – 1997. – V. 378. – P. 199-205.

Надійшла до редакції  
11.01.2013 р.

## HERBICIDES INFLUENCE ON GLUTATHIONE METABOLISM OF DICOTYLEDONOUS WEEDS

N. O. Khromykh

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

In field experiment the changes of reduced glutathione (GSH) content and glutathione-S-transferase (GST), glutathione-peroxidase (GPOX), glutathione-reductase (GR) activity in *Ambrosia* and *Amaranthus* leaves under harness, esteron, adengo, stellar herbicide treatment were investigated. The reaction of weeds glutathione-dependent system to the herbicide action was coordinated and attributed in *ambrosia* plans with decreasing GSH pool as a result of GST and GPOX activation, while in *amaranthus* plants with GSH accumulation and greater induction of GR activity.

**Key words:** *Ambrosia artemisifolia* L., *Amaranthus retroflexus* L., herbicides, glutathione, metabolic detoxification

## **ВПЛИВ ГЕРБИЦИДІВ НА МЕТАБОЛІЗМ ГЛУТАТІОНУ**

### **ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДОВ НА МЕТАБОЛИЗМ ГЛУТАТИОНА У ДВУДОЛЬНЫХ СОРНЯКОВ**

Н. А. Хромых

*Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара  
Научно-исследовательский институт биологии  
(Днепропетровск, Украина)*

В полевом эксперименте исследованы изменения содержания восстановленного глутатиона (GSH) и активности глутатион-S-трансферазы (GST), глутатион-пероксидазы (GPOX), глутатион-редуктазы (GR) в листьях амброзии полыннолистной и щирицы запрокинутой после обработки гербицидами харнес, эстерон, аденго, стеллар. Реакция метаболизма глутатиона сорняков на действие гербицидов была координирована и связана у растений амброзии с увеличением затрат GSH вследствие активации GST и GPOX, тогда как у растений щирицы – с накоплением GSH и более выраженной индукцией активности GR.

**Ключевые слова:** *Ambrosia artemisiifolia L., Amaranthus retroflexus L., гербициды, глутатион, метаболическая детоксикация*