

УДК 633.15 + 57.042

В. С. Більчук, Н. О. Хромих  
Дніпропетровський національний університет

## ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ГЛУТАТІОНРЕДУКТАЗИ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА ГЕРБІЦИДУ ФРОНТ'ЄР

У модельному експерименті досліджували спільну дію іонів важких металів (свинцю, кадмію) і хлорацетанлідного гербіциду фронт'єр на активність глутатіонредуктази [К.Ф. 1;6;4;2] у проростках кукурудзи на початкових стадіях онтогенезу. Встановлено підвищення активності ферменту в зерні, що проростає в присутності гербіциду й іонів свинцю і кадмію, та варіювання ензиматичної активності в проростках при спільній дії токсикантів.

In modelling experiment joint action of heavy metal ions (lead, cadmium) and chloroacetanilide herbicide frontjere on glutathionreductase activity in maize seedlings at initial stages of ontogenesis was investigated. The increasing of enzyme activity in a sprouting grain at herbicide and ions of lead and cadmium presence and variation of enzyme activity in seedlings were established at joint action of toxicants.

Розкриття механізмів формування адаптаційних реакцій неможливе без вивчення антиоксидантних систем, зокрема глутатіонзалежної, яка бере участь у біохімічних процесах захисту рослинної клітини при стресовому впливі різноманітних біотичних і абіотичних факторів. У природному середовищі має місце комбінований вплив речовин антропогенного походження на рослинні об'єкти. Якщо ефекти токсичного впливу окремих інгредієнтів забруднення агроценозів досліджені досить повно [3; 6; 7; 10], то відомості про одночасну дію двох і більше стрес-факторів на фізіолого-біохімічну систему культурних рослин у процесі індивідуального розвитку вкрай обмежені [2; 4; 8]. Тому прогнозування ступеня пошкодження вищих рослин і їх адаптації за дії важких металів на тлі гербіцидної обробки є необхідним не тільки для визначення механізмів впливу ксенобіотиків на рослини, але і для оптимізації життєдіяльності рослин у техногенному середовищі. Особливе місце серед механізмів пристосування рослин до дії чинників довкілля посідає глутатіонзалежна ферментна система, зокрема глутатіонредуктаза (ГР), яка каталізує обернене окиснення нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАДФ-Н) глутатіоном. Фермент відповідає за підтримання високої концентрації відновленого глутатіону, є одним із ключових у системі захисту клітини від продуктів перекисного окиснення ліпідів, підвищеної концентрації вільних радикалів та інших активних форм кисню в клітині. Літературні дані свідчать, що за участю ГР відбувається адаптація рослин до дії важких металів [7; 8], сполук фтору [3; 6], хінонів [1]. Вплив комплексу шкідливих чинників на глутатіонзалежну систему культурних рослин досліджено недостатньо. Отже, вивчення особливостей фізіолого-біохімічних змін на рівні активності ГР під впливом важких металів та гербіцидних препаратів і особливо їх комбінацій є актуальним та науково обґрунтованим. Основною метою було дослідження особливостей функціонування ГР у проростках кукурудзи на початкових стадіях онтогенезу при впливі важких металів та різних концентрацій гербіциду хлорацетанлідної групи окремо та в їх комбінації.

### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були проростки кукурудзи гібриду Кадр 267 МБ. Контрольні зразки вирощували на дистильованій воді, дослідні – в розчинах гербіциду

фронт'єр з концентраціями 1 мг/л, 5 мг/л і 10 мг/л, в розчинах азотнокислого свинцю і азотнокислого кадмію з концентрацією  $10^{-4}$  М/л та в розчинах, що містили фронт'єр (10 мг/л) і солі важких металів ( $10^{-4}$  М/л). Визначення біохімічних показників проводили в зерні, коренях і пагонах 3-, 5-, 7- та 10-добових проростків. Ферментативну активність визначали за [12] в нашій модифікації: брали 0,1 г сирової тканини, гомогенізували в 1 мл фосфатного буферу. Реакційну суміш, яка містила в собі 1 мл 0,1 М натрійфосфатного буфера (рН 8,0); 0,1 мл 1 мМ ЕДТА; 0,3 мл 2 мМ окисненого глутатіону; 0,2 мл проби, інкубували в термостаті 10 хвилин при 30°C. Реакцію починали додаванням 0,2 мл 2 мМ NADPH і реєстрували зменшення оптичної густини при довжині хвилі 340 нм. Питому активність ферменту виражали в мкмоль окисненого НАДФ-Н /мг білка·хв. Вміст білка вимірювали за [11]. Результати опрацьовували статистично загальноприйнятими методами, рівень похибки не перебільшував 5%.

### Результати та їх обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено вірогідне підвищення питомої активності ГР у проростаючому зерні за дії гербіциду фронт'єр у концентраціях 5 мг/л і вище на всіх стадіях проростання (рис. 1а).

Мінімальна концентрація фронт'єру (1 мг/л) не викликала достовірної зміни активності ГР до 7 доби проростання. При вивченні впливу іонів свинцю відзначено підвищення активності глутатіонзалежного ферменту відносно контролю в проростаючому зерні до 8 доби проростання з максимальним значенням показника на 5 добу. Дія іонів кадмію викликала достовірне підвищення активності ферменту, починаючи з 2 доби проростання, при цьому максимальна ензиматична активність відмічена на 5 добу. При сумісній дії іонів свинцю та кадмію спостерігали аналогічну до дії кадмію динаміку змін активності ГР у процесі проростання з проявленням максимального значення активності на більш ранніх стадіях проростання, на відміну від впливу окремих токсикантів (рис. 1б). Сумісна дія гербіциду фронт'єр та іонів свинцю і кадмію інгібувала процес окиснення НАДФ-Н глутатіоном, внаслідок чого активність ГР дослідного зерна була менше, ніж в контрольних зразках (рис. 1в).

При вивченні впливу різних концентрацій фронт'єру на стан активності ГР в корінні проростків відзначено зниження активності ферменту на 3 добу дослідження для всіх зразків від 32,7% до 70,4% порівняно з контролем (рис. 2а).

Аналогічні зміни активності ГР викликала суміш іонів свинцю та кадмію (рис. 2б). При цьому спостерігали зменшення ензиматичної активності до 46,2% від контролю на ранніх стадіях розвитку. При сумісній дії іонів важких металів і гербіциду відбувалось зниження питомої активності ГР у корінні 3-добових проростків і активізація перетворення глутатіону на наступних стадіях онтогенезу (рис. 2в).

У пагонах проростків кукурудзи залежність активності ГР від дії токсикантів була дещо інша. Так, максимальна концентрація фронт'єру викликала достовірне зниження активності ферменту відносно контролю (рис. 3а), на відміну від малих концентрацій гербіциду, які сприяли підвищенню показника. При сумісній дії іонів свинцю та кадмію спостерігали незначне підвищення ензиматичної активності, на відміну від окремої дії іонів (рис. 3б). Комплексний вплив суміші іонів металів та гербіциду викликав достовірне збільшення ензиматичної активності протягом досліджуваного терміну, на відміну від сумісної дії фронт'єру з кожним із іонів окремо (рис. 3в).

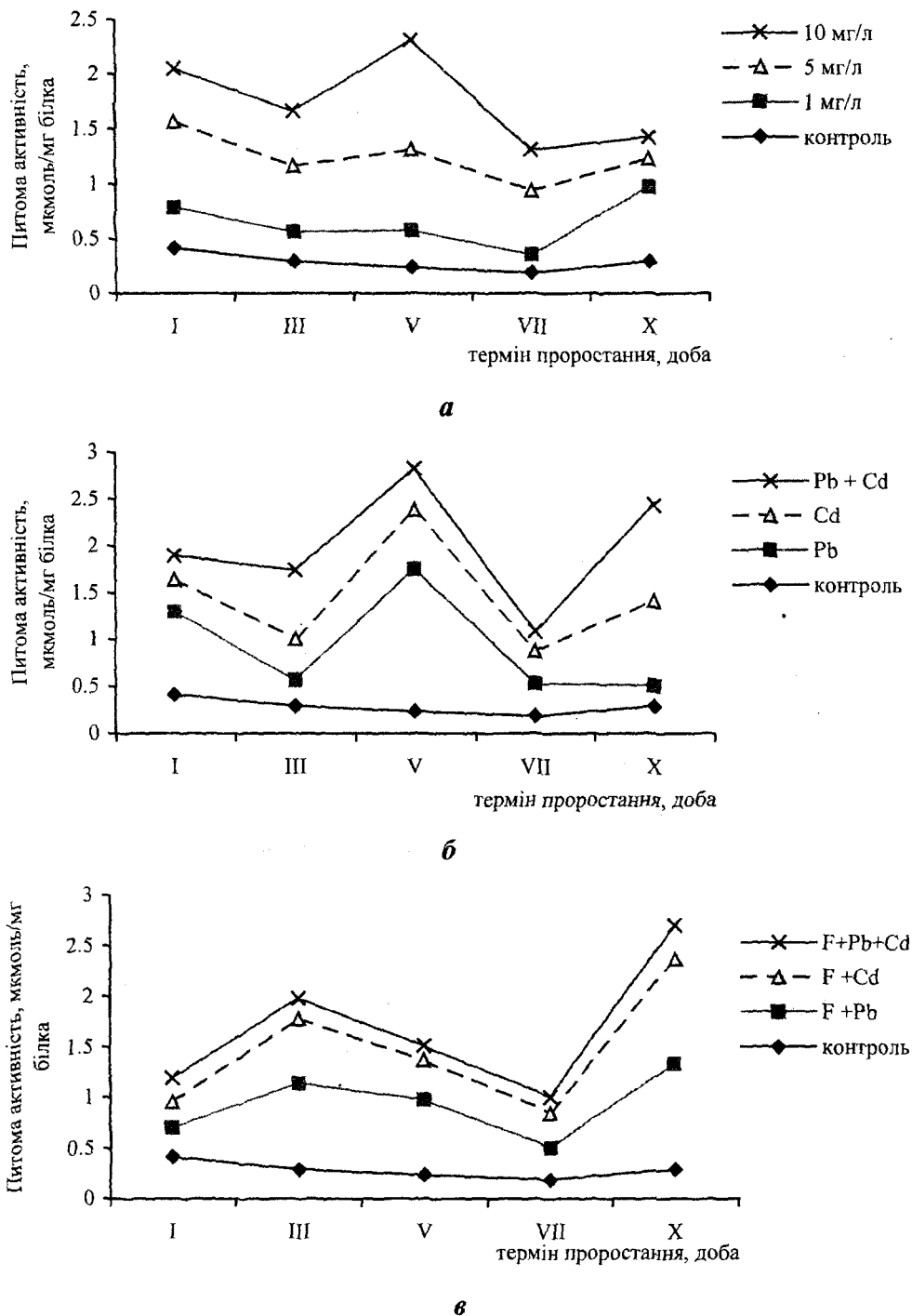
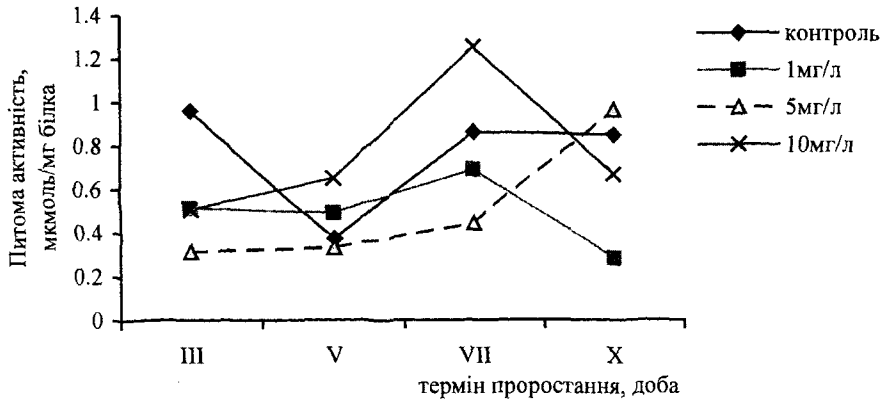
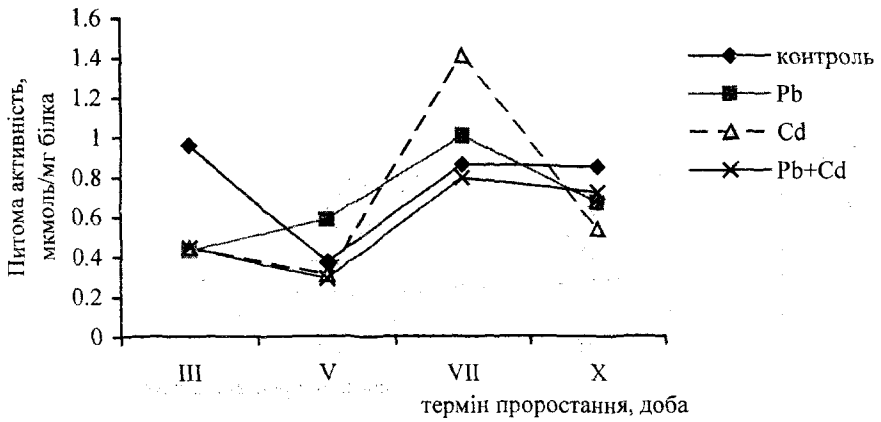


Рис. 1. Зміни активності глутатіонредуктази в проростаючому зерні кукурудзи за дії гербіциду фронт'єр (а), іонів свинцю і кадмію (б) та сумісної дії токсикантів (в)



*a*



*б*



*в*

**Рис. 2.** Зміни активності глутатіонредуктази в корінні проростків кукурудзи за дії гербіциду фронт'єр (а), йонів свинцю і кадмію (б) та сумісної дії токсикантів (в)

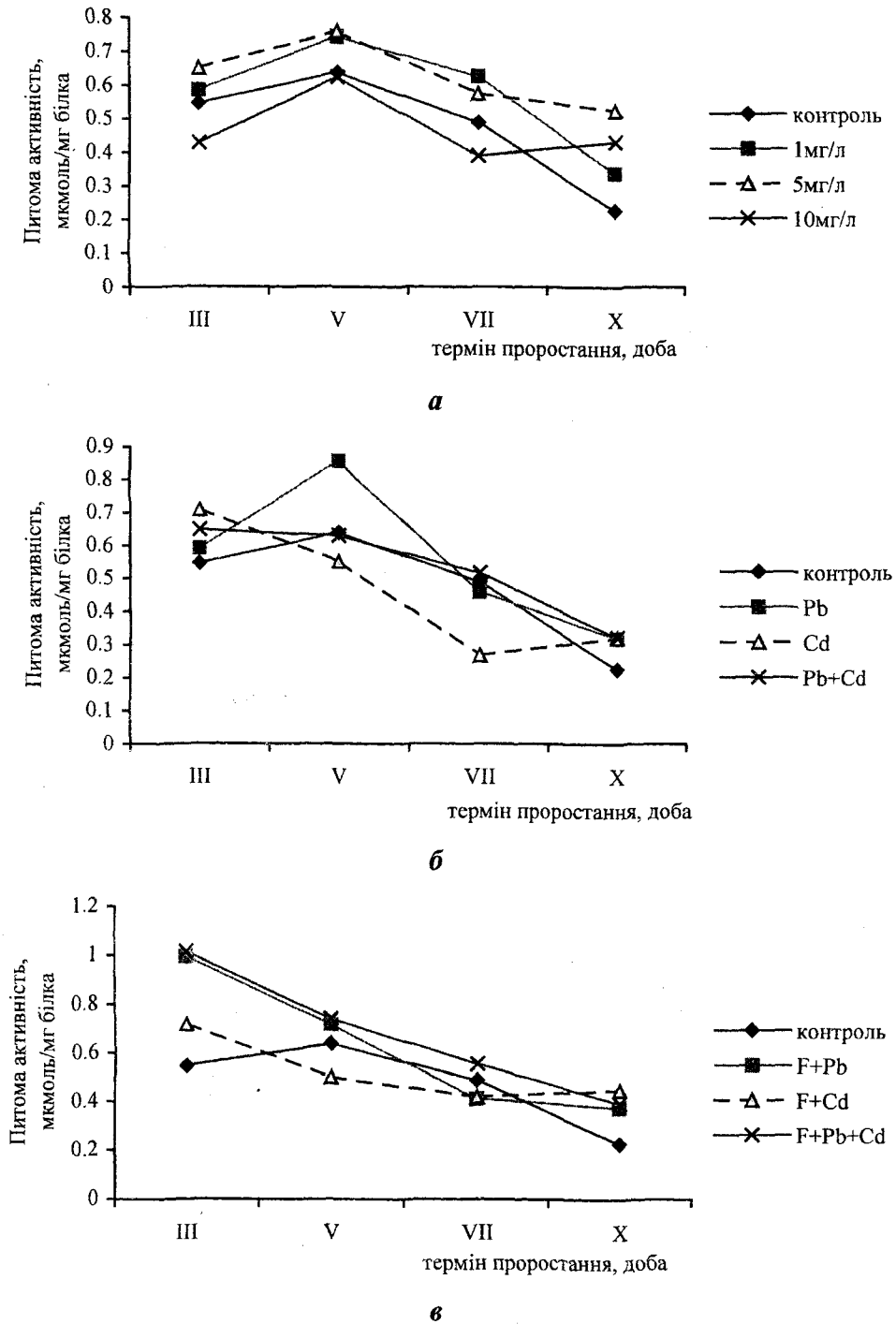


Рис. 3. Зміни активності глутатіонредуктази в пагонах проростків кукурудзи за дії гербіциду фронт'єр (а), йонів свинцю і кадмію (б) та сумісної дії токсикантів (в)

Таким чином, наслідки токсичної дії шкідливих факторів (важкі метали, гербіцид) викликають різноманітні зміни активності ГР, що свідчить про участь глутатіонзалежних ферментів у антиоксидантному захисті в проростках кукурудзи.

Вплив досліджених комбінацій токсикантів мав специфічний характер і залежав як від їх концентрацій, так і від стадії онтогенезу проростків.

### Бібліографічні посилання

1. **Биронайте Д. А.** Инактивация глутатионредуктазы хинонами и нитрозокарбамидами / Д. А. Биронайте, Н. К. Ченас, В. В. Луценко // Укр. біохім. журн.. – 1993. – Т. 65. – № 1. – С. 97–100.
2. **Глубока В. М.** Зміни вмісту фосфоліпідних компонентів колеоптилів кукурудзи при комбінованій дії важких металів та гербіцидів // Питання біоіндикації та екології. Зб. Запорізького держ. ун-ту. – 2003. – Вип. 8. – № 1. – С. 48–53.
3. **Гришко В. Н.** Peroxidное окисление липидов и функционирование некоторых антиокислительных ферментных систем у кукурузы и овса при остром поражении фтористым водородом / В. Н. Гришко, Д. В. Сыщиков // Укр. біохім. журнал. – 1999. – Т. 71. – № 3. – С. 51–57.
4. **Гришко В. Н.** Толерантность кукурузы к различным солям кадмия и никеля и содержание антиоксидантов / В. Н. Гришко, Д. В. Сыщиков // Доповіді НАН України. – 2002. – № 1. – С. 170–175.
5. **Меньшикова Е. Б.** Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е. Б. Меньшикова, Н. К. Зенков // Успехи соврем. биологии. – 1993. – Т. 113. – С. 442–454.
6. **Паталах И. И.** Влияние фтористого водорода на активность ферментов цикла глутатиона / И. И. Паталах, Н. И. Мушенко, В. Н. Гришко // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Серія Біологія. Екологія. – 1999. – Вип. 6. – С. 68–74.
7. **Пацула О.** Система глутатиону в разі адаптації рослин соняшника до токсичної дії свинцю / О. Пацула, О. Демків // Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна. – 2004. – Вип. 37. – С. 222–226.
8. **Платонова А. А.** Вміст відновленого глутатиону та активність глутатіонзалежних ферментів у проростках гороху (*Pisum sativum* L.) при дії іонів кадмію і талію / А. А. Платонова, С. С. Костишин, М. М. Блошко // Физиол. и биохим. культ. растений. – 1998. – Т. 30. – № 4. – С. 264–270.
9. **Сищиков Д. В.** Глутатіонзалежна антиоксидантна система і толерантність проростків кукурудзи, сої й гороху за дії кадмію та нікелю // Автореф. дис. ж. канд. біол. наук. – К., 2003. – 18 с.
10. **Сищиков Д. В.** Глутатіонзалежна антиоксидантна система проростків гороху та кукурудзи за дії сполук нікелю / Д. В. Сищиков, В. М. Гришко // Укр. біохім. журнал. – 2003. – Т. 75. – № 4. – С. 131–138.
11. **Bradford M. M.** A rapid and sensitive method for the quantative of microgram quantaties of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.
12. **Carlberg I.** Methods in enzymology / I. Carlberg, B. Mannervic / N. Y.: Acad. Press INC. – 1985. – P. 484–490.

Надійшла до редколегії 20.01.05