

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 6, Number 318 (2016), 102 – 106

A. Zh. Amirkulova, O. V. Chebonenko, A. O. Abayldaev, A. Sh. Utarbayeva

Institute of Molecular Biology and Biochemistry named after M. A. Aitkhozhin, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: araika88a@mail.ru

EFFECT OF FUNGICIDE "FUNDAZOL" ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES OF CEREALS

Abstract. The aim of this work was to evaluate the effect of different concentrations of the fungicide fundazol on the activity of antioxidant enzymes catalase (CAT) and peroxidase (PO) in seedlings of cereals. The objects of study were 7-day seedlings of cereals of winter wheat (*Triticum L.*, variety Beauharnais 56), barley (*Hordeum vulgare L.*, Baysheshek grade) and oats (*Avena L.*, Kazakhstan grade). The activity of antioxidant enzymes depended on the plant organ and concentrations fungicide. As a result of increased activity of the enzyme was in the roots, which is directly correlated with increasing fungicide concentrations.

Keywords: wheat, fungicide, antioxidant enzymes, barley, fundazol, catalase, peroxidase.

УДК 632.952:633.1

А. Ж. Амиркулова, О. В. Чебоненко, А. О. Абайлдаев, А. Ш. Утарбаева

Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина, Алматы, Казахстан

ВЛИЯНИЕ ФУНГИЦИДА «ФУНДАЗОЛ» НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЗЛАКОВЫХ РАСТЕНИЙ

Аннотация. Целью работы была оценка влияния различных концентраций фунгицида Фундазол на активность антиоксидантных ферментов: каталазы (КАТ) и пероксидазы (ПО) в проростках злаковых растений. Объектами исследований служили 7-ми дневные проростки злаковых растений пшеницы озимой (*Triticum L.*, сорт Богарная 56), ячменя (*Hordeum vulgare L.*, сорт Байшешек) и овса (*Avena L.*, сорт Казахстанский). Активность антиоксидантных ферментов зависела от органа растения и концентрации фунгицида. В результате повышенная активность ферментов была в корнях, которая прямо коррелировала с повышением концентрации фунгицида.

Ключевые слова: пшеница, фунгицид, антиоксидантные ферменты, ячмень, фундазол, каталаза, пероксидаза.

Введение. Применение пестицидов в мире является составной частью современной технологии возделывания сельскохозяйственных культур, без применения этих препаратов невозможно получение необходимых населению продуктов питания. Условием правильного и безопасного применения пестицидов является хорошее знание их физико-химических свойств, особенностей применения, знание их токсикологической характеристики и поведения в биологических средах [1].

Любая из известных сегодня систем земледелия невозможна без химических средств защиты растений как фактора, определяющих высокие урожаи. Пестициды – это химические вещества, которые используются с целью защиты растений от вредителей и болезней.

Фундазол (другие названия: бентал, агроцит, дезорал) – широко применяемый системный фунгицид класса бензимидазолов. Препарат используется для защиты более пятидесяти культур:

зерновых, бобовых, овощных, плодово-ягодных, декоративных и лекарственных растений против мучнистой росы всех видов головни, корневых гнилей, ржавчины и пятнистости. Действующее начало препарата – беномил, класс бензимидазолов, механизм действия которого связан с торможением деления клеток патогена. Этот препарат малотоксичен для человека и животных (IV класс опасности).

Поскольку пестициды – вещества с высокой биологической активностью, способные циркулировать и накапливаться в почвах, водоемах, продуктах питания, что губительно отражается на окружающей среде и здоровье человека. В связи с этим, к пестицидам предъявляются все более жесткие требования безопасности в отношении нецелевых организмов, и в первую очередь растений, для защиты которых они предназначены. Использование в биотестировании высших растений по-прежнему остается традиционным направлением биологии, биохимии и экотоксикологии. Новыми стремительно развивающимися направлениями являются биохимические и молекулярные уровни индикации стрессовых воздействий [2].

Одним из ранних неспецифических ответов живых организмов, в том числе растений на абиотические стрессоры является усиление процессов свободно-радикального окисления, «окислительный взрыв» приводящий к накоплению активных форм кислорода и активации антиоксидантных ферментов [3].

В связи с этим, целью работы была оценка влияния различных концентраций фунгицида Фундазол на активность антиоксидантных ферментов (АОФ): каталазы (КАТ) и пероксидазы (ПО) в проростках злаковых растений.

Методы исследования. Объектами исследований служили 7-ми дневные проростки злаковых растений пшеницы озимой (*Triticum L.*, сорт Богарная 56), ячменя (*Hordeum vulgare L.*, сорт Байшешек) и овса (*Avena L.*, сорт Казахстанский). Семена каждой культуры обрабатывали путем погружения на 10 минут в раствор фунгицида Фундазол (действующее вещество Беномил, 500 г/кг; класс-Бензимидазол, норма расхода 2 г/кг семян) в концентрациях 2 (норма), 4 и 10 г/кг. В качестве контроля использовали семена, выдержанные в дистиллированной воде. После обработки семена высаживали в емкости с влажной подложкой и выращивали в лабораторных условиях до фазы 2-3 листьев (возраст 7 суток) при температуре 22-25 °С, фотопериоде 16/8 ч (день/ночь). Для анализа активности ферментов КАТ и ПО использовали надземную часть и корень 7-ми дневных проростков.

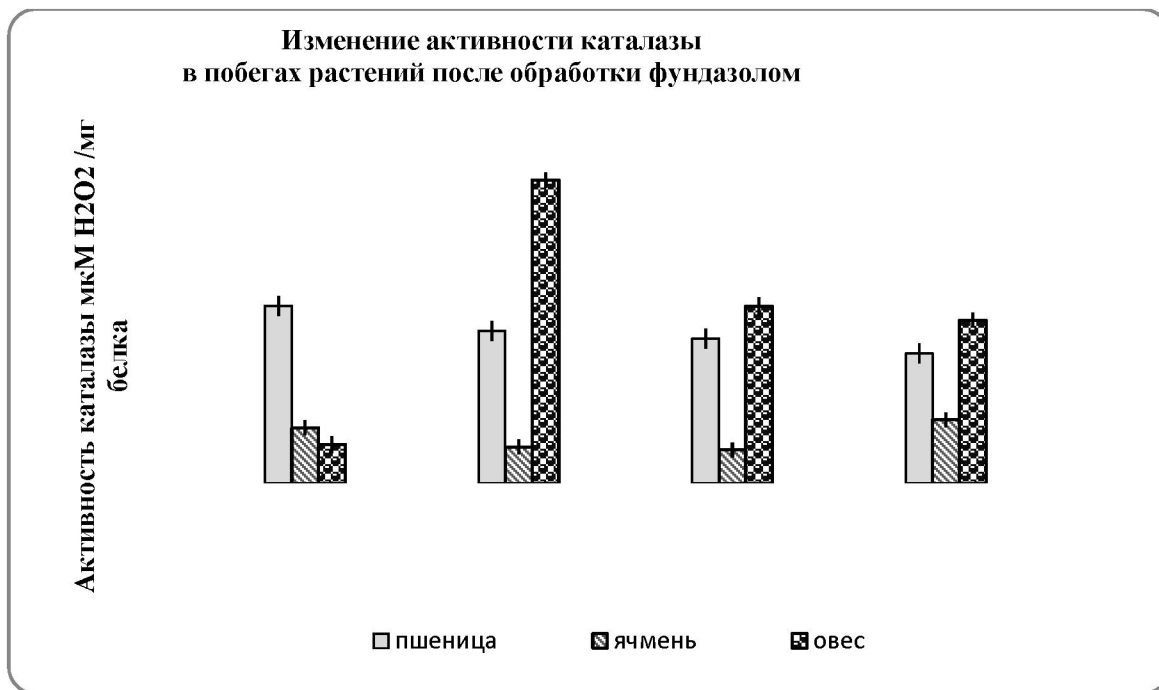
Активность КАТ определяли спектрофотометрически по распаду H_2O_2 при 240 нм в Na + - фосфатном буфере (рН 6,5). Реакционная смесь содержала 2мл 0,1М Na + - фосфатного буфера (рН 6,5), 100 мкл H_2O_2 (финальная концентрация 12,5 мМ), 50 мкл растительного экстракта [4]. Активность ПО отмечали по начальной скорости окисления о-дианизидина при комнатной температуре при 460 нм. Скорость реакции определяли по тангенсу угла наклона начальных участков кинетических прямых изменения оптической плотности во времени [5]. Белок определяли микробиуретовым методом [6]. Все определения проводились в 3-х биологических и 3-х аналитических повторностях. Результаты статистически обработаны с помощью программы мастера статообработки приложения Microsoft Excel 2006 [7].

Результаты исследования

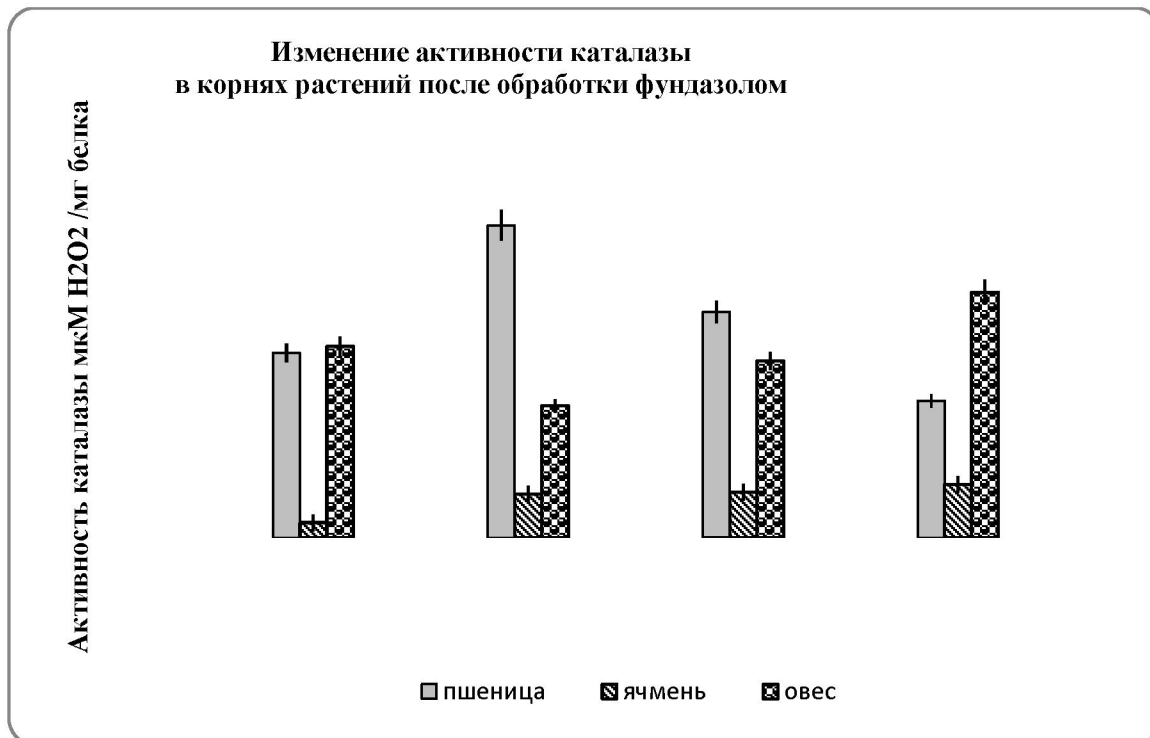
По многим литературным данным известно, что действие пестицидов на разные виды растений весьма избирательно, поэтому сравнение ответных реакций растений на действие фунгицида позволит выяснить вклад систем антиоксидантной защиты в механизмы избирательности [8].

Результаты наших исследований показали, что в побегах растений пшеницы активность КАТ понижалась пропорционально увеличению концентрации фунгицида на 16, 23 и 36 % соответственно, тогда как в корнях она была выше контроля на 1,7 и 1,2 раза при концентрациях 2 и 4 г/кг, только концентрация 10 г/кг инактивировала КАТ на 35% по сравнению с контролем. В побегах ячменя наблюдали подобную картину: фундазол в норме и в концентрации 4 г/кг приводили к понижению активности фермента на 50-60% относительно контроля, а максимальная концентрация наоборот увеличила активность на 14%. В корнях же все три концентрации активировали КАТ в 3 раза по сравнению с контролем. Что касается овса, то здесь наблюдается обратная кар-

тина: в побегах активность фермента возрастает обратно пропорционально увеличению концентраций фунгицида в 8, 4,5 и 4,2 раза выше контроля, тогда как в корнях она инактивировалась в норме и в концентрации 4 г/кг в 1,5 и в 1,1 раза по сравнению с контролем, но максимальная концентрация повысила активность КАТ в 1,3 раза выше контроля (рисунок 1).



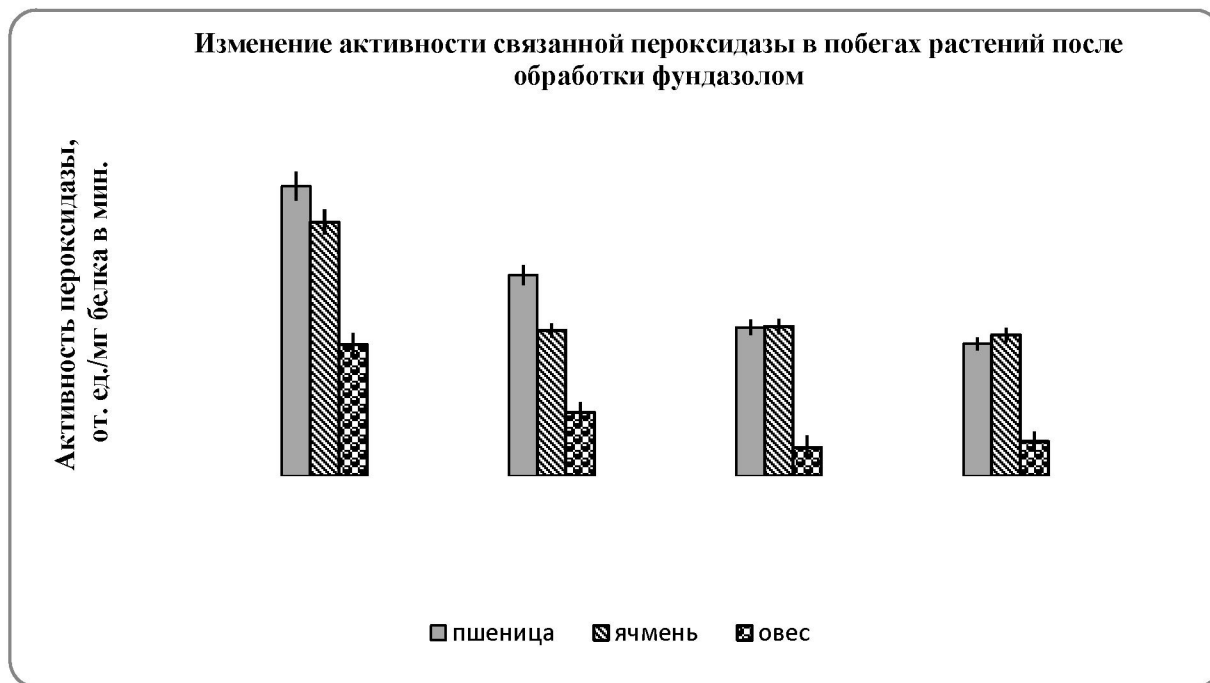
А



Б

Рисунок 1 – Влияние Фундазола на изменение активности КАТ в надземной части (А) и корнях (Б) 7-ми дневных проростков злаковых растений

В результате обработки фунгицидом семян злаковых растений активность ПО в побегах недельных проростков одинаково понизилась: почти в 2 раза у пшеницы и ячменя и в 4 и 4,5 раза у овса в концентрациях 2 и 4 г/кг соответственно по сравнению с контрольным вариантом, а норма практически не повлияла на изменение активности ПО. В корнях всех злаков окислительный стресс, вызванный фундазолом, активировал ПО в 1,5 раза в концентрации 4 г/кг и в 2 раза в концентрации 10 г/кг выше контроля, норма же достоверно не повлияла на активность ПО (рисунок 2).



А



Б

Рисунок 2 – Влияние Фундазола на изменение активности ПО в надземной части (А) и корнях (Б) 7-ми дневных проростков злаковых растений

В итоге было показано, что активность антиоксидантных ферментов зависела от органа растения и концентрации фунгицида. В основном повышенная активность ферментов была в корнях, которая прямо коррелировала с повышением концентрации фундазола. Различия в активности ферментов у разных объектов отражают их физиологические особенности и связаны с функционированием антиокислительных систем в клетках.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Колупаев Ю. Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Сер. Биология. – 2007. – Вып. 3(12). – С. 6-26.
- [2] Полесская О. Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. – М.: Изд-во КДУ, 2007. – С. 140.
- [3] Finkel T., Holbrook N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of aging // Nature. – 2000. – Vol. 408. – P. 239-247.
- [4] Aebi H. Catalase in vitro // Methods Enzymology. – 1984. – Vol. 105. – P. 121-126.
- [5] Лебедева О.В., Угарова Н.Н., Березин И.В. Кинетическое изучение реакции окисления о-дианизидина H_2O_2 в присутствии пероксидазы хрена // Биохимия – 1977. – Т. 42. – С. 1372-1379.
- [6] Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – М.: Высшая школа, 1971. – С. 352.
- [7] Зайцев Г. Н. Математика в экспериментальной ботанике. – М., 1990. – С. 293.
- [8] Hassan N.M., Alla M. M. N. Oxidative Stress in herbicide – treated Broad Bean and Maize Plants // Acta Physiol. Plant. – 2005. – Vol. 27. – P. 429-438.

REFERENCES

- [1] Kolupaev Ju. E. Aktivnye formy kisloroda v rastenijah pri dejstvii stressorov: obrazovanie i vozmozhnye funkcii // Vestnik Har'kovskogo nacional'nogo agrarnogo universiteta. Ser. Biologija. 2007. Vyp. 3(12). P. 6-26.
- [2] Polesskaja O.G. Rastitel'naja kletka i aktivnye formy kisloroda. M.: Izd-vo KDU, 2007. P. 140.
- [3] Finkel T., Holbrook N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of aging // Nature. 2000. Vol. 408. P. 239-247.
- [4] Aebi H. Catalase in vitro // Methods Enzymology. 1984. Vol. 105. P. 121-126.
- [5] Lebedeva O.V., Ugarova N.N., Berezin I.V. Kineticheskoe izuchenie reakcii okislenija o-dianizidina N_2O_2 v prisutstvii peroksidazy hrena // Biohimija. 1977. Vol. 42. P. 1372-1379.
- [6] Kochetov G.A. Prakticheskoe rukovodstvo po jenzimologii. M.: Vysshaja shkola, 1971. P. 352.
- [7] Zajcev G.N. Matematika v jeksperimental'noj botanike. M., 1990. P. 293.
- [8] Hassan N.M., Alla M. M. N. Oxidative Stress in herbicide – treated Broad Bean and Maize Plants // Acta Physiol. Plant. 2005. Vol. 27. P. 429-438.

А. Ж. Амиркулова, О. В. Чебененко, А. О. Абайлдаев, А. Ш. Утарбаева

М. А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология мен биохимия институты, Алматы, Қазақстан

ДӘНДІ ӨСІМДІКТЕРДІҢ АНТИОКСИДАНТТЫҚ ФЕРМЕННТЕР БЕЛСЕНДІЛІГІНЕ «ФУНДАЗОЛ» САҢЫРАУҚҰЛАҚЖОЙҒЫНЫҢ ӘСЕРІ

Аннотация. Жұмыстың мақсаты антиоксиданттық ферменттердің белсенділігіне дәнді өсімдіктердің өскіндерінде каталаза (КАТ) және пероксидаза (ПО) сияқты әртүрлі концентрациялардың әсерін бағалауы болады. Зерттеу нысандары күздік бидайдың (*Triticum L.*, Богарная 56 сорты), арпаның (*Hordeum vulgare L.*, Байшешек сорты) және (*Avena L.*, Қазақстандық сорты) дәнді өсімдіктерінің күндізгі 7-күндік өскіндері болған. Антиоксиданттық ферменттердің белсенділігі өсімдіктің мүшесінен және саңырауқұлақжойғының концентрациясынан тәуелді болған. Нәтижесінде ферменттердің көтерлген белсенділігі саңырауқұлақжойғы концентрациясының көтерілуімен тікелей арақатынас орнатқан түбірлерінде болған.

Түйін сөздер: бидай, саңырауқұлақжойғы, антиоксиданттық ферменттер, арпа, фундазол, каталаза, пероксидаза.