

УЧАСТИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ИНДУЦИРОВАННИИ АСКОРБАТПЕРОКСИДАЗЫ И ГВАЯКОЛПЕРОКСИДАЗЫ ПРИ ТЕПЛОМ ЗАКАЛИВАНИИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Ю. Е. КОЛУПАЕВ, А. И. ОБОЗНЫЙ

*Харьковский национальный аграрный университет им. В. В. Докучаева, Украина;
e-mail: plant_biology@mail.ru*

Исследовали влияние одноминутного закаливающего прогрева (42 °С) на динамику генерации H_2O_2 и активность антиоксидантных энзимов в корнях проростков пшеницы. Показано, что в течение первых 30 мин после действия гипертермии увеличивается содержание H_2O_2 , затем оно снижается до уровня контроля. Активность супероксиддисмутазы (СОД) существенно увеличивается уже через 10 мин после прогрева и сохраняется на повышенном уровне в течение 24 ч наблюдений. Активность аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы повышается через 3–6 ч после закаливающего прогрева и достигает максимума через 24 ч, когда происходит наибольшее повышение теплоустойчивости проростков. Вызываемое закаливающим прогревом кратковременное увеличение содержания H_2O_2 подавлялось обработкой проростков диметилтиомочевинной (скавенджером H_2O_2), ингибиторами NADPH-оксидазы (имидазолом) и СОД (диэтилдитиокарбаматом натрия). Все эти эффекторы нивелировали вызываемое закаливающим прогревом увеличение активности аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы и существенно угнетали развитие теплоустойчивости проростков. Сделано заключение о роли пероксида водорода, образующегося с участием NADPH-оксидазы и СОД, в индуцировании антиоксидантной системы при тепловом закаливании проростков пшеницы.

Ключевые слова: Triticum aestivum L., активные формы кислорода, NADPH-оксидаза, супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, гваяколпероксидаза, тепловое закаливание.

К настоящему времени накоплены экспериментальные доказательства участия активных форм кислорода (АФК) в индуцировании экспрессии генов антиоксидантных энзимов в растительных клетках. Так, на растениях кукурузы показано увеличение содержания транскриптов и активности цитозольной и хлоропластной форм аскорбатпероксидазы и Cu,Zn-супероксиддисмутазы (СОД) под влиянием экзогенного H_2O_2 [1]. В клетках водоросли *Ulva fasciata* после обработки H_2O_2 отмечено появление транскриптов Fe-СОД [2]. Увеличение количества транскриптов цитозольной аскорбатпероксидазы в ответ на обработку индуктором окислительного стресса метилвиологеном или H_2O_2 происходило в клетках суспензионной культуры зародышей риса [3]. Возможность H_2O_2 -индуцированной экспрессии генов глутатионпероксидазы была продемонстрирована на суспензионной культуре клеток сои [4].

Известно, что увеличение содержания АФК в клетках происходило и в ответ на действие стрессоров различной природы [2, 5].

Такой эффект могут вызывать не только повреждающие, но и закаливающие воздействия, однако в этом случае усиление генерации АФК носит транзитный характер [6]. Предобработка проростков пшеницы антиоксидантом ионолом в значительной степени угнетала развитие их теплоустойчивости после действия закаливающих температур [6]. В связи с этим можно полагать, что АФК являются посредниками, необходимыми для индуцирования теплоустойчивости растений закаливающими температурами.

В то же время, роль АФК и их источников в индуцировании конкретных стресс-протекторных систем при воздействии на растения высоких закаливающих температур исследована мало. Увеличение генерации АФК может происходить, в частности, за счет стресс-индуцируемой активации NADPH-оксидазы [7] и некоторых форм пероксидазы [8], которые генерируют супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), превращающийся в более стабильную АФК – H_2O_2 под влиянием СОД [9]. Кроме того, увеличение генерации АФК

при действии стрессоров может быть обусловлено инактивацией некоторых антиоксидантных энзимов [10].

Целью настоящей работы является выяснение роли H_2O_2 , а также NADPH-оксидазы и СОД, как энзимов, участвующих в формировании его пула, в индуцировании активности антиоксидантных энзимов – аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы, при тепловом закаливании растений. Исследования проводили на корнях интактных этиолированных проростков пшеницы, которые более чувствительны к высокотемпературным закалывающим воздействиям, чем побеги [6] и являются удобной моделью для исследования систем генерации АФК [8].

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали этиолированные проростки мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия, выращенные на очищенной водопроводной воде при 20 °С. Трехсуточные проростки соответствующих вариантов опыта в течение 15 ч инкубировали на растворах скавенджера H_2O_2 диметилтиомочевина (ДМТМ, 150 мкМ) [2], ингибиторов NADPH-оксидазы (имидазол, 10 мкМ) [11] или Cu,Zn-СОД (диэтилдитиокарбамат натрия – ДДК, 5 мМ) [3]. Концентрации этих соединений выбирали на основании предварительных опытов. Контрольные проростки в это время продолжали инкубировать на воде.

Проростки, после обработки этими соединениями, подвергали одномоментному закалывающему прогреву в водном термостате при температуре $42,0 \pm 0,1$ °С [6]. Затем растительный материал выдерживали на растворах указанных соединений еще 1 ч и после этого переносили на очищенную водопроводную воду. Образцы, необработанные эффекторами, инкубировали на воде.

Как было установлено ранее, максимальная теплоустойчивость проростков развивалась через 24 ч после закалывающего прогрева [6]. В этот момент определяли их теплоустойчивость. Для этого проростки подвергали потенциально летальному прогреву в водном ультратермостате при $46,0 \pm 0,1$ °С в течение 10 мин. Через четыре дня после воздействия повреждающего прогрева оценивали количество выживших проростков.

Содержание H_2O_2 определяли ферротииоцианатным методом, экстрагируя его из растертых на холоде корней 5%-й ТХУ. Пробы центрифугировали (8000 g, 10 мин) при температуре не более 4 °С и в супернатанте опре-

деляли концентрацию H_2O_2 с использованием соли Мора и тиоцианата аммония [6].

Для определения активности СОД (1.15.1.1) навеску корней проростков массой 0,5 г гомогенизировали на холоде в 10 мл 0,15 М К,Na-фосфатного буфера (рН 7,6) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ), дитиотриитола (1 мМ), фенолметилсульфонилфторида (0,5 мМ) и детергента Тритона X-100 (конечная концентрация 0,1%). Для анализа использовали супернатант после центрифугирования гомогената при 8000 g. Активность СОД определяли, используя метод, основанный на способности энзима конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия NADH и феназинметосульфата [12]. Светопоглощение определяли при 560 нм.

Для определения активности аскорбатпероксидазы (1.11.1.11) и гваяколпероксидазы (1.11.1.7) корни (0,5 г) гомогенизировали в охлажденной ступке в 10 мл 0,06 М К,Na-фосфатного буфера (рН 7,0) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ), дитиотриитола (1 мМ) и фенолметилсульфонилфторида (0,5 мМ). Гомогенат центрифугировали при 8000 g в течение 10 мин при 4 °С. Супернатант использовали для определения активности энзимов.

Активность аскорбатпероксидазы определяли при рН 7,0 по уменьшению светопоглощения при 290 нм в результате окисления аскорбиновой кислоты ($E = 2,8 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$) в присутствии H_2O_2 [13]. При анализе активности гваяколпероксидазы рН реакционной смеси поддерживали на уровне 6,2 с помощью 0,06 М К,Na-фосфатного буфера. В качестве субстрата использовали H_2O_2 , в качестве восстановителя гваякол, светопоглощение продукта его окисления ($E = 26,6 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$) определяли при 470 нм [14].

Содержание протеина анализировали по методу Бредфорда, используя в качестве стандарта БСА [15].

Опыты проводили в трехкратной биологической повторности и каждый воспроизводили независимо 2–3 раза. На рисунках и в таблицах приведены средние величины и их стандартные отклонения ($M \pm \sigma$). Достоверность различий между вариантами оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента. Кроме специально оговоренных случаев обсуждаются различия, достоверные при $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В корнях контрольных проростков содержание H_2O_2 за время наблюдений достоверно

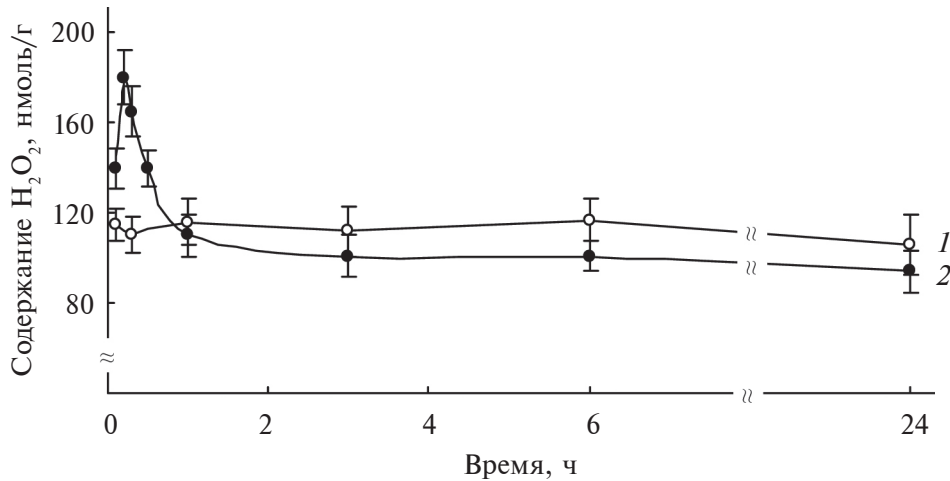


Рис. 1. Содержание пероксида водорода в корнях проростков пшеницы после закаливающего прогрева ($M \pm \sigma$, $n = 6$). Здесь и на рис. 2: 1 – контроль; 2 – закаливающий прогрев при 42 °С в течение 1 мин

не изменялось (рис. 1). После закаливающего прогрева уже через 5 мин его количество повышалось, через 10–15 мин оно достигало максимальных значений, а концу первого часа снижалось до величин контроля. В дальнейшем в корнях закаленных проростков отмечалась тенденция к уменьшению содержания пероксида водорода (рис. 1).

Пул H_2O_2 в растительных клетках зависит от активности АФК-генерирующих и антиоксидантных энзимов, прежде всего, различных пероксидаз и каталазы. Активность аскорбатпероксидазы в наших экспериментах в течение первого часа после закаливающего прогрева не изменялась, через 3–6 ч отмечалось увеличение активности этого энзима, а через 24 ч

после закаливания она повышалась почти в 1,4 раза (рис. 2, А). При этом активность аскорбатпероксидазы в корнях незакаленных проростков в период наблюдений достоверно не изменялась.

Активность гваяколпероксидазы в корнях в течение первого часа после закаливания также существенно не изменялась, заметное ее повышение происходило через 6 ч после закаливающего воздействия, через 24 ч активность энзима возрастала на 33% (рис. 2, Б).

Одной из причин увеличения содержания H_2O_2 в растительных тканях после прогрева может быть частичная инактивация некоторых антиоксидантных энзимов, в частности, каталазы, отличающейся невысокой термо-

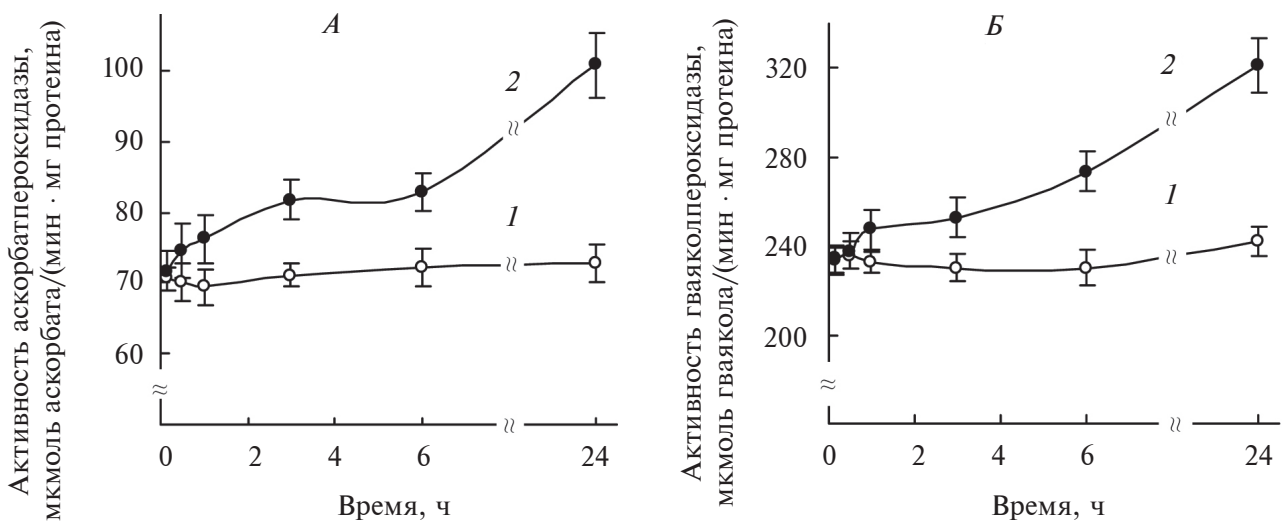


Рис. 2. Активность аскорбатпероксидазы (А) и гваяколпероксидазы (Б) в корнях проростков пшеницы после закаливающего прогрева ($M \pm \sigma$, $n = 4$)

стабільністю [16]. Однак раніше нами було показано, що в течение перших 3 ч після закаливающего прогрєва активність каталази в корнях проростков пшениці суттєво не змінювалась, а згодом збільшувалась, поступово досягаючи максимуму через 24 ч після закаливання [17].

Ітак, активність аскорбатпероксидази, гваяколпероксидази (рис. 2) і каталази [17] (основних ензимів, учасуючих в нейтралізації H_2O_2) не змінювалась в течение першого часа після закаливающего прогрєва, но помітно збільшувалась через 24 ч після такого впливу, когдa набувалося максимальне розвиток теплоустойчивості проростков. В зв'язі з цим можна полагати, що збільшення вмісту H_2O_2 , що відбувається в течение перших 30 мин після закаливающего прогрєва, не пов'язано з змінами активності нейтралізуючих його ензимів.

В наступуючих експериментах вивчали вплив скавенджера H_2O_2 (ДМТМ) і інгібіторів NADPH-оксидази (імідазол) і Cu,Zn-СОД (ДДК) на вміст H_2O_2 в корнях проростков через 10 мин після закаливающего прогрєва, когдa набувалося його максимум. ДМТМ в використовуємой концентрації сама по собі майже не впливала на вміст H_2O_2 , однак в значительній степені знімала ефект його збільшення, що викликається закаливающим прогрєвом (табл. 1). Підвищення вмісту H_2O_2 , індукуюване закаливанням, також помітно нівелювалося імідазолом і повністю знімалося інгібітором СОД ДДК. При цьому самі інгібітори суттєво не впливали на вміст H_2O_2 в корнях проростков (табл. 1).

Таким чином, результати інгібіторного аналізу дають підстави полагати, що уве-

личення вмісту H_2O_2 сразу після закаливающего прогрєва може бути обумовлено підвищенням активності NADPH-оксидази, генеруючої супероксидний аніон-радикал, і СОД, що перетворює його в H_2O_2 .

Припущення про ролі активації СОД в збільшенні вмісту H_2O_2 в корнях проростков згодуюється з результатами прямого визначення активності цього ензиму. Так, активність ензиму значительнo збільшувалась уже через 10 мин після закаливающего прогрєва (рис. 3). Інгібітор СОД ДДК сам по собі знімав активність цього ензиму і повністю знімав ефект його збільшення, що викликається закаливающим прогрєвом. При цьому дія ДДК на активність СОД була оборотимим. Через 5 ч після переносу проростков на середу без інгібітора (к 6-му ч спостережень) активність ензиму в варіанті з ДДК не відрізнялась від величини контролю, в той же час при комбінованому впливі ДДК і закаливанні активність ензиму, на цій фазі спроб, залишалась більш низькою порівняно з величиною в варіанті з закаливанням (рис. 3). Аналогічна картина спостерігалась і через 24 ч після закаливающего прогрєва.

Якщо АФК як можливі сигнальні посередники причасні до розвитку адаптивних реакцій проростков пшениці, що викликається закаливающим прогрєвом, то модифікація їх утворення повинна відобразитися на теплоустойчивості проростков. В наших експериментах скавенджер H_2O_2 ДМТМ і інгібітори NADPH-оксидази (імідазол) і СОД (ДДК) частинно нівелювали позитивний вплив закаливающего прогрєва на теплоустойчивість проростков пшениці (табл. 1). В той же час самі по собі ці інгібітори майже не впливали на виживання проростков після

Таблиця 1. Вміст H_2O_2 в корнях проростков пшениці через 10 мин після закаливання (42 °С, 1 мин) і виживання проростков після повреждающего прогрєва (46 °С, 10 мин) ($M \pm \sigma$, n = 6)

Варіант спроб	Вміст H_2O_2 , нмоль/г	Вживання, %
Контроль	120 ± 6	42,8 ± 2,7
Закаливание	195 ± 8	80,4 ± 3,4
ДМТМ (150 мМ)	112 ± 6	49,3 ± 2,9
Закаливание + ДМТМ (150 мМ)	140 ± 9	51,4 ± 4,0
Імідазол (10 мкМ)	125 ± 10	38,6 ± 4,1
Закаливание + імідазол (10 мкМ)	155 ± 8	53,3 ± 5,2
ДДК (5 мМ)	101 ± 7	47,4 ± 4,3
Закаливание + ДДК (5 мМ)	96 ± 8	69,4 ± 3,9

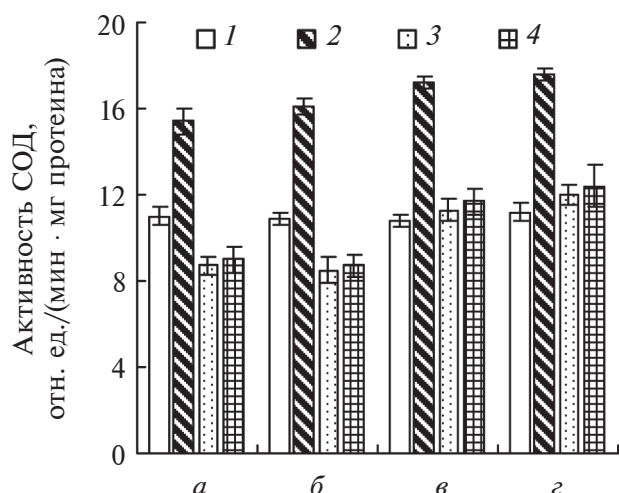


Рис. 3. Влияние закаливающего прогрева и ДДК на активность СОД в корнях пшеницы ($M \pm \sigma$, $n = 4$): а–г – соответственно через 10 мин, 1, 6 и 24 ч после закаливающего прогрева. 1 – контроль; 2 – закаливающий прогрев при 42 °С в течение 1 мин; 3 – ДДК, 5 мМ; 4 – закаливающий прогрев при 42 °С в течение 1 мин + ДДК, 5 мМ

повреждающего прогрева, а ДМТМ даже вызвала его небольшое повышение, что может быть обусловлено ее прямым антиоксидантным действием.

Как уже отмечалось, одной из защитных реакций, индуцируемых H_2O_2 как сиг-

нальной молекулой, может быть повышение активности антиоксидантных ферментов в растительных клетках. В наших экспериментах обработка проростков скавенджером АФК ДМТМ и ингибиторами ферментов, генерирующих АФК (имидазолом и ДДК) в значительной степени уменьшала индуцирующее влияние закаливающего прогрева на аскорбатпероксидазу и гваяколпероксидазу, что наблюдалось через 24 ч после закаливания (табл. 2). При этом сами по себе указанные эффекторы незначительно влияли на активность антиоксидантных ферментов.

Через 24 ч после повреждающего прогрева активность аскорбатпероксидазы в корнях проростков существенно снижалась во всех вариантах опыта. В то же время при закаливании она сохранялась на более высоком уровне, а в сочетании с ДМТМ активность фермента незначительно отличалась от величины контроля (табл. 2). В корнях проростков, обработанных имидазолом, после повреждающего прогрева активность фермента была ниже, чем в контроле. При сочетании имидазола и закаливающего прогрева активность аскорбатпероксидазы была ниже, чем в варианте с закаливанием, хотя это различие не было достоверным при $P \leq 0,05$. Сочетание ДДК с закаливанием снижало активность аскорбатпероксидазы, она была ниже по сравнению с вариантом с закаливающим прогревом и даже ниже, чем в соответствующем контроле.

Таблица 2. Активность аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы в корнях проростков пшеницы через 24 ч после закаливания (42 °С, 1 мин) и через 24 ч после повреждающего прогрева (46 °С, 10 мин) ($M \pm \sigma$, $n = 4$)

Вариант опыта	Аскорбатпероксидаза, мкмоль аскорбата / (мин · мг протеина)		Гваяколпероксидаза, мкмоль гваякола / (мин · мг протеина)	
	после закаливания	после повреждающего прогрева	после закаливания	после повреждающего прогрева
Контроль	67,8 ± 2,6	48,7 ± 1,7	228 ± 6	243 ± 8
Закаливание	93,5 ± 3,4	61,1 ± 2,7	287 ± 8	294 ± 6
ДМТМ (150 мМ)	63,8 ± 2,6	44,1 ± 1,8	224 ± 6	232 ± 6
Закаливание + ДМТМ (150 мМ)	73,4 ± 3,9	50,2 ± 1,8	242 ± 6	260 ± 6
Имидазол (10 мкМ)	69,4 ± 2,8	37,9 ± 1,2	214 ± 9	222 ± 7
Закаливание + имидазол (10 мкМ)	76,2 ± 3,9	57,0 ± 1,6	218 ± 8	262 ± 6
ДДК (5 мМ)	70,0 ± 2,7	33,2 ± 2,1	211 ± 15	209 ± 9
Закаливание + ДДК (5 мМ)	71,2 ± 2,9	30,1 ± 3,2	214 ± 14	226 ± 8

Активність гваяколпероксидази після повреждающего прогрєва суттєво не змєнялась як в контролє, так и в варіантє с закаливанием, при этом в корнях закаленных проростков она была значительно выше, чем в образцах без закаливания (табл. 2). В вариантах с ДМТМ и имидазолом на этой фазе опыта активність гваяколпероксидази суттєво не отличалась от соответствующего контроля, однако антиоксидант и ингибитор NADPH-оксидазы немного уменьшали активність энзима в корнях закаленных проростков. В вариантах с ингибитором СОД ДДК и его сочетанием с закаливанием в корнях проростков, подвергнутых повреждающему прогрєву, отмечались более низкие значения активности гваяколпероксидазы по сравнению с вариантом с закаливанием и соответствующим контролем (табл. 2).

Таким образом, с использованием скавенджера H_2O_2 и ингибиторов энзимов, задействованных в его генерации, показано участие АФК в активации таких энзимных составляющих антиоксидантной системы как аскорбатпероксидаза и гваяколпероксидаза. Угнетение активности этих энзимов имидазолом свидетельствует об участии NADPH-оксидазы, локализованной в плазматической мембране [18], в генерации АФК. Такие результаты согласуются с данными работы [19], в которой показано, что активация экспрессии гена цитозольной аскорбатпероксидазы *APX2* в листьях арабидопсиса происходит с участием внеклеточного пула H_2O_2 . Примечательно, что экспрессия генов этой же формы аскорбатпероксидазы индуцировалась у арабидопсиса экзогенным H_2O_2 [20].

Известно, что NADPH-оксидаза генерирует супероксидный радикал на наружной стороне плазматической мембраны [18]. Затем $O_2^{\cdot-}$ спонтанно, а чаще под влиянием СОД, превращается в более стабильную АФК — пероксид водорода [21, 22]. Установлено, что последний способен легко перемещаться через мембраны клеток разных организмов, хотя представления о механизмах этого процесса формируются лишь в последнее время [23].

СОД у этиолированных растений и в незеленых их частях в значительных количествах локализована в цитоплазме, но выявлена и в апопласте [24]. Не исключено, что именно апопластная СОД, превращая супероксидный анион-радикал в H_2O_2 , способствует проникновению молекул АФК в цитоплазму и выполнению ими сигнальных функций. В то же время возможно и проникновение $O_2^{\cdot-}$ в ци-

топлазму [18] с дальнейшим его превращением в H_2O_2 внутриклеточными формами СОД. Так или иначе, установленное нами значительное нивелирование увеличения активности аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы ингибитором СОД, свидетельствуют в пользу предположения об участии этого энзима в трансдукции сигнала АФК, индуцируемого закаливающим прогрєвом.

Таким образом, есть основания полагать, что вызываемое закаливающим прогрєвом транзиторное увеличение содержания H_2O_2 в корнях пшеницы выполняет функцию сигнала, индуцирующего стресс-протекторные системы, в частности, антиоксидантные энзимы аскорбатпероксидазу и гваяколпероксидазу. Накопление H_2O_2 может быть связано с активацией NADPH-оксидазы и СОД. Вполне естественно, что нельзя исключить и участие в этом процессе других энзимных систем, генерирующих АФК, например, экстраклеточных пероксидаз класса III [10].

УЧАСТЬ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ В ІНДУКУВАННІ АСКОРБАТПЕРОКСИДАЗИ І ГВЯЯКОЛПЕРОКСИДАЗИ ПІД ЧАС ТЕПЛООВОГО ЗАГАРТОВУВАННЯ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ

Ю. Є. Колупаєв, О. І. Обозний

Харківський національний аграрний університет ім. В. В. Докучаєва, Україна;
e-mail: plant_biology@mail.ru

Досліджували вплив однохвилинного загартовуючого прогрєву (42 °С) на динаміку генерації H_2O_2 і активності антиоксидантних энзимів у корнях проростків пшениці. Показано, що протягом перших 30 хв після дії гіпертермії збільшується вміст H_2O_2 , надалі він знижується до рівня контролю. Активність супероксиддисмутази (СОД) істотно збільшується вже через 10 хв після прогрєву і зберігається на підвищеному рівні протягом 24 год спостережень. Активність аскорбатпероксидази і гваяколпероксидази підвищується через 3–6 год після загартовуючого прогрєву і досягає максимуму через 24 год, коли відбувається найзначніше підвищення теплостійкості проростків. Спричинене загартовуючим прогрєвом короточасне збільшення вмісту H_2O_2 пригнічувалося обробкою проростків диметилтіосечовиною (скавенджером H_2O_2) інгібіторами NADPH-оксидази (імідазолом) і СОД (діетилдитіокарбаматом натрію). Всі ці

ефектори нівелювали збільшення активності аскорбатпероксидази і гваяколпероксидази, зумовлене загартовуючим прогрівом, й істотно пригнічували розвиток теплостійкості проростків. Зроблено висновок про роль пероксиду водню, що утворюється за участю NADPH-оксидази і СОД, в індукованні антиоксидантної системи під час теплового загартовування проростків пшениці.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., активні форми кисню, NADPH-оксидаза, супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, гваяколпероксидаза, теплове загартовування.

PARTICIPATION OF THE ACTIVE OXYGEN FORMS IN THE INDUCTION OF ASCORBATE PEROXIDASE AND GUAIACOL PEROXIDASE UNDER HEAT HARDENING OF WHEAT SEEDLINGS

Yu. E. Kolupaev, O. I. Oboznyi

V. V. Dokuchayev Kharkiv National Agrarian University, Ukraine;
e-mail: plant_biology@mail.ru

The influence of one-minute hardening heating at 42 °C on the dynamics of hydrogen peroxide generation and activity of antioxidant enzymes in roots of winter wheat seedlings has been investigated. It was shown that the content of hydrogen peroxide increased within the first 30 minutes after heat influence, whereupon it approached the level of control variant. The activity of superoxide dismutase (SOD) increased significantly within 10 min after heating and was maintained at a high level during 24 hours of observation. The activity of ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase increased after 3-6 hours after the hardening and reached its maximum after 24 hours, when there was the most significant increase in heat resistance of seedlings. The short-term increase in hydrogen peroxide content caused by hardening heating was suppressed by treatment of seedlings with H₂O₂ scavenger dimethylthiourea, inhibitors of NADPH-oxidase (imidazole) and SOD (sodium diethyldithiocarbamate). All these effectors levelled the increase of activity of ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and significantly inhibited the development of heat resistance of seedlings. The conclusion was made about the role of hydrogen peroxide produced with the participation of NADPH-oxidase and SOD in the induction of antioxidant system by heat hardening of wheat seedlings.

Key words: *Triticum aestivum* L., reactive oxygen species, NADPH-oxidase, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase, heat hardening.

1. *Hu X., Jiang M., Zhang J. et al.* // *New Phytologist*. – 2007. – **173**, N 1. – P. 27–38.
2. *Sung M., Hsu Yi., Hsu Yu.* // *Mar Biotechnol.* – 2009. – **11**, N 2. – P. 199–209.
3. *Morita S., Kaminaka H., Masumura T., Tanaka K.* // *Plant Cell Physiol.* – 1999. – **40**, N 4. – P. 417–422.
4. *Levine A., Tenhaken R., Dixon R., Lamb C.* // *Cell*. – 1994. – **79**, N 4. – P. 583–593.
5. *Prasad T. K., Anderson M. D., Stewart C. R.* // *Plant Physiol.* – 1994. – **105**, N 2. – P. 619–627.
6. *Kolupaev Yu. E., Karpets Yu. V., Kosakivska I. V.* // *Gen. Appl. Plant Physiol.* – 2008. – **34**, N 3–4. – P. 251–266.
7. *Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N. et al.* // *Trends Plant Sci.* – 2011. – **16**, N 6. – P. 300–309.
8. *Minibayeva F. V., Gordon L. K., Kolesnikov O. P., Chasov A. V.* // *Protoplasma*. – 2001. – **217**, N 1–2. – P. 125–128.
9. *Alscher R. G., Erturk N., Heath L. S.* // *J. Exp. Bot.* – 2002. – **53**, N 372. – P. 1331–1341.
10. *Креславский В. Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С. И., Кузнецов Вл. В.* // *Физиол. раст.* – 2012. – **59**, № 2. – С. 163–178.
11. *Hung K. T., Hsu Y. T., Kao C. H.* // *Physiol. Plant.* – 2006. – **127**, N 2. – P. 293–303.
12. *Чевару С., Чаба И., Секей Й.* // *Лаб. дело.* – 1985. – № 11. – С. 678–681.
13. *Nakano Y., Asada K.* // *Plant Cell Physiol.* – 1981. – **22**, N 5. – P. 867–880.
14. *Ridge I., Osborne D. J.* // *J. Exp. Bot.* – 1970. – **21**, N 4. – P. 843–856.
15. *Bradford M. M.* // *Anal. Biochem.* – 1976. – **72**, N 1. – P. 248–254.
16. *Lopez-Delgado H., Dat J. F., Foyer C. H., Scott I. M.* // *J. Exp. Bot.* – 1998. – **49**, N 321. – P. 713–720.
17. *Обозный А. И., Колупаев Ю. Е., Швиденко Н. В., Вайнер А. А.* // *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія.* – 2012. – Вип. 2 (26). – С. 71–84.
18. *Sagi M., Fluhr R.* // *Plant Physiol.* – 2006. – **141**, N 2. – P. 336–340.
19. *Bechtold U., Richard O., Zamboni A. et al.* // *J. Exp. Bot.* – 2008. – **59**, N 2. – P. 121–133.
20. *Davletova S., Rizhsky L., Liang H. et al.* // *Plant Cell.* – 2005. – **17**, N 1. – P. 268–281.

21. Таран Н. Ю., Оканенко О. А., Бацманова Л. М., Мусієнко М. М. // Физиология и биохимия культ. растений. – 2004. – **36**, № 1. – С. 3–14.
22. Foyer C. H., Noctor G. // Antioxid. Redox Signal. – 2009. – **11**, N 4. – P. 861–906.
23. Lushchak V. I. // Comparative Biochem. Physiol. – 2011. – **153**, pt C. – P. 175–190.
24. Miller R., Suzuki N., Ciftci-Yilmaz S., Mittler R. // Plant Cell Environ. – 2010. – **33**, N 4. – P. 453–467.

Получено 13.07.2012