

## **МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

---

---

УДК 581.1

### **КОЛЕОПТИЛИ ПШЕНИЦЫ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

© 2013 г. Ю. Е. Колупаев, Ю. В. Карпец, Т. О. Ястреб

*Харьковский национальный аграрный университет им. В. В. Докучаева  
(Харьков, Украина)*

Обоснована возможность использования колеоптилей, отделяемых от четырехсуточных проростков пшеницы, в качестве модельного объекта для исследования физиологических (стресс-протекторных) эффектов экзогенных соединений (сигнальных молекул, стрессовых фитогормонов и их аналогов). Изолированные колеоптили при их инкубации на растворе сахарозы в течение продолжительного времени не проявляли признаков клеточной гибели. Через короткое время после начала обработки колеоптилей пшеницы донором оксида азота нипропруссидом натрия (НПН), жасмоновой, салициловой кислотами, а также активными аналогами салициловой кислоты, происходило усиление образования активных форм кислорода (АФК). Обработка колеоптилей этими соединениями вызывала повышение их устойчивости к повреждающему прогреву. В то же время карбоновые кислоты, не отличающиеся высокой физиологической активностью (бензойная, яблочная, щавелевая), а также неактивный аналог НПН ферроцианид калия не влияли на генерацию АФК и теплоустойчивость колеоптилей.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum L.*, колеоптили, супероксидный анион-радикал, теплоустойчивость, физиологически активные вещества

Изолированные органы растений в течение многих десятилетий используются в физиологических исследованиях. Особенно широко их используют для оценки влияния экзогенных физиологически активных веществ и стрессоров на растения. Такими объектами являются изолированные листья (Rao et al., 1997; Hu et al., 2007), корни (Minibaeva et al., 2001), семядоли (Анев и др., 1987) растений разных видов. Весьма удобным объектом для исследования устойчивости растений к стрессорам, определяющейся преимущественно клеточными механизмами, а также физиологического действия экзогенных соединений, являются колеоптили злаков (Мелехов и др., 1983; Юсупова и др., 2005; Карпец и др., 2011). В то же время

вопрос о корректности их использования в физиологических исследованиях остается предметом дискуссии.

Колеоптили злаков в составе интактных растений имеют относительно короткую продолжительность жизни. Так, на 5-6-е сут с момента прорастивания зерновок пшеницы при температуре 26°C начинается запрограммированная гибель клеток колеоптилей (Ванюшин, 2001). Нами было показано, что через 7-8 сут с момента прорастивания семян пшеницы при температуре 20°C в колеоптилях интактных проростков наблюдались признаки фрагментации ДНК. В то же время в отрезках, отделенных от проростков на 4 сут и инкубированных еще 3-4 сут на 2% растворе сахарозы, ДНК оставалась целостной (Карпец и др., 2010). Были выявлены и отличия в функционировании про-/антиоксидантных систем и состоянии биомембран у изолированных колеоптилей и находящихся в составе интактных проростков

---

*Адрес для корреспонденции:* Колупаев Юрий Евгеньевич  
Харьковский национальный аграрный университет им.  
В.В.Докучаева, п/о «Коммунист-1», Харьков, 62483,  
Украина;  
e-mail: plant\_biology@mail.ru

## КОЛЕОПТИЛИ ПШЕНИЦЫ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ

пшеницы. Так, у колеоптилей, отделенных от четырехсуточных проростков, в течение последующей их 11-дневной инкубации на 2% растворе сахарозы интенсивность генерации  $O_2^{\cdot-}$  и степень окрашивания тканей эвансом голубым, характеризующая целостность мембран, существенно не изменялись, содержание МДА увеличивалось незначительно. В то же время у колеоптилей, отделенных от интактных проростков на 7-е сут и позже, отмечались флуктуации интенсивности генерации  $O_2^{\cdot-}$ , значительно более высокое содержание МДА и повышение степени окрашивания эвансом голубым (Карпец и др., 2011). Такие результаты послужили основанием для заключения о том, что при отделении колеоптилей от интактных проростков и инкубации на растворе сахарозы в них замедляется интенсивность процессов клеточной гибели. В связи с этим изолированные колеоптили пшеницы, инкубируемые в среде, содержащей сахарозу, можно считать вполне адекватной моделью для изучения клеточных механизмов устойчивости и оценки физиологических эффектов различных экзогенных соединений. Эта модель привлекает возможностью определения методами неразрушающего контроля генерации АФК, в частности супероксидного анион-радикала  $O_2^{\cdot-}$ , клеточной поверхностью (Шорнинг и др., 2000). Как показали наши исследования, усиление генерации супероксидного анион-радикала является быстрой реакцией колеоптилей на действие физиологически активных соединений – салициловой кислоты, ее активных структурных аналогов и миметиков (Ястреб, Колупаев, 2012), доноров оксида азота (Карпец и др., 2010; Карпец та ін., 2011), жасмоновой кислоты (Карпец и др., 2012). Все упомянутые соединения обладают способностью повышать устойчивость клеток колеоптилей к абиотическим стрессорам. В связи с этим в настоящей работе обосновывается возможность использования колеоптилей как модели для исследования физиологической (стресс-протекторной) активности экзогенных соединений.

### МЕТОДИКА

Семена пшеницы мягкой озимой (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия обеззараживали 5% раствором пероксида водорода в течение 30 мин, промывали стерильной дистиллированной водой и проращивали в чашках Петри темноте при температуре  $20 \pm 1^\circ C$  в течение 4 сут, увлажняя дистиллированной водой. После этого колеоптили препарировали, закрепляя про-

ростки в специальных плексигласовых планшетах с бороздками. Для экспериментов использовали базальные части колеоптилей длиной 7 мм. Первичный лист вытаскивали из отрезков стеклянными иглами. В процессе работы используемые инструменты (ланцеты, планшеты и иглы) периодически обрабатывали 96% этанолом.

Отпрепарированные колеоптили помещали на 2 ч в стерильную дистиллированную воду. После этого отрезки переносили в чашки Петри с простерилизованным 2% раствором сахарозы с добавлением Na-соли пенициллина (100 тыс. ед./л) и инкубировали на нем в течение 14-16 ч. После этого в среду инкубации опытных вариантов вносили исследуемые физиологически активные вещества: салициловую (СК), 4-оксибензойную (4-ОБК), бензойную (БК), янтарную (ЯК), щавелевую (ЩК) и яблочную (ЯБК) кислоты в концентрациях 10 мкМ (время инкубации на растворах 3 ч), донор оксида азота нитропруссид натрия (НПН) в концентрации 500 мкМ, его неактивный структурный аналог ферроцианид калия (ФЦК – 500 мкМ) и жасмоновую кислоту (ЖАК) в концентрации 1 мкМ (время инкубации на растворах 24 ч). Контрольные колеоптили продолжали инкубировать на растворе сахарозы с добавлением пенициллина.

В определенные промежутки времени после начала обработки колеоптилей исследуемыми соединениями определяли генерацию ими супероксидного анион-радикала и содержание в них пероксида водорода.

Выделение супероксидных анион-радикалов из отрезков колеоптилей во внешний раствор определяли по восстановлению нитросинего тетразолия (НСТ). По 15 колеоптилей помещали в пробирки с 5 мл 0,1 М К,Na-фосфатного буфера (рН 7,6), содержащего 0,05% НСТ, 10 мкМ ЭДТА, 0,1% Тритона X-100. Пробы в течение 30 мин встряхивали на шейкере-качалке (120 об./мин), после чего определяли светопоглощение инкубационного раствора при длине волны 530 нм (Шорнинг и др., 2000). Для проверки специфичности генерации  $O_2^{\cdot-}$  в специальных опытах в пробы добавляли СОД (50 ед./мл). СОД ингибировала генерацию супероксидного анион-радикала не менее, чем на 90%. В связи с этим считали, что количество восстановленного НСТ определяется содержанием  $O_2^{\cdot-}$ . Супероксид-продуцирующую активность оценивали как изменение светопоглощения реакционной смеси

**Влияние исследуемых соединений на образование АФК в колеоптилях пшеницы и их устойчивость к повреждающему прогреву (приведены обобщенные данные, опубликованные в работах (Карпец и др., 2010; 2012; Ястреб, Колупаев, 2012), и результаты оригинальных исследований)**

Исследуемое соединение	Генерация супероксид-радикала		Содержание пероксида водорода		Теплоустойчивость
	Временной максимум изменения	Эффект и его характер	Временной максимум изменения	Эффект и его характер	
СК, 10 мкМ	2 ч	++ транзиторный	2 ч	++ транзиторный	++
4-ОБК, 10 мкМ	2 ч	++ транзиторный	2 ч	++ транзиторный	+
БК, 10 мкМ	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	изменения нет
ЯК, 10 мкМ	2 ч	++ транзиторный	2 ч	++ транзиторный	++
ЩК, 10 мкМ	отсутствует	отсутствует	2 ч	+ транзиторный	изменения нет
ЯБК, 10 мкМ	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	изменения нет
НПН, 500 мкМ	2 ч	+++ стабильный	2 ч	- транзиторный	++
ФЦК, 500 мкМ	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	изменения нет
ЖАК, 1 мкМ	15 мин	++ транзиторный	15 мин	++ транзиторный	++

**Примечания:** «+» – увеличение на 10-25%. «++» – увеличение на 25-50%, «+++» – увеличение на 50-100%, «->» – снижение на 7-10%.

за единицу времени инкубации в расчете на один отрезок.

Содержание пероксида водорода определяли по образованию комплекса с ксиленолевым оранжевым (Bindschedler et al., 2001). Перед анализом реактив готовили смешиванием 1 мл 25 мМ раствора соли Мора в 2,5 М серной кислоте со 100 мл 125 мкМ раствора ксиленолевого оранжевого в 100 мМ сорбитоле. Для определения содержания  $H_2O_2$  навеску колеоптилей растирали на льду в 0,025 мМ Нафосфатном буфере (рН 6,2), гомогенат центрифугировали 10 мин при 8000 g, супернатант добавляли к 10-кратному объему указанного реактива и инкубировали при комнатной температуре 30 мин. После центрифугирования при 8000 g в течение 10 мин определяли оптическую плотность раствора при длине волны 560 нм.

По окончании времени инкубации колеоптилей на растворах эффекторов часть отрезков подвергали потенциально летальному прогреву в водяном ультратермостате при температуре 43°C в течение 10 мин. После прогрева колеоптилей всех вариантов опыта в течение 48 ч инкубировали на 2% растворе сахарозы с добавлением пенициллина и оценивали их повреждения по признакам инфильтрации тканей и потери тургора. Также оценивали состоя-

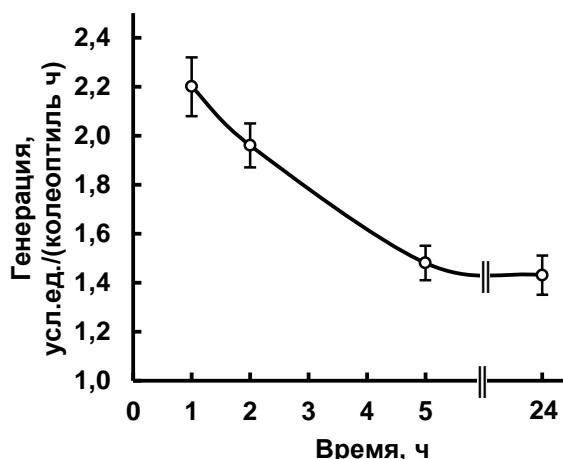
ние колеоптилей, которые не подвергались повреждающему прогреву. Во всех вариантах, независимо от природы добавляемых в среду эффекторов, их выживание составляло не менее 95%.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из проблем, возникающих при работе с изолированными органами растений, является реакция их клеток на поранение и отделение от целого организма – раневой стресс, который включает в себя многие признаки стрессовой реакции – повышение проницаемости мембран, выход ионов калия из клеток, усиление образования активных форм кислорода (АФК) (Минибаева и др., 1997). В связи с этим оценивали генерацию супероксидного анион-радикала колеоптилями пшеницы через определенные промежутки времени после отделения их от проростков. Повышение генерации  $O_2^{\cdot-}$  регистрировали в течение 2 ч после отделения колеоптилей от проростков, через 5 ч продуцирование супероксидного анион-радикала стабилизировалось (рисунок).

В связи с выявленной динамикой генерации  $O_2^{\cdot-}$  действие исследуемых соединений на продукцию АФК колеоптилями пшеницы и их теплоустойчивость оценивали после полной стабилизации этого показателя: через 14-16 ч

## КОЛЕОПТИЛИ ПШЕНИЦЫ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ



### Генерация супероксидного анион-радикала колеептилями пшеницы. ( $M \pm \sigma$ , $n = 4$ ).

инкубации колеептилей на 2% растворе сахаразы с добавлением пенициллина.

Транзиторное усиление образования супероксидного анион-радикала и пероксида водорода в колеептилях пшеницы происходило под влиянием СК, ее структурного аналога (4-ОБК) и миметика (ЯК) (таблица). При этом БК и ЯБК такого эффекта не проявляли. Обработка колеептилей ЩК не вызывала изменения генерации супероксидного анион-радикала, но приводила к небольшому увеличению содержания пероксида водорода.

Под влиянием донора оксида азота происходило наиболее значительное усиление генерации супероксидного анион-радикала, при этом оно постепенно увеличивалось в течение первых 2 ч наблюдений и затем оставалось на стабильно высоком уровне. НПН вызывал небольшое транзиторное снижение содержания пероксида водорода в колеептилях пшеницы (таблица). Неактивный аналог НПН ФЦК не вызывал изменений генерации АФК колеептилями пшеницы.

Под влиянием стрессового фитогормона ЖАК в колеептилях пшеницы происходило быстрое усиление образования  $O_2^{\cdot-}$  и увеличение содержания пероксида водорода, однако эти эффекты были кратковременными (таблица).

Наиболее существенное повышение теплоустойчивости колеептилей вызывала обработка донором NO. Весьма заметными были эффекты СК, ЯК и ЖАК. Менее существенно, но достоверно увеличивала теплоустойчивость колеептилей обработка структурным аналогом СК 4-ОБК. В то же время БК, ЩК, ЯБК и ФЦК не вызывали существенных изменений устой-

чивости колеептилей пшеницы к повреждающему прогреву.

Таким образом, прослеживается весьма стабильная связь между способностью исследуемых соединений усиливать генерацию АФК и их физиологической активностью. ЖАК, СК, 4-ОБК и ЯБК вызывали транзиторное усиление генерации АФК и повышение теплоустойчивости колеептилей пшеницы. При этом изменения генерации супероксид-радикала и содержания пероксида водорода были однонаправленными.

Несколько иной была картина при обработке колеептилей донором NO. Под влиянием НПН происходило значительное и стабильное усиление генерации супероксидного анион-радикала, при этом отмечалось небольшое временное снижение содержания пероксида водорода. Однозначно объяснить разнонаправленный характер изменения генерации  $O_2^{\cdot-}$  и содержания пероксида водорода на основании имеющихся  $O_2^{\cdot-}$  и данных не представляется возможным. Не исключено, что такой эффект может быть обусловлен флуктуациями активности супероксиддисмутазы под влиянием NO (Викторова и др., 2010). Наряду с усилением генерации супероксид-аниона, донор оксида азота вызывал существенное повышение теплоустойчивости колеептилей (таблица).

В целом можно констатировать, что колеептили пшеницы являются чувствительным объектом для исследования физиологической (стресс-протекторной) активности экзогенных соединений. Такая активность была характерной для оксида азота, являющегося сигнальной молекулой, стрессовых фитогормонов ЖАК и СК, а также структурного аналога СК 4-ОБК.

Кроме того, физиологическую активность проявляла ЯК, которую рассматривают как миметик действия СК (Тарчевский и др., 1999). Все соединения, индуцирующие теплоустойчивость колеоптилей, вызывали усиление генерации ими супероксидного анион-радикала. Такой феномен хорошо согласуется с современными представлениями о сигнальной роли АФК в растительных клетках (Miller et al., 2010; Mittler et al., 2011). Последние задействованы как посредники в передаче в генетический аппарат клетки эффектов других сигнальных соединений (например, NO) и стрессовых фитогормонов (Колупаев, Карпец, 2010). При этом усиление генерации АФК колеоптилями под влиянием физиологически активных соединений связано с их влиянием на активность ферментов, участвующих в метаболизме АФК, в первую очередь, с повышением активности энзимов, генерирующих АФК на клеточной поверхности – НАДФН-оксидазы и пероксидазы (Карпец та ін., 2011; Колупаев и др., 2012).

## ЛИТЕРАТУРА

- Анев В.Н., Шутова Л.П., Мелехов Е.И.* Сравнение трех методов оценки гибели семян огурца после нагрева // Физиология растений. – 1987. – Т. 34, № 6. – С. 1203-1207.
- Ванюшин Б.Ф.* Апоптоз у растений // Успехи биохимии. – 2001. – Т. 41. – С. 3-38.
- Викторова Л.В., Максютова Н.Н., Трифонова Т.В., Андрианов В.В.* Образование пероксида водорода и оксида азота при введении нитрата и нитрита в апопласт листьев пшеницы // Биохимия. – 2010. – Т. 75, № 1. – С. 117-124.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю. Е., Мусатенко Л.И., Обозный А.И., Луговая А.А., Ястреб Т.О.* Жасмоновая кислота индуцирует теплоустойчивость колеоптилей пшеницы и их ферментативную антиоксидантную систему // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2012. – Вип. 3 (27). – С. 22-30.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В.* Замедление процесса гибели клеток в сегментах колеоптилей пшеницы, инкубируемых на растворе сахарозы // Физиология и биохимия культ. растений. – 2011. – Т. 43, № 6. – С. 513-519.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Акинина Г.Е., Попов В.Н., Швиденко Н.В., Вайнер А.А., Коц Г.П., Обозный А.И.* Индуцирование теплоустойчивости колеоптилей пшеницы действием донора оксида азота: связь NO с другими сигнальными мессенджерами // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2010. – Вип. 1 (19). – С. 44-55.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Швиденко М.В., Дмитриев О.П.* Влияние экзогенного оксида азота (NO) на генерацию супероксидного анион-радикала та теплоустійкість колеоптилей пшениці // Доповіді НАН України. – 2011. – № 9. – С. 147-152.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В.* Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. – Киев: Основа, 2010. – 351 с.
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Швиденко Н.В., Карпец Ю.В.* Индукция теплоустойчивости колеоптилей пшеницы салициловой и янтарной кислотами: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Прикл. биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 5. – С. 550-556.
- Мелехов Е.И., Рамазанова Л.Х., Васильева А.В.* Методы количественной оценки гербицидных повреждений и их модификации // Изв. АН СССР. Сер. биологическая. – 1983. – № 3. – С. 785-788.
- Минибаева Ф.В., Рахматуллина Д.Ф., Гордон Л.Х., Вылегжанина Н.Н.* Роль супероксида в формировании неспецифического адаптационного синдрома корневых клеток // Докл. АН [Россия]. – 1997. – Т. 355, № 4. – С. 554-556.
- Тарчевский И.А., Максютова Н.Н., Яковлева В.Г., Гречкин А.Н.* Янтарная кислота – миметик салициловой кислоты // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 1. – С. 23-28.
- Шорнинг Б.Ю., Смирнова Е.Г., Ягужинский Л.С., Ванюшин Б.Ф.* Необходимость образования супероксида для развития этиолированных проростков пшеницы // Биохимия. – 2000. – Т. 65, вып. 12. – С. 1612-1618.
- Юсупова З.Р., Ахметова И.Э., Хайруллин Р.М., Максимова И.В.* Влияние хитоолигосахаридов на образование перекиси водорода и активность анионных пероксидаз в колеоптилях пшеницы // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 2. – С. 238-242.
- Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е.* Влияние экзогенных ароматических и дикарбоновых алифатических кислот на генерацию активных форм кислорода колеоптилями пшеницы и их теплоустойчивость // Физиология и биохимия культ. растений. – 2012. – Т. 44, № 3. – С. 225-231.
- Bindschedler L.V., Minibayeva F., Gardner S.L., Gerish C., Davies D.R. Bolwell G.P.* Early signalling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca<sup>2+</sup> // New Phytol. 2001. – V. 151, № 1. – P. 185-194.
- Hu X., Jiang M., Zhang J. Zhang A., Lin F., Tan M.* Calcium-calmodulin is required for abscisic acid-induced antioxidant defense and functions both upstream and downstream of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in

## КОЛЕОПТИЛИ ПШЕНИЦЫ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ

- leaves of maize (*Zea mays*) plants // *New Phytol.* – 2007. – V. 173. – P. 27-38.
- Miller R., Suzuki N., Ciftci-Yilmaz S., Mittler R. Reactive Oxygen Species Homeostasis and Signaling During Drought and Salinity Stresses // *Plant Cell Environ.* – 2010. – V. 33. – P. 453-467.
- Minibayeva F.V., Gordon L.K., Kolesnikov O.P., Chasov A.V. Role of Extracellular Peroxidase in the Superoxide Production by Wheat Root Cells // *Protoplasts*. – 2001. – V. 217. – P. 125-128.
- Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Van Breusegem F. ROS Signaling: the New Wave? // *Trends Plant Sci.* – 2011. – V. 16. – P. 300-309.
- Rao M.V., Paliyath G., Ormrod D.P., Douglas P.O., Dennis P.M., Chris B.W. Influence of salicylic acid on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production, oxidative stress, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-metabolizing enzymes (salicylic acid-mediated oxidative damage requires H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) // *Plant Physiol.* – 1997. – V. 115. – P. 137-149.

Поступила в редакцию  
16.01.2013 г.

## WHEAT COLEOPTILES AS MODEL OBJECT FOR STUDIES OF STRESS-PROTECTIVE ACTION OF EXOGENOUS COMPOUNDS

Yu. E. Kolupaev, Yu. V. Karpets, T. O. Yastreb

V.V. Dokuchaev *Kharkiv National Agrarian University*  
(*Kharkiv, Ukraine*)

Possibility of use of coleoptiles detached from four-day wheat plantlets as the model object for studies of physiological (stress-protective) effects of exogenous compounds (signaling molecules, stress phytohormones and their analogues) is proved. The isolated coleoptiles do not show cell death signs during long time at their incubation on the sucrose solution. The intensifying of formation of reactive oxygen species (ROS) occurred through short time after the beginning of treatment of wheat coleoptiles with the donor of nitrogen oxide sodium nitroprusside (SNP), jasmonic, salicylic acids, and also active analogues of salicylic acid. Treatment of coleoptiles with these compounds caused the increase of their resistance to damaging heating. At the same time the carboxylic acids, which are not notable with high physiological activity (benzoic, malic, oxalic), and also inactive analogue of SNP potassium ferrocyanide did not influence on the ROS generation and heat resistance of coleoptiles.

**Key words:** *Triticum aestivum L., coleoptiles, superoxide anion-radical, heat resistance, physiologically active compounds*

## КОЛЕОПТИЛИ ПШЕНИЦІ ЯК МОДЕЛЬНИЙ ОБ'ЄКТ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ СТРЕС-ПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ СПОЛУК

Ю. Є. Колупаєв, Ю. В. Карпець, Т. О. Ястреб

*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва*  
(*Харків, Україна*)

Обґрунтована можливість використання колеоптилів, відокремлюваних від чотиридобових проростків пшениці, як модельного об'єкта для дослідження фізіологічних (стрес-протекторних) ефектів екзогенних сполук (сигнальних молекул, стресових фітогормонів та їх аналогів). Ізольовані колеоптилі при їх інкубації на розчині сахарози протягом тривалого часу не виявляють ознак клітинної загибелі. Через короткий час після початку обробки колеоптилів пшениці донором оксиду азоту ніпропрусидом натрію (НПН), жасмоновою, саліциловою кислотами, а також активними аналогами саліцилової кислоти, відбувалося посилення утворення активних форм кисню (АФК). Обробка колеоптилів цими сполуками спричинювала підвищення їх стійкості до ушкоджуючого прогріву. Водночас карбонові кислоти, що не відрізняються високою фізіологічною активністю (бензойна, яблучна, щавлева), а також неактивний аналог НПН фероціанід калію не впливали на генерацію АФК і теплостійкість колеоптилів.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum L., колеоптилі, супероксидний аніон-радикал, теплостійкість, фізіологічно активні речовини*