

ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ РОСЛИН

УДК 581.1

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В РАЗВИТИИ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ, ИНДУЦИРОВАННОЙ КРАТКОВРЕМЕННЫМ ПРОГРЕВОМ

© 2014 г. Ю. В. Карпец, Ю. Е. Колупаев,
Н. В. Швиденко, А. А. Луговая

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

Исследовали влияние одноминутного закаливающего прогрева при температуре 42°C на динамику генерации оксида азота (NO) в проростках пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Показано, что в течение первых 2 ч после действия гипертермии в корнях и побегах увеличивалось содержание оксида азота, затем (к 24 ч) оно снижалось почти до уровня контроля. Предварительная обработка проростков ингибиторами NO-синтазы (N^G-nitro-L-arginine methyl ester – L-NAME) или нитратредуктазы (вольфрамат натрия) частично нивелировала повышение содержания оксида азота в тканях, вызываемое закаливающим прогревом. Обработка проростков донором оксида азота нитропруссидом натрия увеличивала содержание NO в тканях и повышала их теплоустойчивость. В то же время на фоне теплового закаливания положительное влияние донора оксида азота на теплоустойчивость проростков было незначительным. Ингибиторы NO-синтазы и нитратредуктазы снижали положительное влияние закаливающего прогрева на теплоустойчивость проростков. Сделано заключение о вовлечении оксида азота, образующегося с участием фермента, подобного NO-синтазе животных и, возможно, нитратредуктазы, в развитие теплоустойчивости проростков, индуцированной закаливающим прогревом.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., оксид азота (NO), NO-синтаза, нитратредуктаза, тепловое закаливание, теплоустойчивость

В настоящее время оксид азота (NO) рассматривается как один из важнейших участников сигнальной трансдукции в растительных клетках. Он задействован в процессах индуцирования синтеза ряда фитогормонов (Xing et al., 2004; Tewari et al., 2008; Wilson et al., 2008), в регуляции клеточного цикла растительной клетки, процессов дифференциации и морфогенеза растений (Wilson et al., 2008; Красиленко и др., 2010), формирования симбиоза между бобовыми растениями и ризобияльными бактериями (Глянько, Васильева, 2007).

Молекулы NO принимают участие в развитии адаптивных реакций растений на действие абиотических и биотических стрессоров

(Siddiqui et al., 2011; Hasanuzzaman et al., 2013). В многочисленных работах показаны защитные эффекты доноров оксида азота при действии на растения стрессоров различной природы (Zhang et al., 2006; Wang et al., 2010; Srivastava, Dubey, 2012), в т.ч. высокотемпературного (Uchida et al., 2002; Карпец и др., 2011). Менее исследованными остаются процессы образования эндогенного NO в растениях при действии стресс-факторов.

Усиление синтеза NO в ответ на действие высоких температур зарегистрировано в проростках люцерны (Leshem et al., 1998), культуре клеток табака (Gould et al., 2003), каллусной культуре тростника (Song et al., 2006), растениях арабидопсиса (Бакакина и др., 2009) и риса (Song et al., 2013). При этом отмечаются как быстрые и транзиторные эффекты повышения содержания оксида азота (Бакакина и др., 2009), так и постепенные и относительно продолжи-

Адрес для корреспонденции: Карпец Юрий Викторович, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о «Коммунист-1», Харьков, 62483, Украина;
e-mail: plant_biology@mail.ru

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В РАЗВИТИИ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ

тельные (Gould et al., 2003). С другой стороны, в экспериментах с изолированными корнями пшеницы не выявлено изменений содержания оксида азота при двухчасовом действии температуры 42°C (Бояршинов, Хохлова, 2013). Мало исследованной остается возможная связь между процессами образования оксида азота и формированием устойчивости. В работе Song et al. (2013) показано повышение содержания оксида азота в листьях риса при двухчасовом действии закалывающей температуры 38°C. Обработка растений скавенджером оксида азота препятствовала развитию их теплоустойчивости. При этом, однако, остается неясным, участвует ли оксид азота в индуцировании устойчивости растений при кратковременном действии высоких температур (Карпець, Колупаев, 2008). Также остается открытым вопрос о том, активация каких ферментов обуславливает накопление NO, вызываемое умеренно высокими температурами.

В связи с изложенным, в настоящей работе исследовали влияние кратковременного воздействия закалывающей температуры на образование оксида азота в органах проростков пшеницы и связь этого эффекта с формированием теплоустойчивости. Также в задачу работы входило выяснение возможной роли фермента подобного NO-синтазе животных и нитратредуктазы в индуцированном гипертермией синтезе оксида азота в проростках пшеницы.

МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования использовали этиолированные проростки мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия, выращенные на очищенной водопроводной воде при температуре 22°C. Трехсуточные проростки соответствующих вариантов опыта в течение 24 ч инкубировали на растворах донора оксида азота нитропруссиде натрия (НПН) в концентрациях от 0,5 до 20 мМ, ингибиторов NO-синтазы (N^G -nitro-L-arginine methyl ester – L-NAME, 2 мМ) или нитратредуктазы (вольфрамат натрия, 1 мМ) (Santa-Cruz et al., 2010). Концентрации ингибиторов выбирали на основании предварительных опытов. Контрольные проростки в это время продолжали инкубировать на воде.

После обработки исследуемыми соединениями часть проростков подвергали одному минутному закалывающему прогреву в водяном термостате при температуре 42,0±0,1°C (Карпець, Колупаев, 2008). Затем растительный материал соответствующих вариантов снова пе-

реносили на растворы исследуемых эффекторов и выдерживали на них 24 ч (до момента тестирующего (потенциально летального) прогрева). Образцы, которые не обрабатывались эффекторами, все время инкубировали на воде.

Как было установлено ранее, максимальная теплоустойчивость проростков развивалась через 24 ч после закалывающего прогрева (Карпець, Колупаев, 2008). В этот момент определяли их теплоустойчивость. Для этого проростки подвергали потенциально летальному прогреву в водяном ультратермостате при температуре 46,0±0,1°C в течение 10 мин. Через 4 сут после воздействия повреждающего прогрева оценивали относительное количество выживших проростков.

Содержание NO в корнях и побегах определяли по методу, описанному Zhou et al. (2005) с модификациями. Навеску растительного материала массой 1 г на льду гомогенизировали в 50 мМ ацетатном буфере (pH 3,6) с добавлением 2%-ного ацетата цинка (конечный объем гомогената 15 мл). Гомогенат центрифугировали при температуре не выше 4°C при 8000 g в течение 15 мин, затем к 10 мл супернатанта добавляли 250 мг древесного угля. Смесь фильтровали через бумажный фильтр, после чего смешивали 2 мл фильтрата с 1 мл 1%-ного реактива Грисса в 12%-ной уксусной кислоте. Через 30 мин определяли светопоглощение раствора при длине волны 530 нм. В качестве стандарта использовали растворы нитрита натрия.

Опыты проводили в трехкратной биологической повторности и каждый воспроизводили независимо три раза. На рисунках приведены средние величины и их стандартные отклонения. Кроме специально оговоренных случаев обсуждаются различия, достоверные при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В корнях проростков контрольного варианта содержание оксида азота в течение 24 ч эксперимента практически не изменялось. Закалывающий прогрев проростков вызывал повышение содержания оксида азота уже через 15 мин (рис. 1, А). Количество NO в тканях корней оставалось увеличенным на 25-35% в течение двух часов после закалывания. Затем эффект прогрева уменьшался и через 24 ч содержание оксида азота в корнях закаленных проростков почти не отличалось от величин в соответствующем контроле.

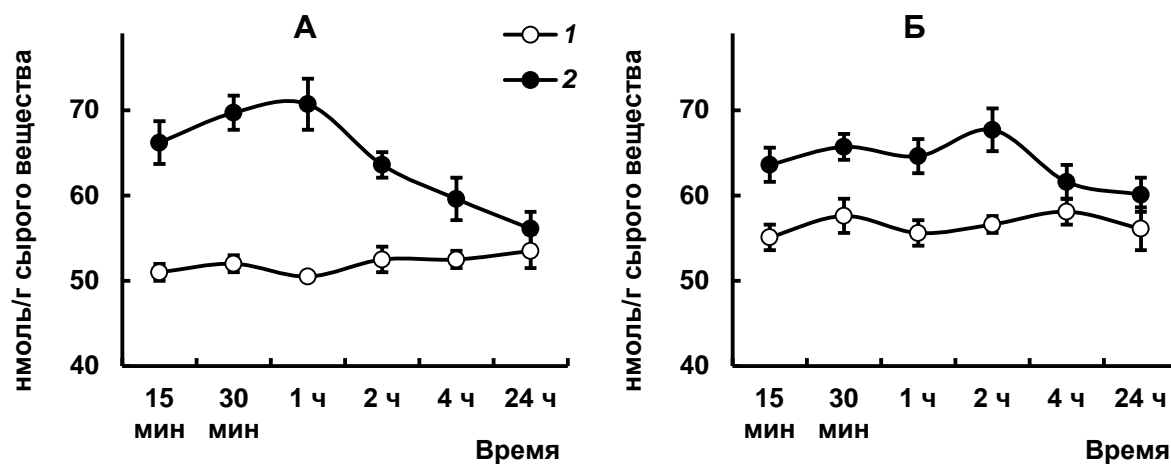


Рис. 1. Динамика содержания оксида азота (нмоль/г сырого вещества) в корнях (А) и побегах (Б) проростков пшеницы после одноминутного закаливающего прогрева при температуре 42°C.

1 – контроль; 2 – закаливание.

В побегах проростков в контроле количество NO существенно не изменялось. После закаливающего прогрева в побегах, как и в корнях, в течение 2 ч отмечалось повышение содержания оксида азота, однако оно было менее существенным и составляло 12-14% (рис. 1, Б). В связи с этим в дальнейших исследованиях регистрировали изменения содержания оксида азота в корнях.

На основании полученных результатов можно предположить, что оксид азота вовлекается в процесс формирования теплоустойчивости после закаливания кратковременным действием высокой температуры. Для проверки этого предположения исследовали влияние донора оксида азота НПН на теплоустойчивость проростков пшеницы и содержание в них эндогенного NO. Обработка проростков НПН в концентрациях от 0,5 до 5 мМ вызывала заметное повышение их теплоустойчивости (рис. 2). В концентрации 20 мМ донор оксида азота немного снижал теплоустойчивость проростков пшеницы, что может быть связано с токсическим эффектом высокой концентрации. В последующих экспериментах использовали НПН в концентрации 2 мМ, вызывающей максимальное повышение теплоустойчивости проростков.

Обработка проростков НПН вызывала стабильное увеличение содержания оксида азота в корнях приблизительно в 1,5 раза по сравнению с контролем (рис. 3). В корнях проростков, обработанных донором оксида азота, закаливание не вызывало дополнительного увели-

чения содержания оксида азота. При совместном действии донора оксида азота и закаливания не наблюдалось суммации их положительного влияния на теплоустойчивость проростков (рис. 4). Наоборот, количество выживших после повреждающего прогрева проростков в варианте с комбинированным действием закаливания и НПН было даже ниже, чем в варианте только с закаливанием (различия достоверны при $p \leq 0,1$). Не исключено, что постоянно повышенное содержание NO в растительных тканях может нарушать сигнальные процессы, необходимые для развития теплоустойчивости.

В последующих экспериментах методом ингибиторного анализа определяли возможный вклад ферментативных систем в вызываемое закаливающим прогревом увеличение содержания оксида азота в тканях проростков. Известно, что основным ферментом, катализирующим синтез оксида азота в клетках животных, является NO-синтаза. Несмотря на то, что наличие гена NO-синтазы у растений до сих пор ставится под сомнение (Neill et al., 2008; Leitner et al., 2009), данные ингибиторного анализа свидетельствуют о наличии у растений ферментного комплекса, по крайней мере, подобного NO-синтазе животных. В частности, известно, что образование оксида азота у растений в значительной степени угнетается таким известным ингибитором NO-синтазы животных, как L-NAME (Santa-Cruz et al., 2010). Другим ферментативным источником оксида азота у растений является нитратредуктаза, которая может преобразовывать нитрит в оксид азота в

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В РАЗВИТИИ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ

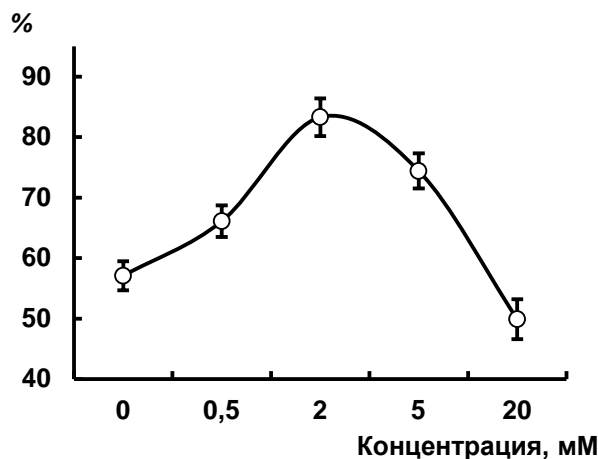


Рис. 2. Концентрационная зависимость влияния донора оксида азота НПН на выживание (%) проростков пшеницы после 10-минутного прогрева при температуре 46°C.

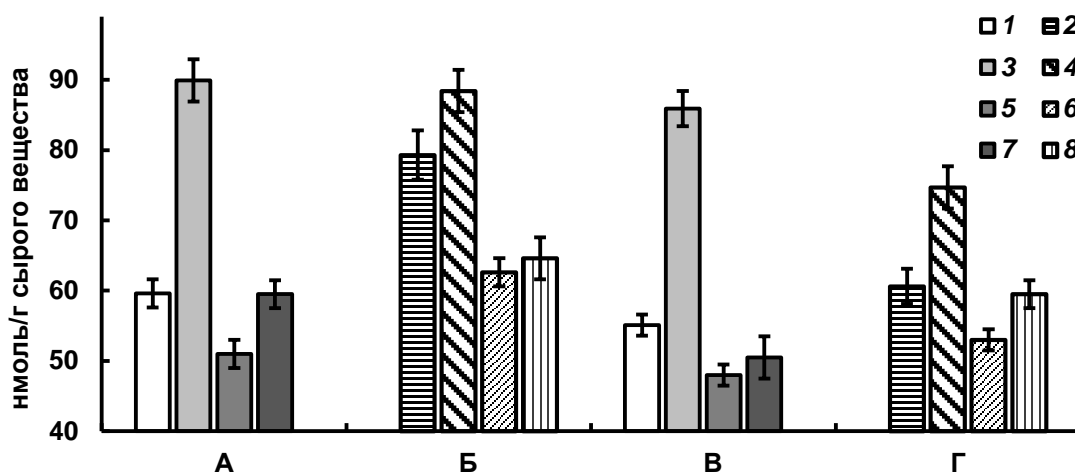


Рис. 3. Содержание оксида азота (нмоль/г сырого вещества) в корнях проростков пшеницы: А – через 24 ч после начала обработки эффекторами; Б – через 1 ч после закаливающего прогрева; В – через 48 ч после начала обработки эффекторами; Г – через 24 ч после закаливающего прогрева.

Здесь и на рис. 4: 1 – контроль; 2 – закаливание; 3 – НПН (2 мМ); 4 – закаливание + НПН (2 мМ); 5 – L-NAME (2 мМ); 6 – закаливание + L-NAME (2 мМ); 7 – вольфрамат натрия (1 мМ); 8 – закаливание + вольфрамат натрия (1 мМ).

НАДФН-зависимой реакции (Neill et al., 2003). Значение нитратредуктазы для образования NO было показано методом ингибиторного анализа (Neill et al., 2008). Наиболее часто в качестве ингибитора этого фермента используют вольфрамат натрия.

В наших экспериментах ингибитор NO-синтазы L-NAME сам по себе снижал содержание эндогенного оксида азота в корнях проростков пшеницы как через 24, так и через 48 ч инкубации (рис. 3). Ингибитор нитратредуктазы вольфрамат такого эффекта не проявлял. В то же время оба ингибитора нивелировали увеличение содержания оксида азота, которое наблюдалось в корнях через 1 ч после закали-

вания. Через 24 ч после закаливающего воздействия при обработке L-NAME содержание NO в корнях оставалось сниженным по сравнению с контролем, а в варианте с обработкой вольфраматом не отличалось от него.

Можно полагать, что в усилении образования оксида азота в тканях проростков пшеницы в течение 1-2 ч после закаливания задействованы два ферментативных источника оксида азота. Эти результаты согласуются с данными, полученными на арабидопсисе. На этом объекте увеличение содержания NO, происходящее под влиянием жесткого теплового стресса, угнеталось ингибиторами как NO-синтазы, так и нитратредуктазы (Бакакина и др., 2009).

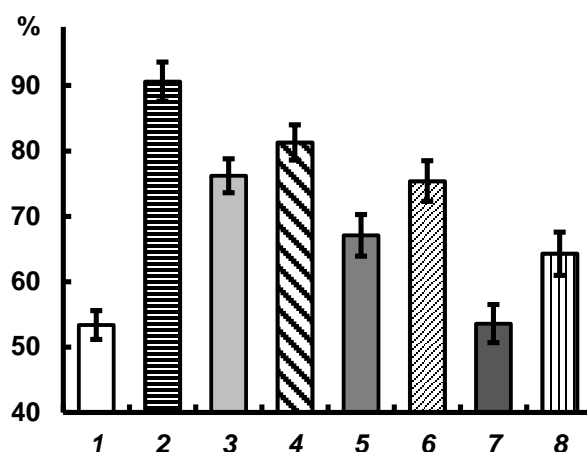


Рис. 4. Выживание (%) проростков пшеницы после 10-минутного прогрева при температуре 46°C.

Обозначения, как на рис. 3.

Однако в наших опытах проростки выращивались в отсутствие специального азотного питания, а нитратредуктаза, как известно, относится к ферментам, синтез которых индуцируется субстратом. В связи с этим ее вклад в образование оксида азота в таких условиях не является очевидным. Тем не менее, в условиях наших экспериментов ингибитор нитратредуктазы вольфрамат натрия частично снимал увеличение содержания NO в корнях, вызываемое закаливающим прогревом (рис. 3). В работе Галеевой и соавт. (2012) показано наличие активности нитратредуктазы в листьях 6-10-суточных проростков пшеницы, выращиваемой на воде. Известно, что синтез нитратредуктазы может индуцироваться не только субстратом, но и некоторыми другими факторами, в частности светом (Rockel et al., 2002; Галеева и др., 2012). В связи этим с определенной осторожностью можно предположить, что в условиях наших экспериментов происходило индуцирование нитратредуктазы как ферментативного источника NO действием гипертермии. Примечательно, что без воздействия гипертермии ингибитор нитратредуктазы вольфрамат натрия не влиял на содержание оксида азота в корнях пшеницы. Заметим, однако, что данные о влиянии этого ингибитора на содержание оксида азота в литературе противоречивые. В работе Глянко и соавт. (2011), выполненной на этиолированных проростках гороха, в корнях под влиянием вольфрамата натрия зарегистрировано не снижение содержания NO, а его повышение. По мнению, авторов, не исключены неспецифические эффекты вольфрамата натрия.

Представляло интерес оценить влияние ингибиторов ферментов, синтезирующих оксид

азота, на базовую и индуцированную закаливанием теплоустойчивость проростков пшеницы. Обработка проростков ингибитором NO-синтазы L-NAME вызывала относительно небольшое, но достоверное при $p \leq 0,05$ повышение их теплоустойчивости (рис. 4). Ингибитор нитратредуктазы вольфрамат натрия сам по себе не влиял на теплоустойчивость проростков. Однако как L-NAME, так и вольфрамат натрия, частично снимали повышение теплоустойчивости проростков, вызываемое закаливающим прогревом. Эти результаты указывают на участие оксида азота, образуемого ферментом, подобным NO-синтазе животных, и, возможно, нитратредуктазой в формировании защитных реакций проростков, обуславливающих повышение их теплоустойчивости. В то же время однозначно трактовать результаты опытов с указанными ингибиторами сложно. Так, в случае с вольфраматом нельзя исключить его общетоксический эффект как тяжелого металла. Непросто объяснить и повышение теплоустойчивости проростков, вызываемое ингибитором NO-синтазы L-NAME. Такой эффект может быть связан с побочным действием этого ингибитора. В то же время нельзя исключить, что угнетение NO-синтазной сигнальной системы само по себе может выступать в качестве стресс-фактора, индуцирующего защитные реакции растения. Так, в работе Vital et al. (2008) показано повышение активности антиоксидантных ферментов в каллусах хлопчатника под влиянием скавенжера оксида азота PTIO (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxide). Однако вопрос о возможности индуцирования протекторных систем в используемой нами модели (проростках пшеницы) ингибито-

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В РАЗВИТИИ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ

ром NO-синтазы L-NAME выходит за рамки обсуждаемого экспериментального материала.

Итак, кратковременное воздействие высокой температуры на проростки пшеницы вызывало повышение в них содержания оксида азота. Результаты ингибиторного анализа позволяют полагать, что этот эффект обусловлен повышением активности фермента, подобного NO-синтазе животных. В то же время, по крайней мере, минорным источником оксида азота может быть и нитратредуктаза.

Оксид азота, как сигнальная молекула, по-видимому, вовлечен в процессы формирования теплоустойчивости. Об этом свидетельствует индуцирование теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенным донором оксида азота НРН и угнетение развития теплоустойчивости при обработке проростков ингибиторами ферментов, синтезирующих NO. Известна способность оксида азота индуцировать экспрессию генов белков теплового шока (Uchida et al., 2002), антиоксидантных ферментов (Sang et al., 2008), ферментов синтеза флавоноидов (Santa-Cruz et al., 2010) и других вторичных метаболитов (Xu et al., 2008), участвующих в защитных реакциях растений. Для выяснения природы протекторных систем, которые индуцируются закаливающим прогревом с участием оксида азота как сигнального посредника, необходимы специальные исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- Бакакина Ю.С., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д. Влияние высокотемпературного стресса на внутриклеточную концентрацию NO и эндогенное содержание ц ГМФ в проростках *Arabidopsis thaliana* // Весці Нац. акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2009. – № 4. – С. 34-39.
- Бояршинов А.В., Хохлова Л.П. Изменение проницаемости клеточных мембран и содержания NO в корнях проростков пшеницы при тепловом воздействии // Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде. Мат-лы Всеросс. научн. конф. (Иркутск 10-13 июня, 2013 г.). – Иркутск, 2013. – С. 42-44.
- Галева Е.И., Трифонова Т.В., Пономарева А.А., Викторова Л.В., Минибаева Ф.В. Нитратредуктаза листьев *Triticum aestivum*: регуляция активности и возможная роль в образовании оксида азота // Биохимия. – 2012. – Т. 77, вып. 4. – С. 512-520.
- Глянько А.К., Васильева Г.Г. Особенности действия активных форм кислорода и азота при бобово-ризобияльном симбиозе // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2007. – Вип. 3 (12). – С. 27-41.
- Глянько А.К., Митанова Н.Б. Синтез оксида азота (NO) в корнях этиолированных проростков гороха // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2011. – Вип. 3 (24). – С. 6-14.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Влияние нитропруссиды натрия на теплоустойчивость коллеоптилей пшеницы: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 6. – С. 883-890.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.С. Динаміка розвитку теплостійкості рослин після короткочасного теплового загартування: зв'язок з флуктуаціями вмісту пероксидів // Укр. ботан. журн. – 2008. – Т. 65, № 5. – С. 733-742.
- Красиленко Ю.А., Емец А.И., Блюм Я.Б. Функциональная роль оксида азота у растений // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, № 4. – С. 483-494.
- Gould K.S., Lamotte O., Klinguer A., Pugin A., Wendehenne D. Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response? // Plant Cell Environ. – 2003. – V. 26. – P. 1851-1862.
- Hasanuzzaman M., Gill S.S., Fujita M. Physiological role of nitric oxide in plants grown under adverse environmental conditions // Plant acclimation to environmental stress / Eds. N. Tuteja, S.S. Gill. – Springer Science+Business Media New York, 2013. – P. 269-322.
- Leitner M., Vandelle E., Gaupels F., Bellin D., Delledonne M. NO signals in the haze nitric oxide signalling in plant defence // Curr. Opin. Plant Biol. – 2009. – V. 12. – P. 451-458.
- Leshem Y.Y., Wills R.B.H., Ku V.V.V. Evidence for the function of the free radical gas – nitric oxide (NO·) – as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants // Plant Physiol. Biochem. – 1998. – V. 36. P. 825-833.
- Neill S.J., Desikan R., Hancock J.T. Nitric oxide signalling in plants // New Phytol. – 2003. – V. 159. – P. 11-35.
- Neill S., Bright J., Desikan R., Hancock J., Harrison J., Wilson I. Nitric oxide evolution and perception // J. Exp. Bot. – 2008. – V. 59. – P. 25-35.
- Rockel P., Strube F., Rockel A., Wildt J., Kaiser W.M. Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate reductase in vivo and in vitro // J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53. – P. 103-110.
- Sang J., Zhang A., Lin F., Tan M., Jiang M. Cross-talk between calcium-calmodulin and nitric oxide in abscisic acid signaling in leaves of maize plants // Cell Res. – 2008. – V. 18. – P. 577-588.

- Santa-Cruz D.M., Pacienza N.A., Polizio A.H., Ba-lestrasse K.B., Tomaro M. L., Yannarelli G.G.* Nitric oxide synthase-like dependent NO production enhances heme oxygenase UP-regulation in ultraviolet-B-irradiated soybean plants // *Phytochemistry*. – 2010. – V.71. – P. 1700-1707.
- Siddiqui M.H., Al-Whaibi M.H., Basalah M.O.* Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress // *Protoplasma*. – 2011. – V. 248. P. 447–455.
- Song L., Ding W., Zhao M., Sun B., Zhang L.* Nitric oxide protects against oxidative stress under heat stress in the calluses from two ecotypes of reed // *Plant Sci*. – 2006. – V. 171. – P. 449-458.
- Song L., Zhao H., Hou M.* Involvement of nitric oxide in acquired thermotolerance of rice seedlings // *Rus. J. Plant Physiol*. – 2013. – V. 60, № 6. P. 785-790.
- Srivastava S., Dubey R.* Nitric oxide alleviates manganese toxicity by preventing oxidative stress in excised rice leaves // *Acta Physiol. Plant*. – 2012. – V. 34. – P. 819-825.
- Tewari R.K., Hahn E.J., Paek K.Y.* Function of nitric oxide and super-oxide anion in the adventitious root development and antioxidant defence in *Panax ginseng* // *Plant Cell Rep*. – 2008. – V. 27. – P. 563-573.
- Uchida A., Jagendorf A.T., Hibino T., Takabe T., Takabe T.* Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice // *Plant Sci*. – 2002. – V. 163. – P. 515-523.
- Vital S.A., Fowler R.W., Virgen A., Gossett D.R., Banks S.W., Rodriguez J.* Opposing roles for superoxide and nitric oxide in the NaCl stress-induced up-regulation of antioxidant enzyme activity in cotton callus tissue // *Environ. Exp. Bot*. – 2008. – V. 62. – P. 60-68.
- Wang H.H., Huang J.J., Bib Y.R.* Nitrate reductase-dependent nitric oxide production is involved in aluminum tolerance in red kidney bean roots // *Plant Sci*. – 2010. – V. 179. – P. 281-288.
- Wilson I.D., Neill S.J., Hancock J.T.* Nitric oxide synthesis and signalling in plants // *Plant Cell Environ*. – 2008. – V. 31. – P. 622-631.
- Xing H., Tan L., An L., Zhao Z., Wang S., Zhang C.* Evidence for the involvement of nitric oxide and reactive oxygen species in osmotic stress tolerance of wheat seedlings: inverse correlation between leaf abscisic acid accumulation and leaf water loss // *Plant Growth Regul*. – 2004. – V. 42. – P. 61-68.
- Xu M.J., Dong J.F., Zhang X.B.* Signal interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide in heat shock-induced hypericin production of *Hypericum perforatum* suspension cells // *Sci. China. Ser. C: Life Sci*. – 2008. – V. 51. – P. 676-686.
- Zhang Y., Wang L., Liu Y., Zhang Q., Wei Q., Zhang W.* Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na⁺/H⁺ antiport in the tonoplast // *Planta*. – 2006. – V. 224. – P. 545-555.
- Zhou B., Guo Z., Xing J., Huang B.* Nitric oxide is involved in abscisic acid-induced antioxidant activities in *Stylosanthes guianensis* // *J. Exp. Bot*. – 2005. – V. 56. – P. 3223-3228.

Поступила в редакцию
10.02.2014 г.

PARTICIPATION OF NITRIC OXIDE IN DEVELOPMENT OF HEAT RESISTANCE OF WHEAT PLANTLETS INDUCED BY SHORT-TERM HEATING

Yu. V. Karpets, Yu. E. Kolupaev, M. V. Shvydenko, G. A. Lugova

*V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)
e-mail: plant_biology@mail.ru*

The influence of one-minute hardening heating at temperature 42°C on dynamics of generation of nitric oxide (NO) in wheat (*Triticum aestivum* L.) plantlets has been investigated. It is shown that the nitric oxide content increased during the first 2 hours after the action of hyperthermia in roots and shoots, then (to 24 hour) it decreased almost to control level. Preliminary treatment of plantlets with inhibitors of NO-synthase (N^G-nitro-L-arginine methyl ester – L-NAME) or nitrate reductase (sodium wolframate) partially levelled the increase of content of nitric oxide in the tissues, caused by hardening heating. Treatment of plantlets with the donor of nitric oxide sodium nitroprusside increased the NO content in tissues and increased their heat resistance. At the same time against the background of heat hardening the positive influence of nitric oxide donor on heat resistance of plantlets was insignificant. The inhibitors of NO-synthase and nitrate reductase lowered the positive ac-

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В РАЗВИТИИ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ

tion of hardening heating on heat resistance of plantlets. The conclusion about the involvement of nitric oxide, which is generated with the participation of the enzyme similar to NO-synthase of animals and, probably, of the nitrate reductase, in the development of heat resistance of plantlets, induced by hardening heating, is made.

Key words: *Triticum aestivum L., nitric oxide (NO), NO-synthase, nitrate reductase, heat hardening, heat resistance*

УЧАСТЬ ОКСИДУ АЗОТУ У РОЗВИТКУ ТЕПЛОСТІЙКОСТІ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ, ІНДУКОВАНОЇ КОРОТКОЧАСНИМ ПРОГРІВОМ

Ю. В. Карпець, Ю. Є. Колупаєв, М. В. Швиденко, Г. А. Лугова

*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)
e-mail: plant_biology@mail.ru*

Досліджували вплив однохвилинного загартовуючого прогріву за температури 42°C на динаміку генерації оксиду азоту (NO) в проростках пшениці (*Triticum aestivum L.*). Показано, що протягом перших 2 год після дії гіпертермії в коренях і пагонах збільшувався вміст оксиду азоту, потім (до 24 год) він знижувався майже до рівня контролю. Попередня обробка проростків інгібіторами NO-синтази (N^G-nitro-l-arginine methyl ester – L-NAME) або нітратредуктази (вольфрамат натрію) частково нівелювала підвищення вмісту оксиду азоту в тканинах, спричинюване загартовуючим прогрівом. Обробка проростків донором оксиду азоту нітропруридом натрію збільшувала вміст NO в тканинах і підвищувала їх теплостійкість. У той же час на тлі теплового загартування позитивний вплив донора оксиду азоту на теплостійкість проростків був незначним. Інгібітори NO-синтази і нітратредуктази знижували позитивний вплив загартовуючого прогріву на теплостійкість проростків. Зроблено висновок про залучення оксиду азоту, утворюваного за участю ферменту, подібного NO-синтазі тварин і, ймовірно, нітратредуктази, у процес розвитку теплостійкості проростків, що індукується загартовуючим прогрівом.

Ключові слова: *Triticum aestivum L., оксид азоту (NO), NO-синтаза, нітратредуктаза, теплове загартування, теплостійкість*