

УДК 581.1

## ВОЗМОЖНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПОСРЕДНИКИ ВЛИЯНИЯ СЕРОВОДОРОДА НА ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК

© 2017 г. Е. Н. Фирсова<sup>1</sup>, Ю. В. Карпец<sup>1</sup>, Ю. Е. Колупаев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева  
(Харьков, Украина)

<sup>2</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина  
(Харьков, Украина)

Изучали возможные причины усиления генерации активных форм кислорода (АФК) при обработке изолированных колеоптилей пшеницы донором сероводорода – 100 мкМ NaHS. Через 2-4 ч после ее начала происходило повышение эндогенного содержания сероводорода в колеоптилях приблизительно в два раза, через 24 ч количество H<sub>2</sub>S в них не отличалось от величин контроля. Вызываемые гидросульфидом натрия эффекты усиления генерации супероксидного анион-радикала и повышения содержания пероксида водорода в колеоптилях нивелировались их предобработкой ингибитором НАДФН-оксидазы дифенилениодоний хлоридом (ДФИ). В то же время бутанол-1, ингибитор зависимого от фосфолипазы D образования фосфатидной кислоты, способной активировать НАДФН-оксидазу, не оказывал влияния на H<sub>2</sub>S-индуцируемую генерацию АФК в колеоптилях. Ингибитор НАДФН-оксидазы ДФИ препятствовал развитию теплоустойчивости клеток колеоптилей, вызываемому действием донора сероводорода. Положительное влияние донора сероводорода на теплоустойчивость колеоптилей пшеницы нивелировалось и обработкой ингибитором образования фосфатидной кислоты бутанолом-1, но не его биологически не активным гомологом бутанолом-2. Предполагается, что фосфатидная кислота как сигнальный посредник может быть задействована в реализации стресс-протекторных эффектов сероводорода, однако она не причастна к активации сероводородом зависимого от НАДФН-оксидазы образования АФК в растительных клетках.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum*, сероводород, активные формы кислорода, НАДФН-оксидаза, фосфатидная кислота, теплоустойчивость

По современным представлениям сероводород (H<sub>2</sub>S) является одним из сигнальных посредников в клетках животных и растений (Gadalla, Snyder, 2010; Hancock, Whiteman, 2014). В растительных клетках его роль в функционировании сигнальной сети исследована пока недостаточно. В то же время в многочисленных работах, выполненных с использованием растений с различной таксономической принадлежностью, показана феноменология индуцирования их устойчивости к стресс-факторам действием доноров сероводорода (Lisjak et al., 2013; Christou et al., 2014; Ziogaz et al., 2015). Также получены сведения об измене-

нии содержания эндогенного сероводорода в клетках растений при действии стрессоров, в частности, засухи (Jin et al., 2011), засоления (Lai et al., 2014), тяжелых металлов (Shi et al., 2014), низких (Fu et al., 2013) и высоких (Li et al., 2015) температур.

Физиологические эффекты сероводорода реализуются в тесном взаимодействии с другими компонентами сигнальной сети (Li, 2014; Guo et al., 2016), в особенности, с активными формами кислорода (АФК). Например, повышение устойчивости растений ячменя к УФ-В обработкой донором сероводорода сопровождалось увеличением содержания пероксида водорода в листьях и этот эффект устранялся скавенджером H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> диметилтиомочевинной (Shi et al., 2013). Этот антиоксидант, а также ингибитор НАДФН-оксидазы дифенилениодоний хлорид (ДФИ) устраняли положительное влия-

---

Адрес для корреспонденции: Колупаев Юрий Евгеньевич, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о Докучаевское-2, Харьков, 62483, Украина;  
e-mail: plant\_biology@ukr.net

ние донора сероводорода на солеустойчивость растений арабидопсиса (Li J. et al., 2014). В наших экспериментах было показано нивелирование антиоксидантами диметилтиомочевой и ионолом (Колупаев и др., 2017а; 2017б) положительного действия донора сероводорода гидросульфида натрия на теплоустойчивость изолированных колеоптилей пшеницы. Также положительное влияние экзогенного  $H_2S$  на резистентность клеток колеоптилей подавлялось имидазолом, ингибирующим НАДФН-оксидазу, что указывает на возможную роль последней в формировании АФК-сигнала, причастного к индуцированию теплоустойчивости (Колупаев и др., 2017б).

В настоящей работе исследована роль зависимой от НАДФН-оксидазы генерации АФК в индуцировании теплоустойчивости колеоптилей пшеницы с использованием более специфичного ингибитора НАДФН-оксидазы – ДФИ (Li J. et al., 2014). Известно, что в активации НАДФН-оксидазы может принимать участие фосфатидная кислота (ФК), образующаяся при гидролизе мембранных фосфолипидов (Marino et al., 2012). В связи с этим в задачи работы входило также исследование ингибиторным методом возможного участия ФК в регуляции  $H_2S$ -индуцируемого образования АФК и формировании теплоустойчивости растительных клеток при действии сероводорода.

### МЕТОДИКА

Обеззараженные 6% пероксидом водорода семена пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Досконала проращивали в темноте в течение 4 сут при температуре 20°C. От проростков отделяли базальные части колеоптилей, в течение 2 ч инкубировали их на дистиллированной воде для снятия эффекта «раневого стресса», после чего переносили в чашки Петри с основной средой инкубации – простерилизованным 2% раствором сахарозы с добавлением пенициллина (Na-соль, 100 тыс. ед./л). Колеоптилю опытных вариантов подвергали обработке донором сероводорода – 100 мкМ гидросульфидом натрия в течение 24 ч (Колупаев и др., 2017а). В отдельных вариантах опытов исследовали эффекты 26-часовой обработки колеоптилей ингибитором НАДФН-оксидазы ДФИ (0,2 мкМ) или ингибитором зависимого от фосфолипазы D образования фосфатидной кислоты 0,1% бутанолом-1 либо его неактивным гомологом бутанолом-2 в такой же концентрации (Lanteri et al., 2008). При изучении комбинированного действия донора сероводорода и указанных ингибиторов последние добавляли в среду инку-

бации колеоптилей за 2 ч до внесения в нее NaHS. Концентрации ингибиторов были выбраны на основании предварительных опытов.

В отрезках колеоптилей и среде их инкубации содержание  $H_2S$  определяли с использованием 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислоты (Li Z. et al., 2014), светопоглощение окрашенного продукта измеряли на спектрофотометре при длине волны 412 нм.

Генерацию супероксидных анионрадикалов ( $O_2^{\cdot-}$ ) отрезками колеоптилей оценивали по восстановлению нитросинего тетразолия (НСТ) (Шорнинг и др., 2000) в нашей модификации (Колупаев и др., 2017а). Оптическую плотность определяли при 530 нм.

Содержание пероксида водорода в колеоптилях определяли ферроцианидным методом (Sagisaka, 1976).

После окончания времени инкубации колеоптилей в растворах исследуемых соединений их подвергали потенциально летальному прогреву в водяном ультратермостате в простерилизованной дистиллированной воде в течение 10 мин при  $43,0 \pm 0,1^\circ C$  (Колупаев и др., 2012). Затем отрезки помещали в чашки Петри с 2% раствором сахарозы и пенициллина. Через 2 сут оценивали их повреждение по потере тургора и появлению специфического оттенка, обусловленного инфильтрацией тканей.

Повторность опытов 3-4-кратная. На рисунках приведены средние величины и их стандартные ошибки. Обсуждаются различия, достоверные при  $P \leq 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Через 2-4 ч после начала инкубации колеоптилей в среде, содержащей 100 мкМ NaHS, наблюдалось приблизительно двукратное повышение эндогенного содержания сероводорода (рис. 1). Однако через 24 ч его количество в опытных образцах не отличалось от контроля. Следует отметить, что через сутки после инкубации колеоптилей в среде, в которую вносили 100 мкМ NaHS, содержание сероводорода составляло не более 10% от исходной величины. При этом после 24 ч инкубации такого же раствора гидросульфида натрия в отсутствие колеоптилей остаточное количество сероводорода составляло приблизительно 50%. Уменьшение содержания сероводорода в среде инкубации колеоптилей может быть связано с его поглощением из раствора и, вероятно, усиленной метаболизацией в клетках. О последнем свидетельствует снижение содержания сероводорода

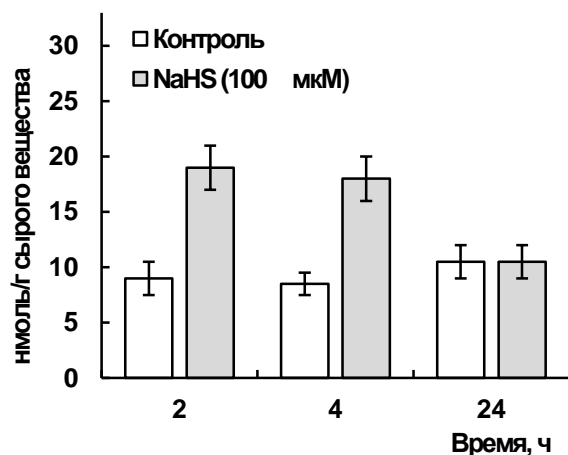


Рис. 1. Содержание H<sub>2</sub>S в coleoptилях пшеницы при их обработке гидросульфидом натрия.

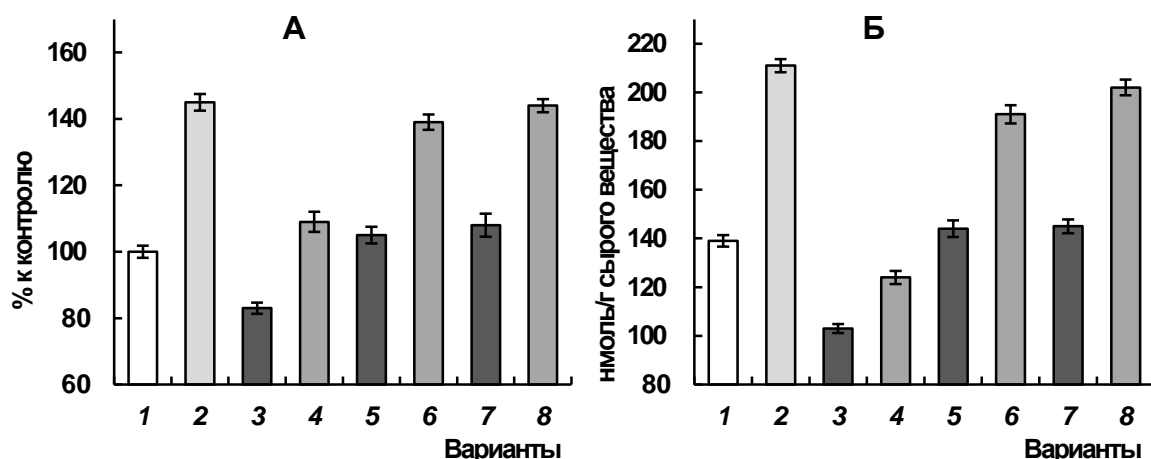


Рис. 2. Генерация супероксидного анион-радикала (А) и содержание H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Б) в coleoptилях пшеницы после 3 ч обработки NaHS и/или 5 ч обработки другими соединениями.

Здесь и на рис. 3: 1 – контроль; 2 – NaHS (100 мкМ); 3 – ДФИ (0,2 мкМ); 4 – NaHS (100 мкМ) + ДФИ (0,2 мкМ); 5 – бутанол-1 (0,1%); 6 – NaHS (100 мкМ) + бутанол-1 (0,1%); 7 – бутанол-2 (0,1%); 8 – NaHS (100 мкМ) + бутанол-2 (0,1%).

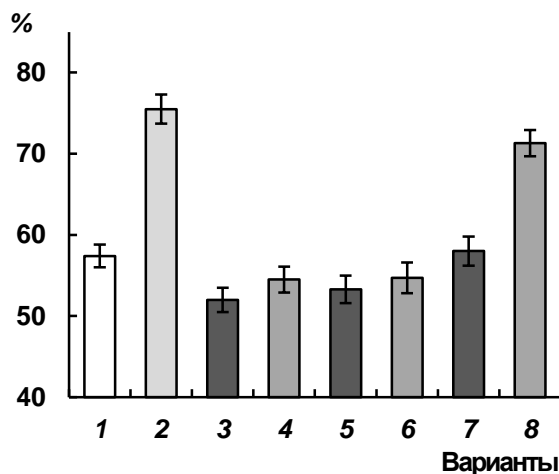
в coleoptилях опытного варианта до величин контроля через 24 ч инкубации (рис. 1).

Заметим, что исследований, в которых бы контролировалось эндогенное содержание сероводорода в растительных образцах при их обработке донорами H<sub>2</sub>S пока недостаточно. В работе Z.G. Li et al. (2014) показано, что 6 ч обработка проростков кукурузы NaHS в концентрациях 0,3-0,9 мМ, индуцирующая повышение их теплоустойчивости, вызывала повышение эндогенного содержания сероводорода приблизительно в 1,3-1,7 раза, что в целом согласуется с нашими результатами. Более существенное (в 2,2 раза) и продолжительное (в течение 48 ч) повышение содержания эндогенного сероводорода показано при инкубации кор-

ней арабидопсиса в среде с добавлением 200 мкМ NaHS (Li J. et al., 2014). Известно, что уровень эндогенного сероводорода контролируется как за счет изменения интенсивности его синтеза с участием L/D-цистеиндесульфгидраз (Guo et al., 2016) и сульфитредуктазы (Li, 2013), так и путем деградации с помощью O-ацетилсеринлиазы (Lisjak et al., 2013). Не исключено, что последняя активируется при поступлении сероводорода в клетки из внешней среды.

Как было показано нами ранее, обработка coleoptилей донором сероводорода вызывала транзиторное усиление генерации АФК – супероксидного анион-радикала и пероксида водорода с максимумом через 3 ч после начала ин-

## ВОЗМОЖНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПОСРЕДНИКИ



**Рис. 3. Выживание coleoptилей пшеницы (%) после повреждающего прогрева (43°C, 10 мин).**

Обозначения, как на рис. 2.

кубации (Колупаев и др., 2017а). Эффект увеличения содержания обеих АФК полностью устранялся предобработкой coleoptилей специфическим ингибитором НАДФН-оксидазы ДФИ (рис. 2). При этом сам по себе ДФИ также вызывал некоторое уменьшение генерации супероксидного анион-радикала coleoptилями пшеницы и снижение в них содержания пероксида водорода. Как уже отмечалось, ранее нами было показано нивелирование вызываемого донором сероводорода усиления генерации АФК в coleoptилях пшеницы их обработкой другим ингибитором НАДФН-оксидазы – имидазолом (Колупаев и др., 2017б). Сходство эффектов двух ингибиторов НАДФН-оксидазы, а также показанное отсутствие вклада внеклеточной пероксидазы в стимулированное экзогенным сероводородом образование АФК (Колупаев et al., 2017) позволяют полагать, что главной причиной усиления генерации АФК растительными клетками при обработке донором сероводорода является повышение активности НАДФН-оксидазы.

Как отмечалось выше, активность НАДФН-оксидазы в растительных клетках может регулироваться с помощью фосфатидной кислоты, которая связывается со специфическим доменом фермента (Marino et al., 2012). Зависимое от фосфолипазы D образование фосфатидной кислоты из мембранных фосфолипидов блокируется действием бутанола-1, но не бутанола-2 (Lanteri et al., 2008; Колупаев и др., 2013). Однако в наших экспериментах обработка coleoptилей бутанолом-1, как и бутанолом-2, не оказывала достоверного влияния на стимулированное донором сероводорода усиление образования супероксидного анион-

радикала и повышение содержания пероксида водорода (рис. 2).

Известно, что активность НАДФН-оксидазы регулируется не только фосфатидной кислотой, но и ионами кальция (Ogasawara et al., 2008; Глянько, Ищенко, 2010). Причем последние могут как прямо связываться с каталитической субъединицей НАДФН-оксидазы, так и активировать протеинкиназу, фосфорилирующую каталитическую субъединицу НАДФН-оксидазы. Ранее нами было показано нивелирование вызываемого экзогенным сероводородом усиления генерации АФК в coleoptилях пшеницы при их обработке ЭГТА (хелатором внеклеточного кальция) и неомицином, ингибитором фосфатидилинозитол-специфичной фосфолипазы C, которая также влияет на кальциевый гомеостаз (Колупаев и др., 2017б). Таким образом, вызываемая сероводородом активация НАДФН-оксидазы coleoptилей пшеницы, по-видимому, опосредована ионами кальция, но не фосфатидной кислотой.

Усиление генерации АФК, вызываемое обработкой coleoptилей донором сероводорода, по-видимому, является элементом сигналинга, необходимого для развития физиологических реакций, обуславливающих повышение теплоустойчивости. Так, обработка coleoptилей ингибитором НАДФН-оксидазы ДФИ полностью нивелировала эффект повышения их теплоустойчивости, вызываемый действием донора сероводорода  $\text{NaHS}$  (рис. 3). При этом сам по себе ДФИ в используемой концентрации не оказывал существенного влияния на теплоустойчивость coleoptилей.

Индуктируемое донором  $\text{H}_2\text{S}$  развитие теплоустойчивости coleoptилей пшеницы ни-

велировалось их обработкой ингибитором зависимого от фосфолипазы D образования фосфатидной кислоты бутанолом-1, но не его неактивным гомологом бутанолом-2 (рис. 3). Сами по себе указанные спирты в используемой концентрации существенно не влияли на теплоустойчивость колеоптилей пшеницы. Полученные результаты указывают на возможное участие фосфатидной кислоты в реализации физиологических эффектов сероводорода, вызывающих повышение теплоустойчивости растительных клеток. При этом, однако, фосфатидная кислота, по-видимому, не участвует в активации НАДФН-оксидазы, вызываемой действием  $H_2S$ . Об этом свидетельствует отсутствие влияния ингибитора образования фосфатидной кислоты бутанола-1 на усиление генерации АФК колеоптилями пшеницы, вызываемое действием донора сероводорода (рис. 2).

Вполне естественно, что результаты ингибиторного анализа не могут быть однозначным доказательством участия фосфатидной кислоты в реализации эффектов сероводорода либо его отсутствия. Для определенного заключения необходимо прямое исследование динамики активности фосфолипазы D и содержания фосфатидной кислоты в растительных клетках при действии на них экзогенного сероводорода.

В целом, полученные в настоящей и предыдущих наших работах (Колупаев и др., 2017а; 2017б; Kolupaev et al., 2017) результаты указывают на роль зависимого от НАДФН-оксидазы образования АФК в реализации стресс-протекторного действия сероводорода на растительные клетки. При этом активация НАДФН-оксидазы, по-видимому, является кальций-зависимой, поскольку нивелируется действием различных антагонистов кальция. Предположение об участии кальция в реализации физиологических эффектов сероводорода согласуется с данными о его влиянии на состояние кальциевых каналов (Jin et al., 2013).

## ЛИТЕРАТУРА

- Глянько А.К., Ищенко А.А. Структурные и функциональные особенности НАДФН-оксидазы растений // Прикл. биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46, № 5. – С. 509-518.
- Колупаев Ю.Е., Луговая А.А., Обозный А.И., Ястреб Т.О., Карпец Ю.В., Мусатенко Л.И. Сигнальные посредники при индуцировании антиоксидантных ферментов растительных клеток жасмоновой кислотой // Доповіді НАН України. – 2013. – № 10. – С. 159-164.
- Колупаев Ю.Е., Фирсова Е.Н., Ястреб Т.О., Швиденко Н.В. Индуцирование антиоксидантной системы и теплоустойчивости колеоптилей пшеницы донором сероводорода: связь эффектов с образованием активных форм кислорода // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2017а. – Вип. 1 (40). – С. 61-68.
- Колупаев Ю.Е., Фирсова Е.Н., Ястреб Т.О., Луговая А.А. Участие ионов кальция и активных форм кислорода в индуцировании антиоксидантных ферментов и теплоустойчивости растительных клеток донором сероводорода // Прикл. биохимия и микробиология. – 2017б. – Т. 53 (в печати).
- Шорнинг Б.Ю., Смирнова Е.Г., Ягужинский Л.С., Ванюшин Б.Ф. Необходимость образования супероксида для развития этиолированных проростков пшеницы // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 12. – С. 1612-1618.
- Christou A., Filippou P., Manganaris G., Fotopoulos V. Sodium hydrosulfide induces systemic thermotolerance to strawberry plants through transcriptional regulation of heat shock proteins and aquaporin // BMC Plant Biol. – 2014. – V. 14:42. doi:10.1186/1471-2229-14-42
- Fu P.N., Wang W.J., Hou L.X., Liu X. Hydrogen sulfide is involved in the chilling stress response in *Vitis vinifera* L. // Acta Soc. Bot. Pol. – 2013. – V. 82, № 4. – P. 295-302.
- Gadalla M.M., Snyder S.H. Hydrogen sulfide as a neurotransmitter // J. Neurochem. – 2010. – V. 113. – P. 14-26.
- Guo H., Xiao T., Zhou H., Xie Y., Shen W. Hydrogen sulfide: a versatile regulator of environmental stress in plants // Acta Physiol. Plant. – 2016. – V. 38:16. – doi 10.1007/s11738-015-2038-x
- Hancock J.T., Whiteman M. Hydrogen sulfide and cell signaling: Team player or referee? // Plant Physiol. Biochem. – 2014. – V. 78. – P. 37-42.
- Jin Z.P., Shen J.J., Qiao Z.J., Yang G.D., Wang R, Pei Y.X. Hydrogen sulfide improves drought resistance in *Arabidopsis thaliana* // Biochem Biophys Res Commun. – 2011. – V. 414. – P. 481-486.
- Jin Z., Xue S., Luo Y., Tian B., Fang H., Li H., Pei Y. Hydrogen sulfide interacting with abscisic acid in stomatal regulation responses to drought stress in *Arabidopsis* // Plant Physiol Biochem. – 2013. – V. 62. – P. 41-46.
- Kolupaev Yu.E., Firsova E.N., Yastreb T.O. Induction of plant cells heat resistance by hydrogen sulfide donor is mediated by  $H_2O_2$  generation with participation of nadph oxidase and superoxide dismutase // Ukr. Bicem. J. – 2017. – V. 89 (in press).
- Lai D.W., Mao Y., Zhou H., Li F., Wu M., Zhang J., He Z., Cui W., Xie Y. Endogenous hydrogen sulfide enhances salt tolerance by coupling the reestablishment of redox homeostasis and preventing salt-induced  $K^+$  loss in seedlings of *Medicago sativa* // Plant Sci. – 2014. – V. 225. – P. 117-129.

## ВОЗМОЖНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПОСРЕДНИКИ

- Lanteri M.L., Laxalt A.M., Lamattina L. Nitric oxide triggers phosphatidic acid accumulation via phospholipase D during auxin-induced adventitious root formation in Cucumber // *Plant Physiol.* – 2008. – V. 147. – P. 188-198.
- Li J., Jia H., Wang J., Cao Q., Wen Z. Hydrogen sulfide is involved in maintaining ion homeostasis via regulating plasma membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter system in the hydrogen peroxide-dependent manner in salt-stress *Arabidopsis thaliana* root // *Protoplasma.* – 2014. – V. 251. – P. 899-912.
- Li Z.G. Hydrogen sulfide: a multifunctional gaseous molecule in plants // *Russ. J. Plant Physiol.* – 2013. – V. 60. – P. 733-740.
- Li Z.G., Luo L.J., Sun Y.F. Signal crosstalk between nitric oxide and hydrogen sulfide may be involved in hydrogen peroxide induced thermotolerance in maize seedlings // *Russ. J. Plant Physiol.* – 2015. – V. 62. – P. 507-514.
- Li Z.G., Luo L.J., Zhu L.P. Involvement of trehalose in hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-induced the acquisition of heat tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings // *Bot. Stud.* – 2014. – V. 55:20.
- Li Z.G., Zhu L.P. Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-induced accumulation of betaine is involved in the acquisition of heat tolerance in maize seedlings // *Braz. J. Bot.* 2015. – V. 38. – P. 31-38.
- Lisjak M., Teklic T., Wilson I.D., Whiteman M., Hancock J.T. Hydrogen sulfide: environmental factor or signalling molecule? // *Plant Cell Environ.* – 2013. – V. 36. – P. 1607-1616.
- Marino D., Dunand C., Puppo A., Pauly N. Aburst of plant NADPH oxidases // *Trends Plant Sci.* – 2012. – V. 17. – P. 9-15.
- Ogasawara Y., Kaya H., Hiraoka G., Yumoto F., Kimura S., Kadota Y., Hishinuma H., Senzaki E., Yamagoe S., Nagata K., Nara M., Suzuki K., Tanokura M., Kuchitsu K. Synergistic activation of the *Arabidopsis* NADPH oxidase AtrbohD by Ca<sup>2+</sup> and phosphorylation // *J. Biol. Chem.* – 2008. – V. 283. – P. 8885-8892.
- Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica* // *Plant Physiol.* – 1976. – V. 57. – P. 308-309.
- Shi H., Ye T., Chan Z. Exogenous application of hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide enhanced multiple abiotic stress tolerance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) // *Plant Physiol Biochem.* – 2013. – V. 71. – P. 226-234.
- Shi H., Ye T., Chan Z. Nitric oxide-activated hydrogen sulfide is essential for cadmium stress response in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) // *Plant Physiol Biochem.* – 2014. – V. 74. – P. 99-107.
- Ziogas V., Tanou G., Filippou P., Diamantidis G., Vasilakakis M., Fotopoulos V., Molassiotis A. Nitrosative responses in citrus plants exposed to six abiotic stress conditions // *Plant Physiol. Biochem.* – 2013. – V. 68. – P. 118-126.

Поступила в редакцию  
05.05.2017 г.

## POSSIBLE SIGNALING MEDIATORS OF INFLUENCE OF HYDROGEN SULPHIDE ON HEAT RESISTANCE OF PLANT CELLS

K. M. Firsova<sup>1</sup>, Yu. V. Karpets<sup>1</sup>, Yu. E. Kolupaev<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>V. V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University  
(Kharkiv, Ukraine)

E-mail: plant\_biology@ukr.net

<sup>2</sup>V. V. Karazin Kharkiv National University  
(Kharkiv, Ukraine)

The possible reasons of intensifying of generation of reactive oxygen species (ROS) under the treatment of isolated wheat coleoptiles with the donor of hydrogen sulfide – 100 μM of NaHS – have been studied. In 2-4 h after treatment beginning there was approximately two times increase of endogenous content of hydrogen sulfide in coleoptiles, in 24 h the amount of H<sub>2</sub>S in them did not differ from control values. The effects of intensifying of generation of superoxide anion-radical and the increase of hydrogen peroxide content caused by sodium hydrosulfide in coleoptiles were leveled by pretreatment with NADPH-oxidase inhibitor diphenyleneiodonium chloride (DPI). At the same time butanol-1 (inhibitor of dependent on phospholipase D formation of phosphatidic acid, capable to activate NADPH-oxidase) did not exert the impact on H<sub>2</sub>S-induced generation of ROS in coleoptiles. The inhibitor of NADPH-oxidase DPI prevented with the development of heat resistance of coleoptile cells caused by the influence of hydrogen sulfide donor. Positive influence of

hydrogen sulfide donor on heat resistance of wheat coleoptiles was leveled also by the treatment with inhibitor of phosphatidic acid formation butanol-1, but not with its biologically not active homologue butanol-2. It is supposed that phosphatidic acid as the signaling mediator can be involved in the realization of stress-protective effects of hydrogen sulfide; however it is not involved in the activation of ROS formation, dependent on NADPH-oxidase, by hydrogen sulfide in plant cells.

**Key words:** *Triticum aestivum, hydrogen sulfide, reactive oxygen species, NADPH-oxidase, phosphatidic acid, heat resistance*

## **МОЖЛИВІ СИГНАЛЬНІ ПОСЕРЕДНИКИ ВПЛИВУ СІРКОВОДНЮ НА ТЕПЛОСТІЙКІСТЬ РОСЛИННИХ КЛІТИН**

К. М. Фірсова<sup>1</sup>, Ю. В. Карпець<sup>1</sup>, Ю. Є. Колупаєв<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва  
(Харків, Україна)*

*E-mail: plant\_biology@ukr.net*

<sup>2</sup>*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна  
(Харків, Україна)*

Вивчали можливі причини посилення генерації активних форм кисню (АФК) за обробки колеоптилів пшениці донором сірководню – 100 мкМ NaHS. Через 2-4 год після її початку відбувалося підвищення ендogenous вмісту сірководню в колеоптилях приблизно в два рази, через 24 год інкубації кількість H<sub>2</sub>S в них не відрізнялася від контролю. Спричинювані дією гідросульфиду натрію ефекти посилення генерації супероксидного аніон-радикала і підвищення вмісту пероксиду водню в колеоптилях нівелювалися їх попередньою обробкою інгібітором НАДФН-оксидази дифеніленіондоніум хлоридом (ДФІ). У той же час бутанол-1, інгібітор залежного від фосфоліпази D утворення фосфатидної кислоти, здатної активувати НАДФН-оксидазу, не впливав на H<sub>2</sub>S-індуковану генерацію АФК в колеоптилях. Інгібітор НАДФН-оксидази ДФІ перешкоджав розвитку теплостійкості клітин колеоптилів, спричинюваному дією донора сірководню. Позитивний вплив донора сірководню на теплостійкість колеоптилів пшениці нівелювався і обробкою інгібітором утворення фосфатидної кислоти бутанолом-1, але не його біологічно неактивними гомологом бутанолом-2. Висловлено припущення, що фосфатидна кислота як сигнальний посередник може бути задіяна в реалізації стрес-протекторних ефектів сірководню, однак вона не причетна до активації сірководнем залежної від НАДФН-оксидази генерації АФК в рослинних клітинах.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum, сірководень, активні форми кисню, НАДФН-оксидаза, фосфатидна кислота, теплостійкість*