

УДК 581.1.036.2:577.15

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО НАГРЕВА НА АКТИВНОСТЬ И ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ РАСТВОРИМОЙ ПЕРОКСИДАЗЫ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ РАЗНЫХ ЭКОТИПОВ

© 2010 г. А. И. Обозный, Т. О. Ястреб, Ю. Е. Колупаев,
В. Н. Попов, Р. В. Криворученко

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

Изучали влияние кратковременного закаливающего нагрева на теплоустойчивость проростков пшеницы мягкой озимой (*Triticum aestivum* L.) разных экотипов, активность, термостабильность и электрофоретический спектр растворимой пероксидазы корней. Проростки сортов пшеницы степного экотипа (Одесская 267 и Херсонская 99) отличались значительно более высокой конститутивной теплоустойчивостью по сравнению с проростками сортов лесостепного (Национальная) и лесного (Воынская 2, Саскиа) экотипов. Через 1 сут после одноминутного прогрева в водном термостате при температуре 42°C теплоустойчивость проростков всех сортов увеличивалась. В корнях незакаленных проростков более высокая активность пероксидазы отмечалась у сортов степного экотипа, при этом существенных отличий в термостабильности фермента у разных сортов не наблюдалось. Кратковременный закаливающий нагрев вызывал небольшое повышение активности пероксидазы у сортов лесостепного и лесного экотипов и существенное у сортообразцов степного экотипа. Повышение термостабильности растворимой пероксидазы корней в ответ на закаливающий нагрев было характерно только для сортов степного экотипа. После закаливающего нагрева в электрофоретическом спектре пероксидазы данных сортов отмечалось появление новой молекулярной формы фермента. Обсуждаются механизмы и значение изменений активности и термостабильности пероксидазы при адаптации растений пшеницы к гипертермии.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., экологические типы, теплоустойчивость, закаливание, пероксидаза, изоферментный спектр, термостабильность

Пероксидазы класса III, или так называемые «классические» пероксидазы, относятся к мультифункциональным ферментам (Gaspar et al., 1991; Tognolli et al., 2003; Пиріжок та ін., 2009). В зависимости от характера локализации в растительных клетках различают растворимые (содержащиеся в вакуолях и цитоплазме), ионносвязанные (локализованные в мембранах и клеточной стенке) и ковалентно связанные (находящиеся в основном в клеточной стенке) формы пероксидазы, каждая из которых представлена многочисленными изоферментами (Asada, 1992). Пероксидазы класса III кодируются большим количеством генов, которое составляет как минимум 73 у *Arabidopsis thaliana*

L. и 138 генов у *Oriza sativa* L. (Tognolli et al., 2003).

Наряду с антиоксидантной функцией, пероксидазная система участвует в обеспечении протекания многих других реакций, в которых пероксид водорода используется как окислитель (Савич, 1989; Gaspar et al., 1991). Пероксидазы также могут проявлять оксидазную активность с передачей электронов от восстановителей (например, НАДН) на молекулярный кислород (Chen, Schopfer, 1999; Минибаева, Гордон, 2003). При таком действии пероксидазы образуются супероксид и пероксид водорода. Считается, что большее количество супероксида и, как следствие, H₂O₂, может генерировать пероксидаза клеточных стенок (Bestwick et al., 1997). Функционирование этой пероксидазы также связано с укреплением клеточных стенок, что может быть существенным в осморе-

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

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО НАГРЕВА

гуляции при действии на растения абиотических стрессоров (Савич, 1989; Gaspar et al., 1991). В то же время для растворимых пероксидаз более характерны антиоксидантные функции (Ivanov et al., 2001).

Пероксидазы рассматриваются как типичные «стрессовые» ферменты (Савич, 1989). Показано изменение активности и изоферментного спектра пероксидаз при действии на растения низких (Файзуллин, Лукманова, 1987; Капустян та ін., 2004) и высоких (Олейникова и др., 1979; Berberich et al., 1998) температур, водного стресса (Bakalova et al., 2004), засоления среды (Sreenivasulu et al., 1999), тяжелых металлов (Radotic et al., 2000), различных биотических стрессоров (Bindschedler et al., 2006).

Известно, что при повышении устойчивости растений к гипертермии предварительным воздействием закаливающих температур происходит изменение не только активности, но и кинетических характеристик многих ферментов (Александров, 1985; Лютова, Каменцева, 2001). Выявлено повышение термостабильности пероксидазы пшеницы при относительно продолжительном (несколько часов) воздействии умеренно высоких температур (Фельдман, Каменцева, 1984). Показано изменение электрофоретического спектра пероксидаз проростков кукурузы после 2-4-часового влияния повышенных температур (Пиріжок та ін., 2009).

Значительно меньше исследованы изменения термостабильности и электрофоретического спектра ферментов после кратковременного действия высоких температур. Нами показано повышение активности и термостабильности пероксидазы корней проростков пшеницы сорта Донецкая 48 через 1-24 ч после воздействия закаливающей температуры 42°C. Данный эффект сопровождался изменением электрофоретического спектра фермента (Карпець та ін., 2009).

Установлено, что реакция ферментных систем сортов пшеницы разных экологических типов на гипертермию может отличаться (Жук, Мусієнко, 2008). В то же время, насколько нам известно, изменения термостабильности и изоферментного состава пероксидазы пшеницы в ответ на кратковременное действие гипертермии у сортов, относящихся к разным экотипам, до сих пор не исследовались. В связи с этим в настоящей работе было изучено влияние кратковременного закаливающего нагрева на активность, термостабильность и электрофоретический спектр растворимой пероксидазы у сор-

тов пшеницы степного, лесостепного и лесного экотипов. Учитывая то, что изменения активности пероксидазы под действием закаливающих температур в корнях более существенны, чем в побегах (Карпець та ін., 2009), в настоящей работе для анализа использовали корни проростков.

МЕТОДИКА

Объектом исследования были этиолированные проростки пшеницы мягкой озимой (*Triticum aestivum* L.) отечественных сортов степного (Одесская 267 и Херсонская 99), лесостепного (Национальная) и лесного (Волинская 2) экотипов. Также в работе использовали сорт Saskia (Саскиа) лесного экотипа, созданный в Чехии. Коллекционные образцы были получены из Национального центра генетических ресурсов растений Украины (Харьков).

После внешнего обеззараживания путем замачивания в 6% H_2O_2 в течение 30 мин и тщательного промывания дистиллированной водой семена проращивали в течение 4 сут при температуре $20 \pm 1^\circ C$. Часть проростков подвергали одному минутному закаливающему нагреву при температуре $42,0 \pm 0,1^\circ C$ в водном термостате (Карпець та ін., 2009). Ранее было установлено, что максимальная теплоустойчивость проростков пшеницы развивалась через 24 ч после кратковременного действия гипертермии (Карпець, Колупаев, 2008). В связи с этим именно через такой временной интервал после закаливающего нагрева исследовали активность, термостабильность и электрофоретический спектр растворимой пероксидазы корней. Контролем служили незакаленные проростки того же возраста. Также определяли теплоустойчивость проростков путем тестирующего нагрева в водном термостате при температуре $46,0 \pm 0,1^\circ C$ в течение 10 мин. Через 4 сут оценивали относительное количество выживших проростков.

Активность растворимой формы пероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли, используя метод Риджа и Осборна (Ridge, Osborne, 1970) с некоторыми модификациями. Навеску растительного материала гомогенизировали в 0,06 М K_2Na -фосфатном буфере Серенсена (рН 6,2). Гомогенат центрифугировали при 7000 g в течение 15 мин. Супернатант использовали для анализа активности фермента, субстратами в реакционной смеси были гваякол и пероксид водорода.

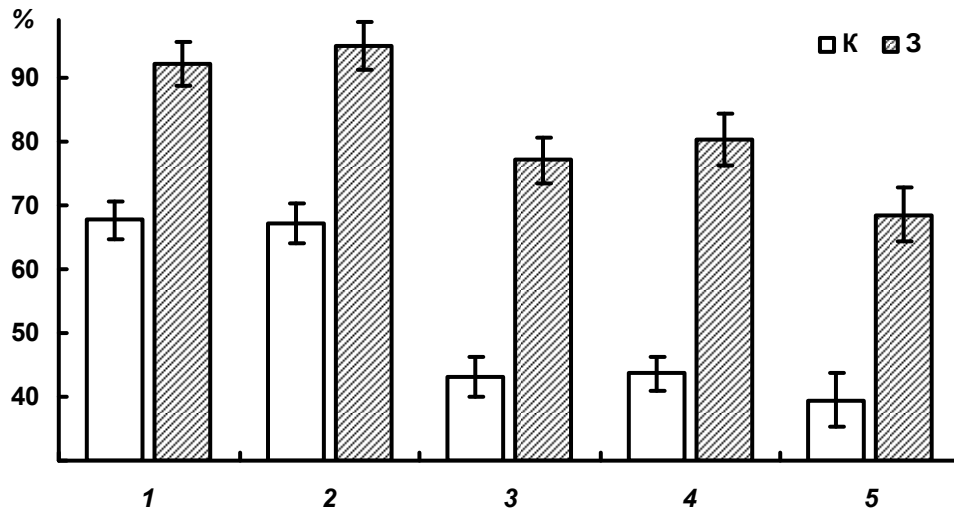


Рис. 1. Выживание (%) проростков пшеницы после повреждающего нагрева (46°C, 10 мин).

Здесь и на рис. 2: К – контроль (незакаленные), 3 – закаленные; 1 – Одесская 267, 2 – Херсонская 99, 3 – Национальная, 4 – Волынская 2, 5 – Саския.

Для определения термостабильности фермента супернатант прогревали в водном термостате при 66°C и после охлаждения до комнатной температуры определяли остаточную активность. Температура прогрева была выбрана на основании экспериментов, проведенных ранее (Карпец *та ин.*, 2009).

Изоферментный спектр растворимой анодной пероксидазы определяли с использованием метода вертикального электрофореза (Остерман, 1981) с некоторыми модификациями (Шарыпина и др., 2006). Окрашивание гелей осуществляли по методике Шоу и Прасада (Shaw, Prasad, 1970).

Повторность независимых опытов четырехкратная. На рис. 1, 2 приведены средние значения и их среднеквадратические отклонения, на рис. 3 – электрофореграммы типичного опыта.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии опытов оценивали конститутивную и индуцированную кратковременным закаливающим нагревом теплоустойчивость проростков пшеницы различных экологических типов. Сорты степного экотипа Одесская 267 и Херсонская 99 отличались значительно более высокой конститутивной теплоустойчивостью по сравнению с сортами лесостепного (Национальная) и лесного (Волынская 2 и Саския) экотипов (рис. 1).

Через 1 сут после закаливающего нагрева теплоустойчивость всех сортов значительно

повышалась. Однако и в этом случае выживание проростков сортов степного экотипа после тестирующего нагрева достоверно превосходило соответствующий показатель сортов лесостепного и лесного экотипов (рис. 1). Процент выживания закаленных проростков сорта лесного экотипа Саския был достоверно ниже по сравнению с относительным количеством выживших проростков всех остальных сортов, в т.ч. и сорта этого же экотипа Волынская 2 (рис. 1).

Активность растворимой пероксидазы была более высокой в корнях проростков сортов степного экотипа. Наиболее низкая активность фермента наблюдалась у сорта лесного экотипа Саския (рис. 2, А).

Через 1 ч после закаливающего нагрева наблюдалась тенденция к увеличению активности растворимой пероксидазы у большинства сортов (результаты не приводятся). Через 24 ч после одноминутного действия температуры 42°C происходило достоверное повышение активности фермента у сортов всех экотипов, в то же время наиболее существенным оно было у образцов степного экотипа (Одесская 267 и Херсонская 99). При этом после нагрева различия между сортами разных групп по абсолютным значениям активности возрастали (рис. 2, А).

Термостабильность пероксидазы корней незакаленных проростков сортов разных экотипов существенно не отличалась, хотя у сорта степного экотипа Херсонская 99 этот показа-

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО НАГРЕВА

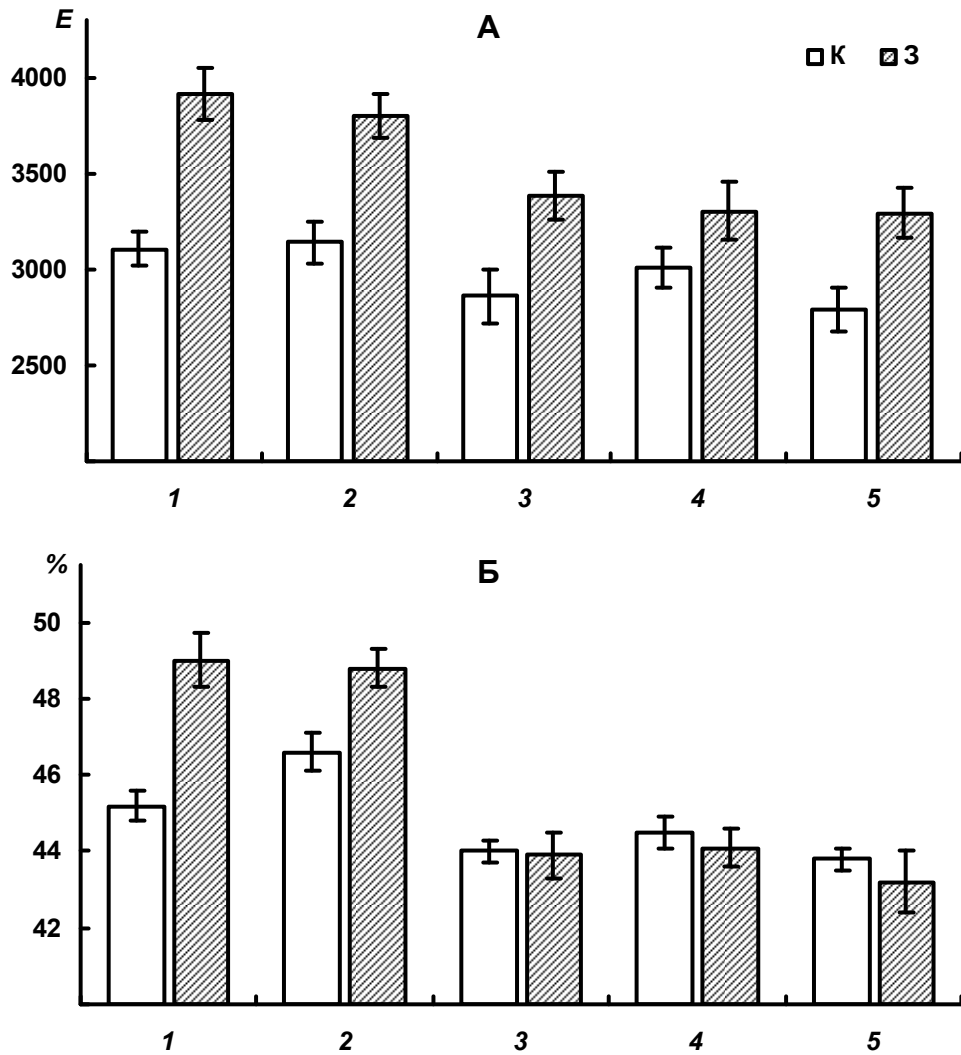


Рис. 2. Активность (E , отн. ед./г · мин) – А) и термостабильность (% остаточной активности – Б) пероксидазы корней пшеницы. Обозначения как на рис. 1.

тель был достоверно выше по сравнению с сортом лесного экотипа Саскиа (рис. 2, Б).

Закаливающий нагрев вызывал увеличение термостабильности растворимой пероксидазы корней только у сортов степного экотипа, у сортов других экотипов термостабильность фермента после закаливающего нагрева не изменялась (рис. 2, Б).

Электрофоретический спектр растворимой пероксидазы корней незакаленных проростков имел некоторые сортовые особенности (рис. 3). У всех сортов отчетливо проявлялись зоны с малоподвижной (R_f 0,04), среднеподвижной (R_f 0,41) и подвижными (R_f 0,73 и 0,77) формами. У сорта степного экотипа Одесская 267 была выявлена высокоподвижная полоса с R_f 0,70, отсутствовавшая у всех остальных сортов. У сорта Саскиа (лесной экотип) присутствовала полоса с R_f 0,66, в то же время более

подвижные формы фермента, характерные для остальных сортов, проявлялись слабо.

Закаливающий нагрев вызывал появление новой молекулярной формы фермента с R_f 0,46 у двух сортов степного экотипа (рис. 3). У всех остальных сортов явных изменений электрофоретического спектра после закаливающего нагрева не наблюдалось.

Таким образом, нам удалось выявить отличия в активности, термостабильности и электрофоретическом спектре растворимой пероксидазы корней сортов пшеницы разных экотипов. Сорта пшеницы степного экотипа Одесская 267 и Херсонская 99 отличались более высокой конститутивной активностью растворимой пероксидазы (см. рис. 2, А). После закаливания активность фермента у степных сортов повышалась более существенно по сравнению с лесостепным и лесными, при этом

1a 1b 2a 2b 3a 3b 4a 4b 5a 5b

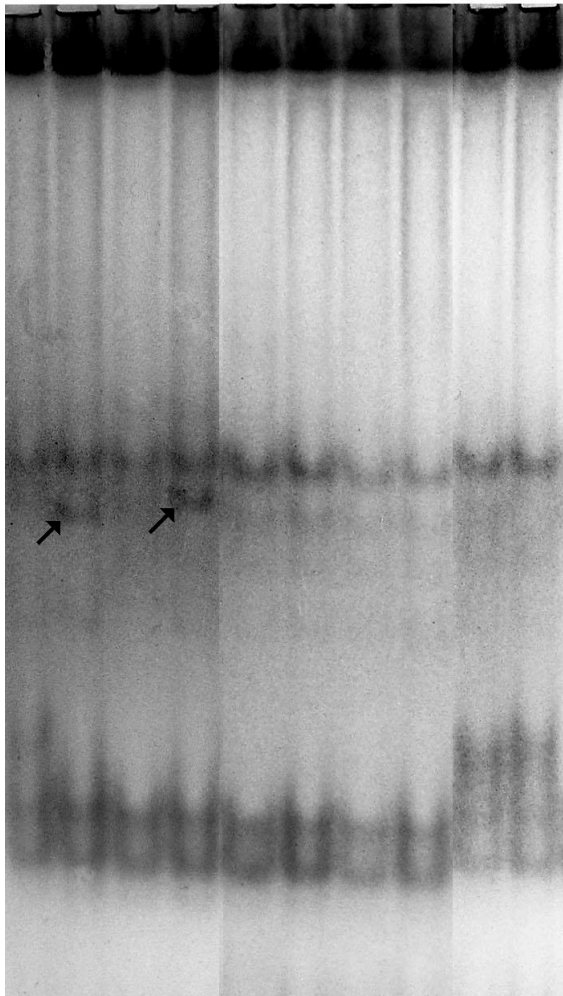


Рис. 3. Электрофоретический спектр пероксидазы корней пшеницы.

a – незакаленные, *б* – закаленные; 1 – Одесская 267, 2 – Херсонская 99, 3 – Национальная, 4 – Волынская 2, 5 – Саскиа. Стрелками показаны новые формы фермента, появляющиеся после закаливания.

различия между группами сортов значительно увеличивались. У сортов степного экотипа после закаливающего нагрева увеличивалась и термостабильность пероксидазы (см. рис. 2, Б). Можно полагать, что это связано с появлением по крайней мере одной новой молекулярной формы фермента. Так, у двух сортов степного экотипа через 24 ч после закаливающего нагрева отмечалось появление в электрофоретическом спектре полосы с R_f 0,46. В то же время у остальных трех сортов в ответ на закаливающий нагрев не изменялись ни спектр фермента, ни его термостабильность, происходило лишь сравнительно небольшое увеличение активности пероксидазы (см. рис. 2, 3).

Полученные результаты в целом согласуются с данными литературы, согласно которым в ответ на продолжительное воздействие гипертермии более существенные изменения активности пероксидазы происходили у сортов степного экотипа (Жук, Мусієнко, 2008). В то же время, согласно нашим данным, и реакция антиоксидантного фермента на кратковременное воздействие высоких температур также была более выразительной у сортов степного экотипа. Такие особенности могут представлять интерес для оценки жаростойкости перспективных сортов и форм пшеницы.

Повышение активности и термостабильности растворимой пероксидазы корней пшеницы сортов степного экотипа после кратковременного закаливающего нагрева, по-видимому, связаны с индуцированным синтезом фермента, в т.ч. новых его молекулярных форм, а не с конформационными изменениями существующих молекул. В пользу такого предположения свидетельствует относительно медленное развитие эффектов (существенное повышение активности и термостабильности наблюдалось лишь через 24 ч после нагрева), а также появление по крайней мере одной новой полосы на электрофореграммах через сутки после воздействия гипертермии. Ранее на примере пшеницы сорта Донецкая 48 нами было показано, что индуцируемые кратковременным закаливающим нагревом изменения активности, термостабильности и электрофоретического спектра пероксидазы подавлялись обработкой проростков ингибитором биосинтеза белка циклогексимидом (Карпец та ін., 2009), что свидетельствует об участии белоксинтезирующего аппарата в таких эффектах.

Возможно, что индуцируемое кратковременным нагревом повышение термостабильности растворимой пероксидазы, более заметное у жаростойких сортов, является ответом на увеличение в клетках содержания активных форм кислорода, прежде всего пероксида водорода (Kolupaev et al., 2008). Ранее нами было показано увеличение термостабильности растворимой пероксидазы корней пшеницы сорта Донецкая 48 под действием экзогенного пероксида водорода (Карпец и др., 2009).

Примечательно, что у растений пшеницы сорта степного экотипа Скала через сутки после обработки пероксидом водорода отмечалось существенное повышение активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы в листьях, в то время как у сорта лесостеп-

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО НАГРЕВА

ного экотипа Полесская 90 под действием экзогенного H₂O₂, активность фермента уменьшалась (Бацманова та ін., 2010).

Для оценки особенностей индуцирования антиоксидантной системы различными воздействиями (закаливание, экзогенные оксиданты и пр.) у сортов разных экотипов необходимы более детальные исследования как активности и характеристик антиоксидантных ферментов, так и динамики содержания активных форм кислорода в тканях растений.

ЛИТЕРАТУРА

- Александров В.Я.* Реактивность клеток и белки. – Л.: Наука, 1985. – 318 с.
- Бацманова Л.М., Грудіна Н.С., Стороженко В.О. та ін.* Адаптивні реакції рослин озимої пшениці різних екотипів за дії перексиду водню // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т. 42, № 2. – С. 163-168.
- Жук І.В., Мусієнко М.М.* Реакція ензимів клітин листкового мезофілу пшениці на високотемпературний стрес // Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні і генетичні аспекти. Мат-ли Міжнар. наук. конф. (Харків, 13-15 жовтня 2008 р.). – Х., 2008. – С 76-77.
- Капустян А.В., Кучеренко В.П., Панюта О.О., Мусієнко М.М.* Активність пероксидази та зміна її ізоферментних форм за умов низькотемпературного стресу // Физиология и биохимия культ. растений. – 2004. – Т. 36, № 1. – С. 55-63.
- Карпець Ю.В., Ястреб Т.О., Обозний А.И., Колупаев Ю.Е.* Активность и термостабильность антиоксидантных ферментов корней проростков пшеницы после воздействия экзогенного пероксида водорода // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2009. – Вип. 2 (17). – С. 62-70.
- Карпець Ю.В., Колупаєв Ю.Є.* Динаміка розвитку теплостійкості рослин після короткочасного теплового загартування: зв'язок з флуктуаціями вмісту пероксидів // Укр. ботан. журн. – 2008. – Т. 65, № 5. – С. 733-742.
- Карпець Ю.В., Обозний О.І., Попов В.М., Колупаєв Ю.Є.* Зміни активності і термостабільності пероксидази коренів пшениці після короткочасної дії гіпертермії // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т. 41, № 4. – С. 353-358.
- Лютлова М.И., Каменцева И.Е.* Термоиндуцированное увеличение устойчивости нитратредуктазы из листьев пшеницы к инактивирующим воздействиям // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 1. – С. 100-105.
- Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х.* Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 3. – С. 459-464.
- Олейникова Т.В., Волкова А.М., Пушина Р.Н.* Действие высокой температуры на изоферментный состав и активность изозимов пероксидазы сортов пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. – 1979. – Т. 11, № 2. – С. 113-117.
- Остерман Л.А.* Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование. – М.: Наука, 1981. – 288 с.
- Піріжжок Р.І., Волков Р.А., Панчук І.І.* Активність пероксидази проростків кукурудзи в умовах теплового стресу // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т. 41, № 1. – С. 44-49.
- Савич И.М.* Пероксидазы – стрессовые белки растений // Успехи соврем. биологии. – 1989. – Т. 107, вып. 3. – С. 406-417.
- Файзуллин А.Д., Лукманова Р.С.* Изменение изоферментного состава пероксидазы в узлах кушения озимой ржи в период осеннего закаливания и перезимовки // Физиология и биохимия культ. растений. – 1987. – Т. 19, № 5. – С. 444-448.
- Фельдман Н.Л., Каменцева И.Е.* Роль протеиназ в изменении активности пероксидазы из закаленных нагревом листьев пшеницы при хранении неочищенного экстракта // Цитология. – 1984. – Т. 26, № 5. – С. 583-587.
- Шарытина Я.Ю., Попов В.Н., Кириченко В.В.* Полиморфизм и генетический контроль некоторых ферментных систем у мутантных линий подсолнечника // Цитология и генетика. – 2006. – Т. 40, № 2. – С. 27-33.
- Asada K.* The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1999. – V. 50. – P. 601-639.
- Bakalova S., Nikolova A., Nedeva D.* Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds // Bulg. J. Plant Physiol. – 2004. – V. 30, № 1-2. – P. 64-77.
- Berberich Th., Harada V., Sugawara K. et al.* Two maize genes encoding 3 fatty acid desaturase and their differential expression to temperature // Plant Mol. Biol. – 1998. – V. 36. – P. 297-306.
- Bestwick S.R., Brown I.R., Bennett M.H.R., Mansfield J.W.* Localization of hydrogen peroxide accumulation during the hypersensitive reaction of lettuce cells to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* // Plant Cell. – 1997. – V. 9. – P. 209-221.

- Bindschedler L.V., Dewdney J., Blee K.A. et al.* Peroxidase-dependent apoplastic oxidative burst in Arabidopsis required for pathogen resistance // *Plant J.* – 2006. – V. 47. – P. 851-863.
- Chen S.X., Schopfer P.* Hydroxyl-radical production in physiological reactions. A novel function of peroxidase // *Eur. J. Biochem.* – 1999. – V. 260. – P. 726-735.
- Gaspar Th., Penel C., Hagege D., Greppin H.* Peroxidases in plant growth, differentiation, and development processes // *Biochemical, molecular, and physiological aspects of plant peroxidases* / Eds G. Lobazewski et al. – Lublin; Geneva: Univ. M. Curie-Sklodowska, 1991. – P. 249-280.
- Ivanov S., Konstantinova T., Parvanova D. et al.* Effect of high temperatures on the growth, free proline content and some antioxidants in tobacco plants // *Докл. Българ. АН.* – 2001. – Т. 54, № 7. – P. 71-74.
- Kolupaev Yu.Ye., Karpets Yu.V., Kosakivska I.V.* The importance of reactive oxygen species in the induction of plants resistance to the heat stress // *Gen. Appl. Plant Physiol.* – 2008. – V. 34, № 3-4. – P. 251-266.
- Radotic K., Ducic T., Mutavdzic D.* Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentrations of cadmium // *Environ. Exp. Bot.* – 2000. – V. 44. – P. 105-113.
- Ridge I., Osborne D.J.* Hydroxyproline and peroxidases in cell wall of *Pisum sativum*: regulation by ethylene // *J. Exp. Bot.* – 1970. – V. 45. – P. 843-856.
- Shaw C.R., Prasad R.* Starch gel electrophoresis of enzymes – a compilation of recipes // *Biochem. Genet.* – 1970. – V. 4. – P. 297-320.
- Sreenivasulu N., Ramanjulu S., Ramachandra-Kini K. et al.* Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance // *Plant Sci.* – 1999. – V. 141. – P. 1-9.
- Tognolli M., Penel C., Greppin H., Simon P.* Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in Arabidopsis thaliana // *Gene.* – 2003. – V. 288. – P. 129-138.

Поступила в редакцию
30.04.2010 г.

INFLUENCE OF SHORT-TERM HEATING ON ACTIVITY AND THERMOSTABILITY OF SOLUBLE PEROXIDASE IN ROOTS OF WHEAT OF DIFFERENT ECOTYPES

O. I. Oboznyi, T. O. Yastreb, Yu. Ye. Kolupaev,
V. M. Popov, R. V. Kryvoruchenko

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

The influence of short-term hardening heating on heat resistance of plantlets of different ecotypes of soft winter wheat (*Triticum aestivum* L.), activity, thermostability and electrophoretic spectrum of soluble peroxidase in roots have been studied. Plantlets of wheat of steppe ecotype varieties (Odes'ka 267 and Khersons'ka 99) differed much higher for constitutive heat resistance in comparison with plantlets of forest-steppe (Natsional'na) and forest (Volyns'ka 2, Saskia) ecotypes varieties. Within 1 day after one-minute heating in the water thermostat at temperature 42°C heat resistance of plantlets of all varieties increased. In the roots of not hardened plantlets the higher peroxidase activity was registered in steppe ecotype varieties, thus the essential differences in thermostability of enzyme in different varieties were not observed. Short-term hardening heating caused small increase of peroxidase activity in varieties of forest-steppe and forest ecotypes and essential increase in steppe ecotype varieties. The increase of thermostability of soluble peroxidase in roots in reply to hardening heating was characteristic only for the steppe ecotype varieties. After the hardening heating in the electrophoretic spectrum of peroxidase of these varieties the occurrence of new molecular form of enzyme was registered. The mechanisms and value of changes of peroxidase activity and thermostability at the adaptation of wheat plants to the hyperthermia are discussed.

Key words: *Triticum aestivum* L., ecological types, heat resistance, hardening, peroxidase, isoenzymic spectrum, thermostability

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО НАГРЕВА

ВПЛИВ КОРОТКОЧАСНОГО НАГРІВУ НА АКТИВНІСТЬ І ТЕРМОСТАБІЛЬНІСТЬ РОЗЧИННОЇ ПЕРОКСИДАЗИ КОРЕНІВ ПШЕНИЦІ РІЗНИХ ЕКОТИПІВ

О. І. Обозний, Т. О. Ястреб, Ю. Є. Колупась,
В. М. Попов, Р. В. Криворученко

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

Вивчали вплив короткочасного загартовувального нагріву на теплостійкість проростків пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.) різних екотипів, активність, термостабільність та електрофоретичний спектр розчинної пероксидази коренів. Проростки сортів пшениці степового екотипу (Одеська 267 і Херсонська 99) відрізнялися значно вищою конститутивною теплостійкістю порівняно з проростками сортів лісостепового (Національна) і лісового (Волинська 2, Саскіа) екотипів. Через 1 добу після однохвилинного прогрівання у водному термостаті при температурі 42°C теплостійкість проростків усіх сортів підвищувалася. У коренях незагартованих проростків вища активність пероксидази виявлялася у сортів степового екотипу, при цьому істотних відмінностей у термостабільності ферменту у різних сортів не спостерігалось. Короткочасний загартовувальний нагрів спричиняв невелике підвищення активності пероксидази у сортів лісостепового і лісового екотипів й істотне у сортозразків степового екотипу. Підвищення термостабільності розчинної пероксидази коренів у відповідь на загартовувальний нагрів було характерним тільки для сортів степового екотипу. Після загартовувального нагріву в електрофоретичному спектрі пероксидази даних сортів відзначалася поява нової молекулярної форми ферменту. Обговорюються механізми і значення змін активності і термостабільності пероксидази при адаптації рослин пшениці до гіпертермії.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., екологічні типи, теплостійкість, загартування, пероксидаза, ізоферментний спектр, термостабільність