

ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ РОСЛИН

УДК 581.1

ГЕНЕРАЦІЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСЛОРОДА КОРНЯМИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ РАЗВИТІИ ПЕРЕКРЕСТНОЇ УСТОЙЧИВОСТІ К ГІПЕРТЕРМІИ І ОСМОТИЧЕСКОМУ ШОКУ

© 2011 г. А. И. Обозный, Ю. Е. Колупаев,
Н. В. Швиденко, Т. О. Ястреб

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

Изучали влияние кратковременных теплового (одноминутный прогрев при 42°C) и осмотического (погружение в 1 М раствор сахарозы на 10 мин с последующим переносом в дистиллированную воду на 20 мин) воздействий на генерацию активных форм кислорода (АФК) корнями этиолированных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и формирование перекрестной устойчивости проростков к гипертермии и осмотическому шоку. Кратковременные тепловое и осмотическое воздействия вызывали транзиторное уменьшение генерации корнями супероксидного анион-радикала и увеличение в них содержания пероксида водорода. Такой эффект, наблюдавшийся в течение 1-2 ч после указанных воздействий, совпадал во времени со снижением устойчивости проростков к нагреву и осмотическому шоку, после чего показатели генерации $O_2^{\cdot-}$ и содержания H_2O_2 приближались к уровню контроля, а устойчивость проростков к обоим стрессорам возрастала. Воздействие экзогенного пероксида водорода также вызывало повышение тепло- и осмоустойчивости проростков пшеницы, которое наблюдалось после лаг-периода. Предполагается, что пероксид водорода является одним из необходимых компонентов клеточного сигналинга, обеспечивающего формирование перекрестной устойчивости растений к гипертермии и осмотическому шоку.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., гипертермия, осмотический шок, кросс-толерантность, активные формы кислорода, пероксид водорода

Вопрос о механизмах кросс-толерантности растений привлекает внимание физиологов уже несколько десятилетий (Кузнецов и др., 1990). Терминами «кросс-толерантность», «перекрестная устойчивость» определяют эффект повышения резистентности организма к определенному стресс-фактору предварительным умеренным воздействием стрессора иной природы. Для объяснения этого явления предложен ряд молекулярных механизмов. Так, известно, что синтез стрессовых белков (в особенности с шаперонными функциями) может быть полезен для защиты клеток при повреж-

дающих воздействиях различной природы (Wang et al., 2004; Su, Li, 2008). Активация антиоксидантной системы также важна для адаптации к различным стрессорам, поскольку окислительные повреждения проявляются при действии самых разных неблагоприятных факторов (Dat et al., 2000; Scandalios, 2005). Иными словами, в специфическом действии стрессоров различной природы, как правило, присутствует неспецифическая составляющая. Она во многом обуславливает и наличие неспецифических (универсальных) защитных реакций, которые функционируют в комплексе со специфическими адаптивными механизмами (Соловьян, 1990).

В то же время выяснение механизмов передачи стрессовых сигналов в генетический аппарат растительной клетки несколько транс-

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

формировало представления и о физиологической роли неспецифических (стрессовых) реакций. В последнее время эти реакции рассматриваются как составляющая механизмов передачи сигнала о неблагоприятном воздействии в геном. Известно, что ранние реакции на стрессоры сопровождаются увеличением содержания в клетках «стрессовых» гормонов (например, абсцизовой и жасмоновой кислот) (Abdala et al., 2003; Desikan et al., 2004; Yoshikawa et al., 2007) и различных сигнальных посредников – ионов кальция, активных форм кислорода (АФК), оксида азота, цАМФ и пр. (Neill et al., 2002; Колупаев, 2009). Изменение содержания одной из стабильных АФК – пероксида водорода – зарегистрировано на начальных этапах воздействия на растения низких и высоких температур. Так, показано транзиторное увеличение содержания H_2O_2 в проростках кукурузы в первые часы после воздействия пониженной температуры (Prasad et al., 1994; Пиотровский и др., 2011). Повышение содержания АФК в проростках сосны, пшеницы и в изолированных семядолях огурца было выявлено после кратковременного воздействия высоких закаливающих температур. Оно оказалось необходимым для инициации развития теплоустойчивости растений (Карпец, Колупаев, 2008). В то же время причастность АФК к процессам формирования устойчивости растений к двум стресс-факторам одновременно специально не исследовалась.

Целью работы явилось изучение участия АФК в формировании тепло- и осмоустойчивости проростков пшеницы после кратковременного действия на них гипертермии и осмотического шока.

МЕТОДИКА

Исследования проводили на этиолированных проростках мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия, выращенных на очищенной и прокипяченной водопроводной воде при температуре 20°C. Четырехсуточные проростки подвергали закаливающим воздействиям – высокотемпературному (одноминутный прогрев в водном термостате при температуре 42,0±0,1°C) и осмотическому (погружение целых проростков в 1 М раствор сахарозы на 10 мин с последующим переносом в дистиллированную воду на 20 мин). Указанные температура и концентрация осмотика были выбраны на основании предварительных опытов.

В отдельной серии опытов исследовали влияние экзогенного пероксида водорода на устойчивость проростков к гипертермии и осмотическому шоку. Для этого проростки обрабатывали 100 мМ раствором пероксида водорода в течение 1 ч (Карпец и др., 2009).

Через определенные промежутки времени после закаливающих воздействий либо обработки проростков пероксидом водорода их подвергали потенциально летальным воздействиям – тепловому (прогрев в водном термостате при температуре 45,5±0,1°C в течение 10 мин) или осмотическому (погружение целых проростков в 1 М раствор сахарозы на 2 ч с последующим переносом на дистиллированную воду на 1 ч). Контролями служили проростки, погруженные на соответствующее время (10 мин или 3 ч) в очищенную водопроводную воду. Следует отметить, погружение в воду (в т.ч. на 3 ч) незначительно сказывалось на дальнейшем росте проростков, их линейные размеры лишь на 10-15% отличались от размеров проростков, не подвергавшихся такой процедуре. Через 4 сут после воздействия повреждающих нагрева или осмотического шока оценивали относительное количество выживших проростков.

Ранее было показано, что в ответ на закаливающие и стрессовые температурные и осмотические воздействия изменения содержания пероксида водорода в корнях этиолированных проростков пшеницы были значительно более существенными, чем в побегах (Колупаев та ин., 2007; Карпец, Колупаев, 2008). В связи с этим в настоящей работе анализировали образование АФК в корнях проростков.

Генерацию супероксидного анионрадикала ($O_2^{\cdot-}$) корнями интактных проростков оценивали по восстановлению нитротетразолия синего (Шорнинг и др., 2000). От проростков предварительно отделяли эндосперм и тщательно промывали их дистиллированной водой. По четыре проростка помещали корнями в пробирки с 10 мл 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,6), содержащего 0,05% нитротетразолия синего, 10 мкМ ЭДТА, 0,1% тритона X-100 на 1 ч, после чего определяли оптическую плотность инкубационного раствора при $\lambda=530$ нм. В каждой пробе определяли длину всех корней и рассчитывали генерацию супероксида в условных единицах на 1 см длины корней.

Содержание пероксида водорода определяли ферроцианидным методом, экстраги-

ГЕНЕРАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

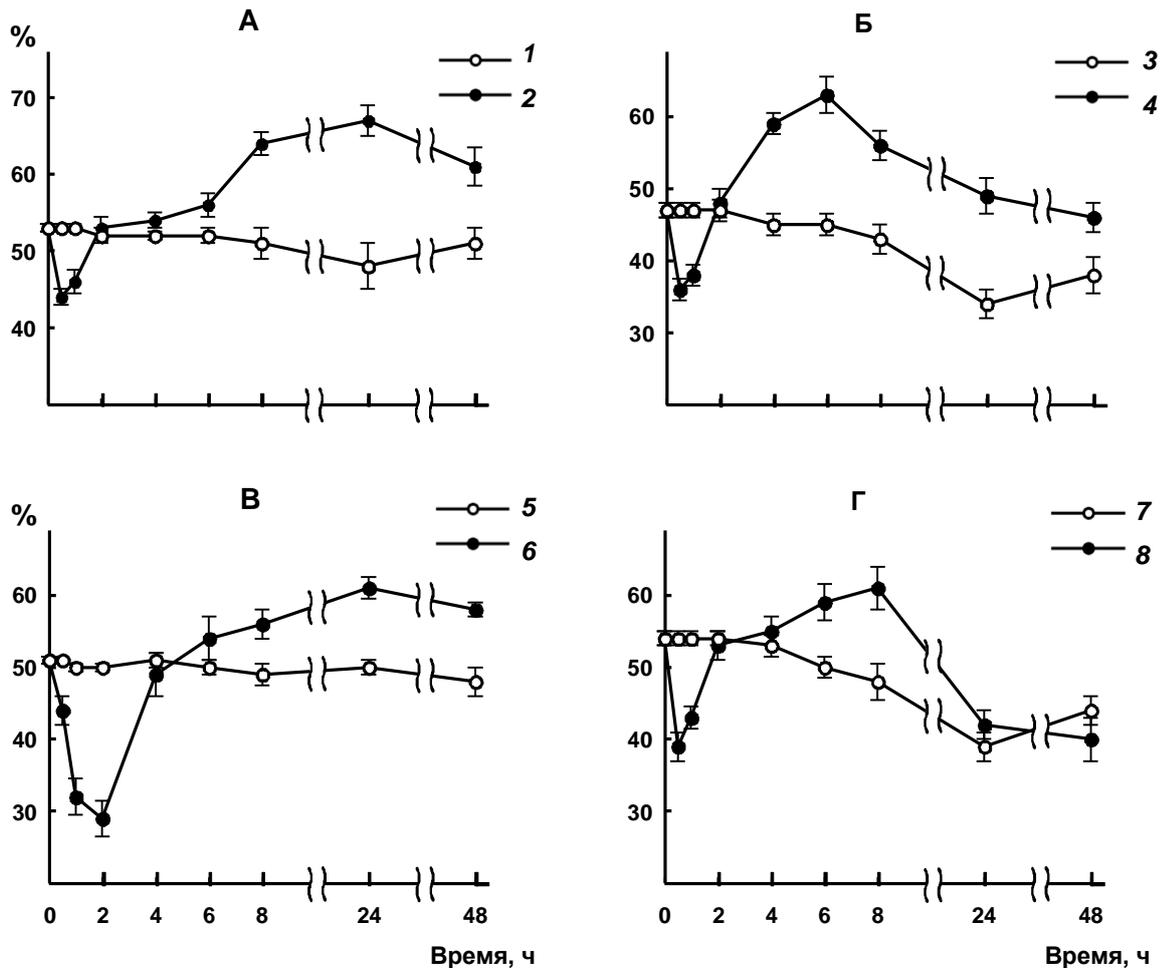


Рис. 1. Динамика устойчивости проростков пшеницы к гипертермии (А, В) и осмотическому шоку (Б, Г) после закаливающего нагрева (А, Г) или осмотического воздействия (Б, В).

1, 3, 5, 7 – контроль; 2, 8 – закаливающий нагрев (1 мин при температуре 42°C); 4, 6 – закаливающее осмотическое воздействие (погружение в 1 М раствор сахарозы на 10 мин с последующим переносом в дистиллированную воду на 20 мин).

руя его из растертых на холоде образцов 5%-ной ТХУ (Sagisaka, 1976).

Биохимические анализы проводили в четырехкратной биологической повторности. При определении выживания проростков после нагрева каждая из трех повторностей состояла из 30 проростков. Эксперименты воспроизводили независимо не менее 3 раз. На рисунках приведены результаты типичных опытов и их стандартные отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Теплоустойчивость контрольных проростков, которые не подвергались закаливающим воздействиям, за время наблюдений существенно не изменялась (рис. 1А, В). Через 0,5-1 ч после одноминутного воздействия температуры 42,0°C (закаливающий нагрев) отмечалось снижение теплоустойчивости проростков, после чего происходило постепенное ее повыше-

ние (рис. 1А). Максимальная теплоустойчивость наблюдалась через 24 ч после закаливающего нагрева, через 48 ч эффект закаливания немного уменьшался.

Устойчивость проростков контрольного варианта к осмотическому шоку достоверно уменьшалась к 24 ч наблюдений и затем немного увеличивалась к 48 ч (рис. 1Б, Г). Через 0,5-1 ч после осмотического воздействия (погружения проростков в 1 М раствор сахарозы на 10 мин с последующим переносом в дистиллированную воду на 20 мин) происходило снижение их осмоустойчивости, затем резистентность проростков заметно повышалась, достигая максимума через 4-6 ч (рис. 1Б). К 24-48 ч наблюдений устойчивость проростков, подвергнутых предварительному осмотическому воздействию, заметно уменьшалась.

Кратковременное осмотическое воздействие вызывало транзитное снижение тепло-

устойчивости проростков пшеницы (рис. 1В). Минимум теплоустойчивости отмечался через 2 ч после такого воздействия. В то же время через 24 ч после осмотического воздействия наблюдалось достоверное повышение теплоустойчивости, повышенная по сравнению с контролем теплоустойчивость проростков сохранялась и через 48 ч наблюдений.

После одноминутного нагрева проростков при 42,0°C их устойчивость к осмотическому шоку была сниженной лишь в течение первого часа наблюдений, затем происходило постепенное повышение осмоустойчивости с максимумом через 6-8 ч после закаливающего нагрева (рис. 1Г). Однако к 24 ч наблюдений происходило снижение устойчивости к осмотическому шоку как подвергнутых нагреву, так и контрольных проростков.

Таким образом, на проростках пшеницы нам удалось показать возможность их закаливания к гипертермии и осмотическому шоку умеренным действием любого из двух исследуемых стрессоров (эффект кросс-толерантности). Необходимо отметить, что динамика формирования устойчивости к конкретным стрессорам в наших экспериментах слабо зависела от природы закаливающего воздействия (тепловое или осмотическое), но в значительной степени определялась природой повреждающего стрессора. Так, максимальная теплоустойчивость наблюдалась через 24 ч после закаливающих теплового и осмотического воздействий, а максимальная осмоустойчивость через 4-8 ч после указанных воздействий. По-видимому, такую феноменологию можно рассматривать как проявление специфичности теплового и осмотического воздействий, по крайней мере, применительно к исследуемому нами объекту – этиолированным проросткам пшеницы. В то же время флуктуации устойчивости могут быть связаны и с возрастными изменениями. Так, как уже упоминалось, снижение устойчивости к осмотическому шоку отмечалось через 24 ч наблюдений как в вариантах с предварительным осмотическим и тепловым закаливанием, так и в контрольных проростках соответствующего возраста (на 5-е сутки с момента проращивания семян) (рис. 1). При этом, однако, абсолютные величины выживания после осмотического шока проростков, закаленных одним из воздействий (осмотическим или тепловым), были несколько выше, чем контрольных растений того же возраста, хотя в дальнейшем, через 48 ч, различия между кон-

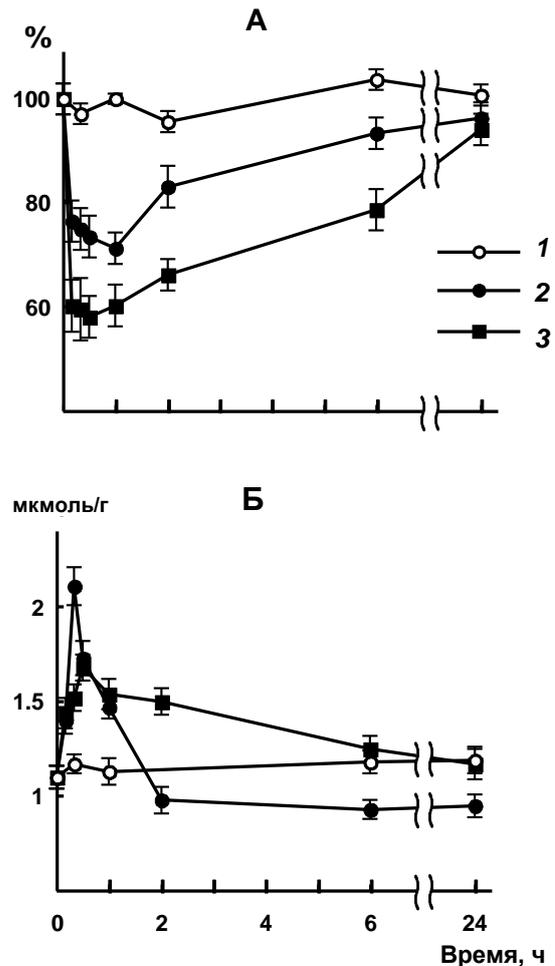


Рис. 2. Генерация супероксидного анион-радикала (А, %) и содержание пероксида водорода (Б, мкмоль/г сухого вещества) в корнях проростков пшеницы.

1 – контроль; 2 – закаливающий нагрев (1 мин при температуре 42°C); 3 – закаливающее осмотическое воздействие (погружение в 1 М раствор сахарозы на 10 мин с последующим переносом в дистиллированную воду на 20 мин).

трольными и опытными вариантами нивелировались.

В последующих экспериментах оценивали возможную связь между динамикой генерации АФК корнями проростков пшеницы и формированием их тепло- и осмоустойчивости после закаливающих воздействий.

Интенсивность генерации супероксидного анион-радикала корнями проростков пшеницы контрольного варианта в течение 24 ч наблюдений достоверно не изменялась (рис. 2А). После воздействия на проростки закаливающей температуры генерация $O_2^{\cdot-}$ корнями уменьшалась, ее уровень почти достигал значений контрольного варианта через 6 ч наблюдений. После кратковременного осмотического

ГЕНЕРАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

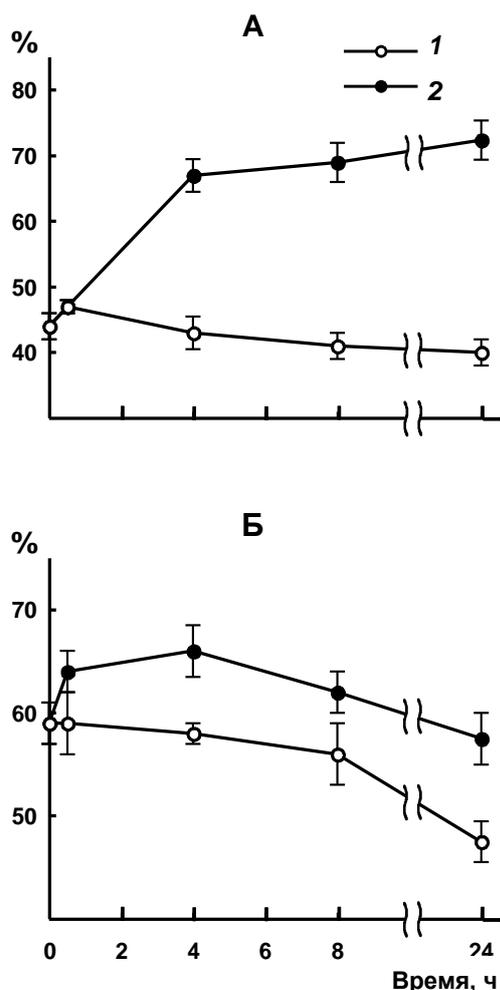


Рис. 3. Динамика устойчивости проростков пшеницы к гипертермии (А) и осмотическому шоку (Б) после воздействия экзогенного пероксида водорода.

1 – контроль; 2 – обработка 100 мкМ H₂O₂ в течение 1 ч.

воздействия отмечалось еще более существенное и длительное снижение генерации супероксида корнями проростков, ее уровень достигал исходных значений лишь через 24 ч после такого воздействия.

Содержание пероксида водорода в корнях проростков в контроле в период наблюдений существенно не изменялось (рис. 2Б). Одноминутное воздействие высокой закалывающей температуры на проростки пшеницы вызвало быстрое повышение содержания в них H₂O₂, его максимум наблюдался через 20 мин после закалывающего нагрева. Повышенное по сравнению с контролем содержание пероксида водорода в этом варианте опыта сохранялось в течение 1 ч наблюдений, затем проявлялась тенденция к снижению его количества. Кратковременное осмотическое воздействие также вы-

зывало увеличение содержания H₂O₂ в корнях проростков с максимумом через 30 мин, эффект был более длительным по сравнению с тепловым воздействием. Повышенное количество пероксида водорода сохранялось в течение 2 ч после осмотического воздействия, затем оно постепенно снижалось, достигая (к 24 ч) величин контрольного варианта.

Таким образом, после как высокотемпературного, так и осмотического закалывающих воздействий наблюдалось транзитное снижение генерации супероксидного анион-радикала корнями проростков с одновременным увеличением в них концентрации пероксида водорода. Для выяснения причин разнонаправленных изменений генерации супероксида и содержания H₂O₂ в корнях проростков необходимы специальные исследования. В то же время, с учетом полученных ранее данных об увеличении активности супероксиддисмутазы (СОД) в корнях пшеницы через 1 ч после кратковременного высокотемпературного воздействия (Карпец, Колупаев, 2009), можно предположить, что одной из причин повышения содержания пероксида водорода в этих органах после температурного и осмотического воздействий может быть повышение активности СОД. Вполне возможен и вклад АФК-генерирующих ферментных систем в повышение содержания H₂O₂. Так, показано транзитное увеличение активности НАДФН-оксидазы в корнях и побегах проростков кукурузы, которое сопровождалось повышением содержания в них пероксида водорода (Пиотровский и др., 2011). Одним из источников пероксида водорода, генерируемого корнями пшеницы, может быть также пероксидаза (Minibaeva et al., 2001).

Пероксид водорода, как стабильная молекула, рассматривается в качестве основной АФК, задействованной в окислительном сигналинге, вовлеченном в индуцирование различных адаптивных реакций растительных клеток (Neill et al., 2002). В наших экспериментах повышенное содержание H₂O₂ в клетках корней течение 1-2 ч после теплового или осмотического закалывающих воздействий совпадало во времени с эффектом снижения как тепло-, так и осмоустойчивости проростков пшеницы. В то же время в процессе дальнейшего возвращения содержания пероксида водорода к исходному уровню наблюдалось повышение устойчивости проростков к обоим стрессорам. Иными словами, осмотическое и тепловое воздействия вызвали транзитное накопление в корнях пероксида водорода и последующее развитие пе-

рекрестной устойчивости к гипертермии и осмотическому шоку.

Для проверки предположения о роли пероксида водорода как сигнальной молекулы в индуцировании тепло- и осмоустойчивости проростков пшеницы в специальном эксперименте исследовали влияние обработки проростков пшеницы экзогенным H_2O_2 на их устойчивость к указанным стрессорам. Обработка проростков пероксидом водорода после некоторого лаг-периода вызывала повышение их устойчивости к гипертермии и осмотическому шоку (рис. 3). При этом максимум теплоустойчивости наблюдался через 24 ч после обработки проростков пероксидом водорода, а максимальная устойчивость к осмотическому шоку была выявлена через 4 ч после воздействия на проростки H_2O_2 .

Таким образом, действие экзогенного пероксида водорода по сути имитировало эффекты теплового и осмотического закаливания проростков. Различие состояло лишь в отсутствии эффекта снижения устойчивости к стрессорам в первые часы после закаливающего воздействия экзогенного H_2O_2 . Можно предположить, что действие пероксида водорода в использованной нами концентрации не вызывало повреждений проростков пшеницы, в то время как тепловое и осмотическое закаливающие воздействия приводили не только к увеличению содержания пероксида водорода, но и к повреждению проростков, что требовало репарации (Александров, 1985). Эти результаты в совокупности с данными о динамике содержания пероксида водорода в корнях после закаливающих воздействий позволяют полагать, что пероксид водорода является одним из важных компонентов клеточного сигналинга, необходимого для формирования тепло- и осмоустойчивости проростков пшеницы. К настоящему времени показано, что пероксид водорода может принимать участие в активации экспрессии генов стрессовых белков (Volkov et al., 2006; Wahid et al., 2007), индуцировании антиоксидантных ферментов (Morita et al., 1999; Gadjev et al., 2006; Hu et al., 2007), усилении накопления пролина (Колупаев и др., 2005) и других защитных реакций растений. В то же время установление конкретных функций данной сигнальной молекулы в перечисленных и других адаптивных реакциях требует специальных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

- Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. – Л.: Наука, 1985. – 318 с.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. Ионол и циклогексими́д нивелируют эффект повышения термостабильности антиоксидантных ферментов корней пшеницы после кратковременного закаливающего прогрева // Устойчивость организмов к неблагоприятным факторам внешней среды. Мат-лы Всеросс. научн. конф. – Иркутск, 2009. – С. 202-206.
- Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Обозный А.И., Колупаев Ю.Е. Активность и термостабильность антиоксидантных ферментов корней проростков пшеницы после воздействия экзогенного пероксида водорода // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. – 2009. – Вип. 2 (17). – С. 62-70.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.С. Динаміка розвитку теплостійкості рослин після короткочасного теплового загартування: зв'язок з флуктуаціями вмісту пероксидів // Укр. бот. журн. – 2008. – Т. 65, № 5. – С. 733-742.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Акинина Г.Е. Влияние салициловой кислоты и перекиси водорода на содержание пролина в колеоптилях пшеницы при тепловом и солевом стрессах // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2005. – Вип. 1 (6). – С. 51-56.
- Колупаев Ю.С. Роль основних сигнальних інтермедіатів у формуванні адаптивних реакцій рослин на дію абіотичних стресорів // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. – К.: Логос, 2009. – С. 166-194.
- Колупаев Ю.С., Карпец Ю.В., Мусатенко Л.І. Участь активних форм кисню в індукуванні солестійкості проростків пшениці салициловою кислотою // Доп. НАН України. – 2007. – № 6. – С. 154-158.
- Кузнецов Вл.В., Хыдыров Б.Т., Рошупкин Б.В., Борисова Н.Н. Общие системы устойчивости хлопчатника к засолению и высокой температуре: факты и гипотезы // Физиология растений. – 1990. – Т. 37, № 5. – С. 987-996.
- Пиотровский М.С., Шевырева Т.А., Жесткова И.М., Трофимова М.С. Активация НАДФ-Н-оксидазы плазмалеммы при действии низких положительных температур на этилированные проростки кукурузы // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 234-242.
- Соловьян В.Т. Приспособление клеток к неблагоприятным факторам. Характеристика адаптивных ответов // Биополимеры и клетка. – 1990. – Т. 6, № 4. – С. 32-42.

ГЕНЕРАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

- Шорнинг Б.Ю., Смирнова Е.Г., Ягузинский Л.С., Ванюшин Б.Ф. Необходимость образования супероксида для развития этиолированных проростков пшеницы // Биохимия. – 2000. – Т. 65, вып. 12. – С. 1612-1618.
- Abdala G., Miersch O., Kramell R. et al. Jasmonate and octadecanoid occurrence in tomato hairy roots. Endogenous level changes in response to NaCl // Plant Growth Regul. – 2003. – V. 40. – P. 21-27.
- Dat J.F., Vandenabeele S., Vranova E. et al. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses // Cell. Mol. Life Sci. – 2000. – V. 57. – P. 779-795.
- Desikan R., Cheung M.K., Bright J. et al. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells // J. Exp. Bot. – 2004. – V. 55. – P. 205-212.
- Gadjev I., Vanderauwera S., Gechev T.S. et al. Transcriptomic footprints disclose specificity of reactive oxygen species signaling in Arabidopsis // Plant Physiol. – 2006. – V. 141. – P. 436-445.
- Hu X., Jiang M., Zhang J. et al. Calcium-calmodulin is required for abscisic acid-induced antioxidant defense and functions both upstream and downstream of of H₂O₂ production in leaves of maize (*Zea mays*) plants // New Phytologist. – 2007. – V. 173. – P. 27-38.
- Minibayeva F.V., Gordon L.K., Kolesnikov O.P., Chasov A.V. Role of extracellular peroxidase in the superoxide production by wheat root cells // Protoplasma. – 2001. – V. 217. – P. 125-128.
- Morita S., Kaminaka H., Masumura T., Tanaka K. Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress: the involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signalling // Plant Cell Physiol. – 1999. – V. 40. – P. 417-422.
- Neill S.J., Desikan R., Clarke A. et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants // J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53. – P. 1237-1247.
- Prasad T.K., Anderson M.D., Stewart C.R. Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings // Plant Physiol. – 1994. – V. 105. – P. 619-627.
- Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica* // Plant Physiol. – 1976. – V. 57. – P. 308-309.
- Scandalios J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2005. – V. 38. – P. 995-1014.
- Su P.H., Li H.M. Arabidopsis stromal 70-kD heat shock proteins are essential for plant development and important for thermotolerance of germinating seeds // Plant Physiol. – 2008. – V. 146. – P. 1231-1241.
- Volkov R.A., Panchuk I.I., Mullineaux P.M., Schoffl F. Heat stress-induced H₂O₂ is required for effective expression of heat shock genes in *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. – 2006. – V. 61. – P. 733-746.
- Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M.R. Heat tolerance in plants: An overview // Environ. Exp. Bot. – 2007. – V. 61. – P. 199-223.
- Wang W., Vinocur B., Shoseyov O., Altman A. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response // Trends Plant Sci. – 2004. – V. 9. – P. 244-252.
- Yoshikawa H., Honda C., Kondo S. Effect of low-temperature stress on abscisic acid, jasmonates, and polyamines in apples // Plant Growth Regul. – 2007. – V. 52. – P. 199-206.

Поступила в редакцию
14.04.2011 г.

THE GENERATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES BY ROOTS OF WINTER WHEAT SEEDLINGS AT THE DEVELOPMENT OF THE CROSS-TOLERANCE TO HEAT AND OSMOTIC SHOCK

O. I. Oboznyi, Yu. Ye. Kolupaev, M. V. Shvidenko, T. O. Yastreb

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

The influence of the brief thermal (one-minute warming at 42°C) and osmotic (immersion in a 1 M saccharose solution on 10 minutes with a subsequent transfer into the distilled water on 20 minutes) impact on the reactive oxygen species generation by the roots of bleached-out winter wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings and the formation of cross-tolerance to heat and osmotic shock was investigated. Brief thermal and osmotic influences caused the transit diminishing of superoxide anion-

radical generation by roots and the increase of hydrogen peroxide content in them. This effect, observed during 1-2 hours after indicated influences, coincided with the decline of seedlings resistance to heating and osmotic shock, whereupon indexes of $O_2^{\cdot -}$ generation and H_2O_2 content approached the level of control variant, and resistance of seedlings to both stressors increased. The influence of exogenous hydrogen peroxide also caused the increase of heat and osmotic resistance of wheat seedlings, which was observed after the lag period. It is assumed that the hydrogen peroxide is one of the necessary components in cellular signaling, providing the formation of plants cross-tolerance to heat and osmotic shock.

Key words: *Triticum aestivum L., heating, osmotic shock, cross-tolerance, reactive oxygen species, hydrogen peroxide*

ГЕНЕРАЦІЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ КОРЕНЯМИ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ ПРИ РОЗВИТКУ ПЕРЕХРЕСНОЇ СТІЙКОСТІ ДО ГІПЕРТЕРМІЇ ТА ОСМОТИЧНОГО ШОКУ

О. І. Обозний, Ю. Є. Колупаєв, М. В. Швиденко, Т. О. Ястреб

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

Вивчали ефект короточасних теплового (однохвилинний прогрів при 42°C) та осмотичного (занурення в 1 М розчин сахарози на 10 хв з подальшим перенесенням в дистильовану воду на 20 хв) впливів на генерацію активних форм кисню (АФК) коренями етіюльованих проростків пшениці (*Triticum aestivum L.*) і формування перехресної стійкості проростків до гіпертермії та осмотичного шоку. Короточасні тепловий і осмотичний впливи спричиняли транзиторне зменшення генерації коренями супероксидного аніон-радикала і збільшення в них вмісту пероксиду водню. Такий ефект, що спостерігався протягом 1-2 год після вказаних впливів, збігався у часі із зниженням стійкості проростків до нагріву і осмотичного шоку, після чого показники генерації $O_2^{\cdot -}$ і вмісту H_2O_2 наближалися до рівня контролю, а стійкість проростків до обох стресорів зростала. Дія екзогенного пероксиду водню також викликала підвищення тепло- і осмостійкості проростків пшениці, що спостерігалось після лаг-періоду. Висловлено припущення, що пероксид водню є одним з необхідних компонентів клітинного сигналіngu, що забезпечує формування перехресної стійкості рослин до гіпертермії і осмотичного шоку.

Ключові слова: *Triticum aestivum L., гіпертермія, осмотичний шок, крос-толерантність, активні форми кисню, пероксид водню*