

УДК 581.1:577.13

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ И НИТРОПРУССИДА НАТРИЯ

Ю.В. КАРПЕЦ, Ю.Е. КОЛУПАЕВ, Т.О. ЯСТРЕБ, А.А. ЛУГОВАЯ

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева

62483 Харьков, пос. Докучаевское

e-mail: plant_biology@ukr.net

Изучали влияние обработки донором оксида азота нитропруссидом натрия (НПН) на активность антиоксидантных ферментов, содержание хлорофилла в листьях и рост растений трех сортов ячменя (*Hordeum vulgare* L.): Гелиос (слабозасухоустойчивый), Козак (умеренно засухоустойчивый) и Мономах (высоко-засухоустойчивый). Действие засухи в течение 6 сут (снижение влажности почвы до 25–30 % ПВ) приводило к угнетению накопления биомассы растений и снижению содержания хлорофилла. Негативное влияние засухи на биомассу растений заметнее проявлялось у сортов Гелиос и Козак. Засухоустойчивый сорт Мономах отличался более высокой конститутивной активностью антиоксидантных ферментов — каталазы (КАТ), гвяяколпероксидазы (ГПО) и аскорбатпероксидазы (АПО). Под влиянием засухи у сорта Гелиос снижалась активность всех трех исследованных антиоксидантных ферментов, у сорта Козак — активность ГПО снижалась, двух других — изменялась незначительно, у сорта Мономах — высокая активность всех ферментов сохранялась. В случае обработки растений всех трех сортов НПН при нормальном увлажнении активность КАТ повышалась существенно, активность АПО — значительно меньше, активность ГПО — почти не изменялась. Предобработка НПН снимала негативное влияние засухи на активность антиоксидантных ферментов наиболее заметно у растений слабозасухоустойчивого сорта Гелиос. Под влиянием донора оксида азота в условиях засухи усиливался рост растений и сохранялось близкое к контролю содержание хлорофилла. Обсуждена роль ферментативной антиоксидантной системы в устойчивости растений к засухе и значение оксида азота в регуляции активности антиоксидантных ферментов.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L., засуха, оксид азота, антиоксидантные ферменты, устойчивость.

Оксид азота (NO) является сигнальной молекулой, задействованной в трансдукции гормональных и стрессовых сигналов в генетический аппарат растительных клеток и в формировании адаптивных реакций растений на действие стрессоров различной природы [17]. Сообщалось о повышении содержания NO у растений под влиянием ряда неблагоприятных абиотических факторов, в том числе гипертермии, осмотического стресса, засоления [1, 28, 36]. Во многих работах также зарегистрированы эффекты повышения устойчивости растений к указанным стрессорам при обработке донорами оксида азота, в частности нитропруссидом натрия [3, 32, 36].

© Ю.В. КАРПЕЦ, Ю.Е. КОЛУПАЕВ, Т.О. ЯСТРЕБ, А.А. ЛУГОВАЯ, 2017

По современным представлениям, негативное влияние засухи на растения связано не только с уменьшением содержания свободной воды в тканях, нарушением гидратации белков, изменениями структуры и функциональной активности мембран [23], но и с усилением спонтанного образования активных форм кислорода (АФК) в тканях, в первую очередь, фотосинтезирующих [15]. Последнее обусловлено ингибированием ассимиляции углекислого газа вследствие закрытия устьиц и уменьшением использования пула восстановителей [4]. При «сверхвосстановленности» фотосинтетической электронтранспортной цепи (ЭТЦ) происходит так называемая утечка электронов, в результате которой последние реагируют с молекулярным кислородом с образованием различных АФК. Установлено, что при засухе до 50 % электронов может покидать ЭТЦ и потенциально использоваться в реакциях образования АФК [27]. В связи с этим образование АФК и последующее усиление пероксидного окисления липидов (ПОЛ) считается одним из ведущих механизмов повреждения растений при засухе. В свою очередь, антиоксидантная система наряду с осмопротекторной рассматривается как один из важнейших компонентов защиты растительных клеток при засухе [5, 12, 16].

Получены сведения о положительном влиянии оксида азота на функционирование антиоксидантной системы растений, в том числе в условиях засухи [29, 30]. В то же время известно, что NO может оказывать на нее крайне сложное влияние, механизмы которого исследованы далеко не полностью [18].

В экспериментах *in vivo* зарегистрировано как повышение, так и снижение активности антиоксидантных ферментов в растениях различных видов под влиянием доноров оксида азота. Показано усиление экспрессии генов и повышение активности супероксиддисмутазы, цитозольной аскорбатпероксидазы, каталазы и глутатионредуктазы в листьях кукурузы под влиянием НПН [35]. У растений сои выявлено повышение активности КАТ и ГПО при обработке НПН на фоне действия солевого стресса [31]. В то же время экзогенный NO, уменьшая окислительные повреждения растений риса, вызываемые токсическим действием ртути, существенно не влиял на активность антиоксидантных ферментов [11].

В целом влияние оксида азота на конкретные протекторные системы растений, обусловливающее повышение их резистентности к стрессорам, неоднозначно. Возможно, его эффекты зависят как от природы стрессора, так и от конститтивных механизмов устойчивости, обусловленных видовыми и сортовыми особенностями растений. В то же время специфика проявления протекторных эффектов доноров оксида азота на растения с различной базовой засухоустойчивостью изучена недостаточно. Также мало исследованы эффекты доноров NO на устойчивость растений к водному стрессу в условиях, приближенных к естественным [29].

Ранее нами установлены различия в проявлении влияния донора оксида азота НПН на рост растений ячменя различных генотипов и накопление в них совместимых осмолитов в условиях засухи [2]. Целью настоящей работы было изучение влияния обработки донором оксида азота НПН на компоненты ферментативной антиоксидантной системы у трех сортов растений ячменя (*Hordeum vulgare L.*), отличающихся по засухоустойчивости.

Методика

Исследовали молодые растения трех сортов ячменя: Гелиос (слабозасухоустойчивый), Козак (умеренно засухоустойчивый) и Мономах (высокозасухоустойчивый).

Растения выращивали в пластиковых контейнерах на черноземе типичном тяжелосуглинистом с pH_{KCl} 5,3, содержанием гумуса 5,4 %, подвижного фосфора и калия (по методу Чирикова) — соответственно 120 и 142 мг/кг. Влажность субстрата — около 80 % ПВ, освещение — 6 клк, фотопериод — 16 ч, температура 25/20 °C (день/ночь).

Перед созданием условий засухи растения в возрасте 10 сут опрыскивали раствором НПН в концентрации 2 мМ, контроль — опрыскивание дистиллированной водой. Оптимальная концентрация НПН, наиболее благоприятно влияющая на рост растений в условиях засухи, была установлена ранее [2].

Засуху создавали в течение 6 сут, начиная с 11-го дня выращивания растений, уменьшением нормы полива с постепенным снижением влажности почвы до 25—30 % ПВ. После этого полив возобновляли.

После воздействия засухи (на 16-е сут эксперимента) и через 2 дня после возобновления полива (18-е сут) определяли массу сырого вещества надземной части растений, содержание хлорофиллов и активность антиоксидантных ферментов в первых листьях.

Количество хлорофиллов *a* и *b* определяли спектрофотометрическим методом при длине волн 665 и 649 нм, используя для экстракции 96 %-й этанол [8].

Для определения активности КАТ (КФ 1.11.1.6), ГПО (КФ 1.11.1.7) и АПО (КФ 1.11.1.11) листья гомогенизировали при температуре 2—4 °C в 0,06 М K₂Na-фосфатном буфере (pH 7,2) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ) и дитиотреитола (1 мМ). Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 8000 *g* и 4 °C. Надсадочную жидкость использовали для определения активности ферментов.

Активность КАТ устанавливали при pH реакционной смеси 7,2 по количеству разложившегося пероксида водорода за единицу времени [7].

Активность АПО оценивали по уменьшению оптической плотности при 290 нм в результате окисления аскорбиновой кислоты ($E = 2,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) при наличии H₂O₂ [24]. Реакционная среда содержала 0,06 М K₂Na-фосфатный буфер (pH 7,0), 250 мкМ аскорбиновую кислоту, 0,1 мМ ЭДТА, 1,5 мМ пероксид водорода и ферментный экстракт.

Для определения активности ГПО в качестве субстрата использовали 0,15 %-й пероксид водорода, в качестве восстановителя — 0,7 %-й гвяжкол, pH реакционной смеси поддерживали на уровне 6,2 с помощью 0,06 М K₂Na-фосфатного буфера [26].

При определении массы растений оценивали не менее 30 экземпляров. Другие показатели в экспериментах определяли в 3—4-кратной повторности. Опыты повторяли независимо 3 раза. На рисунках и в таблице приведены средние значения и их стандартные погрешности.

Результаты и обсуждение

Под влиянием засухи наблюдалось угнетение накопления биомассы растений, более заметным оно было у сортов Гелиос и Козак, не отличаю-

щихся высокой засухоустойчивостью (рис. 1). В то же время негативное влияние засухи на показатели высокозасухоустойчивого сорта Мономах проявлялось не столь заметно. После возобновления полива масса растений в вариантах с воздействием засухи увеличивалась, однако была значительно ниже, чем в контроле у всех сортов (см. рис. 1).

Обработка НПН при нормальном поливе существенно не влияла на показатели биомассы растений всех трех сортов, а при обработке донором NO значительно уменьшалось ростингибирующее действие засухи на растения. Наиболее заметно такой эффект проявлялся у слабозасухоустойчивого сорта Гелиос и менее выражено — у высокозасухоустойчивого сорта Мономах (см. рис. 1). Эти эффекты сохранились и при сравнении сырой биомассы надземной части растений соответствующих вариантов после возобновления полива.

Под влиянием засухи у растений всех трех сортов снижалось содержание хлорофиллов (рис. 2). Пониженным оно оставалось и после возобновления полива.

Обработка растений

НПН в условиях нормального полива вызывала некоторое повышение суммарного содержания хлорофилла в листьях всех трех сортов, более заметным этот эффект был у сорта Гелиос. В условиях засухи обработка донором NO значительно повышала содержание хлорофиллов у сортов Гелиос и Козак. Менее выраженным было положительное влияние НПН в этих условиях на содержание хлорофиллов у высокозасухоустойчивого сорта Мономах (см. рис. 2).

В целом полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии обработки НПН на растения ячменя в условиях засухи, что проявлялось в смягчении под его влиянием ингибирования роста и предотвращении деградации хлорофиллов.

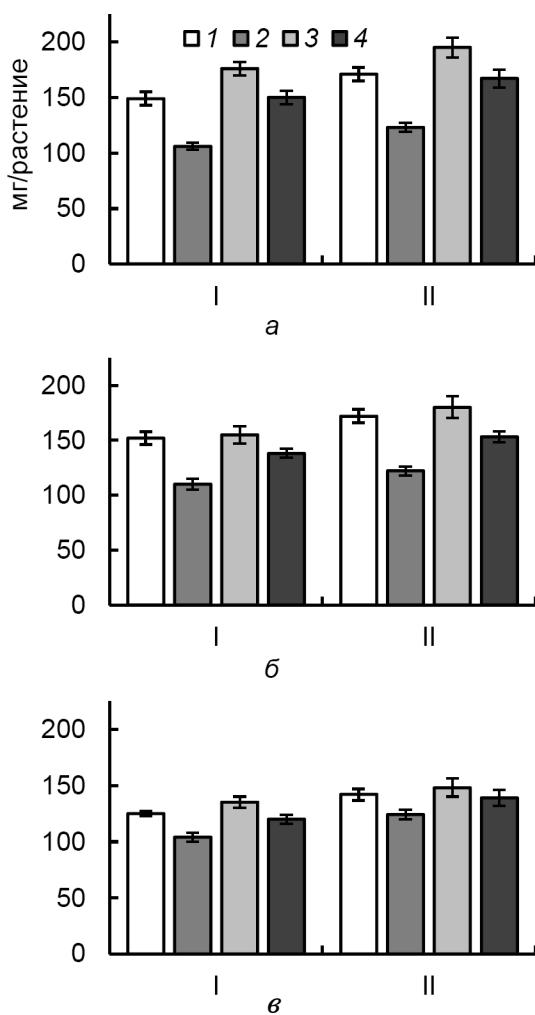


Рис. 1. Масса надземной части растений ячменя. Здесь и на рис. 2:

a — Гелиос; *б* — Козак; *в* — Мономах; I — после 6 сут воздействия засухи; II — через 2 дня после возобновления полива; 1 — контроль; 2 — засуха; 3 — НПН (2 мМ); 4 — засуха + НПН (2 мМ)

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ

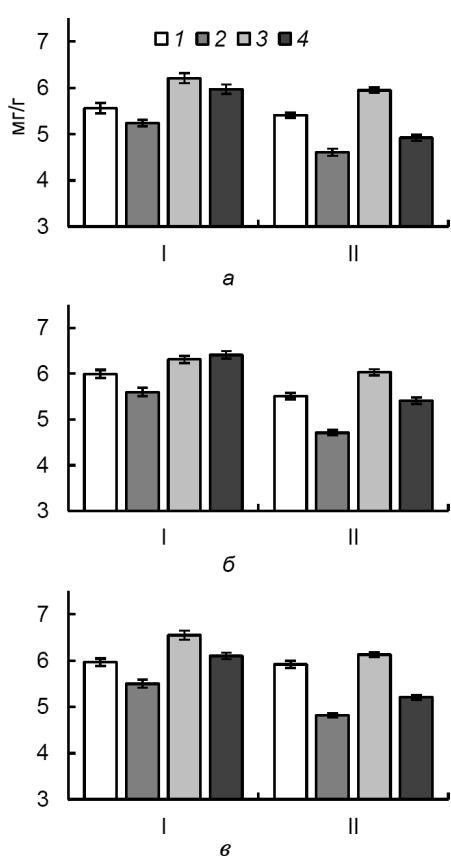


Рис. 2. Суммарное содержание хлорофиллов (мг/г сухого вещества) в листьях растений ячменя

экспериментальных условий.

Исследуемые сорта отличались по конститутивной активности КАТ (таблица). Наиболее высокой она была у высокозасухоустойчивого сорта Мономах, наиболее низкой — у слабозасухоустойчивого сорта Гелиос. В условиях наших экспериментов засуха вызывала небольшое снижение активности КАТ у слабоустойчивого сорта Гелиос и почти не влияла на этот показатель у двух других более устойчивых сортов. После возобновления полива активность фермента у всех сортов изменялась незначительно. Обработка НПН растений всех исследуемых сортов вызывала существенное повышение активности КАТ при нормальном поливе растений и предотвращала ее снижение при засухе у сорта Гелиос (см. таблицу). Особенно заметным было положительное влияние донора оксида азота на активность фермента после возобновления полива.

Базовая активность ГПО у сортов Гелиос и Козак отличалась незначительно, более высокой она была у сорта Мономах (см. таблицу). Засуха вызывала заметное снижение активности ГПО в листьях сортов Гелиос и Козак. В то же время она почти не влияла на активность фермента у засухоустойчивого сорта Мономах. После возобновления полива активность ГПО у сортов Гелиос и Козак изменилась незначительно, хотя у засухоустойчивого сорта Мономах она повышалась (см. таблицу).

Возникает вопрос, какие именно протекторные системы задействованы в индуцированном донором оксида азота повышении засухоустойчивости растений ячменя. Как показали наши исследования, проведенные ранее, обработка растений ячменя НПН не оказывала существенного влияния на содержание пролина в листьях в условиях засухи, хотя при этом повышалось содержание сахаров [2], которые, как и пролин, выполняют функции не только осмотолитов, но и низкомолекулярных антиоксидантов [5].

Данные литературы свидетельствуют о возможности влияния экзогенного оксида азота как на содержание низкомолекулярных антиоксидантов [19, 32], так и на активность многих антиоксидантных ферментов [9, 10], однако характер таких эффектов может существенно отличаться в зависимости от конкретных

Активность антиоксидантных ферментов в листьях ячменя

Вариант	Катализ, ммоль H_2O_2 /(г сухого вещества · мин)		Гваяколпероксидаза, мкмоль гваякола/ (г сухого вещества · мин)		Аскорбатпероксидаза, мкмоль аскорбата/ (г сухого вещества · мин)	
	I	II	I	II	I	II
Гелиос						
Контроль	40,6±1,4	36,2±0,8	3,43±0,07	4,45±0,11	17,3±0,6	25,0±0,6
Засуха	36,0±1,0	34,0±0,6	2,38±0,07	2,68±0,09	18,5±0,5	18,6±0,6
НПН (2 мМ)	54,9±1,1	43,1±0,7	3,45±0,09	4,55±0,09	21,4±0,5	27,0±0,5
Засуха + + НПН (2 мМ)	44,9±1,3	47,2±1,2	2,66±0,11	3,57±0,07	22,8±0,7	26,7±0,5
Козак						
Контроль	46,8±1,6	45,1±1,1	3,55±0,11	4,80±0,11	21,1±0,6	25,5±0,6
Засуха	43,2±1,2	43,4±1,4	3,09±0,07	3,66±0,14	22,5±0,7	24,0±0,6
НПН (2 мМ)	54,0±1,5	49,4±1,6	4,05±0,04	4,82±0,07	24,4±0,4	25,9±0,6
Засуха + + НПН (2 мМ)	49,8±1,6	49,7±1,7	3,55±0,09	4,07±0,09	24,6±0,5	25,8±0,5
Мономах						
Контроль	49,3±1,0	46,4±0,6	4,50±0,13	5,86±0,14	27,0±0,5	36,4±0,6
Засуха	46,5±0,8	43,1±0,8	4,46±0,14	6,55±0,11	25,1±0,5	32,1±0,4
НПН (2 мМ)	60,8±1,1	52,4±0,7	4,88±0,13	6,88±0,11	28,3±0,6	38,6±0,6
Засуха + + НПН (2 мМ)	50,9±0,8	48,4±0,9	4,63±0,07	6,68±0,13	28,0±0,6	36,1±0,4

П р и м е ч а н и е. I — после 6 сут воздействия засухи; II — через 2 дня после возобновления полива.

Следует отметить, что в контрольном варианте на 18-е сутки наблюдений активность ГПО повышалась у всех трех сортов, что может быть связано с возрастными изменениями — началом старения первого листа [6].

Обработка донором NO в условиях нормального увлажнения почти не сказывалась на активности ГПО. Исключение составило повышение активности фермента у сорта Мономах (см. таблицу). В условиях засухи активность ГПО под влиянием НПН существенно повышалась у сорта Гелиос. После возобновления полива активность фермента в этом варианте также была выше, чем в варианте с действием только засухи. В то же время влияние НПН на активность ГПО у двух других (более засухоустойчивых) сортов при засухе было незначительным (см. таблицу).

Базовая активность АПО, как и других исследуемых антиоксидантных ферментов, оказалась наиболее высокой у высокозасухоустойчивого сорта Мономах. На 18-е сутки наблюдений активность АПО, как и активность ГПО, в листьях всех трех сортов повышалась (см. таблицу). Вероятно, это обусловлено возрастными изменениями первых листьев.

Засуха не оказывала существенного влияния на активность фермента у всех трех сортов. В то же время активность, наблюдаемая после возобновления полива, у слабозасухоустойчивого сорта Гелиос была заметно ниже, чем у не подвергнутых засухе растений в эту фазу эксперимента (см. таблицу).

Обработка НПН в условиях нормального увлажнения вызывала повышение активности АПО в листьях растений сортов Гелиос и Козак и почти не влияла на активность этого фермента у сорта Мономах. В условиях засухи под влиянием предварительной обработки НПН в листьях всех трех сортов активность АПО была выше, чем у необработанных растений (см. таблицу). Подобный эффект проявлялся и после возобновления полива. Следует отметить, что наиболее существенное положительное влияние НПН на активность АПО при засухе наблюдалось у слабозасухоустойчивого сорта Гелиос.

Итак, в условиях засухи предобработка растений НПН в той или иной степени вызывала повышение активности всех трех изученных антиоксидантных ферментов, однако эти эффекты зависели от сортовых особенностей растений. Наиболее выразительным эффект повышения активности антиоксидантных ферментов был у сорта Гелиос, который отличался низкой базовой активностью КАТ и АПО. И, наоборот, у сортов Козак и особенно Мономах, отличавшихся более высокой базовой активностью антиоксидантных ферментов, активность КАТ и АПО под влиянием НПН повышалась незначительно.

В настоящей работе, с одной стороны, выявлена связь между засухоустойчивостью сортов и базовой активностью ферментативных антиоксидантов в листьях, с другой — показана возможность индукции активности антиоксидантных ферментов и засухоустойчивости растений действием донора NO. Заметим, что имеются данные о значительном вкладе АПО в защиту фотосинтетического аппарата листьев растений при действии стрессоров [14], в частности засухи [4]. Так, для мягкой пшеницы показана положительная связь между засухоустойчивостью и активностью АПО в листьях в различные фазы онтогенеза [4].

Заметную роль в защите других клеточных компартментов от окислительных повреждений, по-видимому, играют также КАТ и неспецифическая пероксидаза [14], активность которых, особенно в условиях действия засухи, была наиболее высокой у сорта Мономах (см. таблицу). В растениях содержатся различные молекулярные формы КАТ, кодируемые генным семейством [5]. Например, в матриксе пероксисом арабидопсиса обнаружены три молекулярные формы КАТ, которые по-разному экспрессируются на разных стадиях развития растений [25].

Пероксидазы класса III, или так называемые классические (неспецифические), в том числе ГПО, относятся к мультифункциональным ферментам [5, 22, 33]. Наряду с антиоксидантной функцией пероксидазная система участвует в обеспечении протекания многих других реакций, в которых пероксид водорода используется как окислитель [5].

Выяснение механизмов влияния НПН на активность антиоксидантных ферментов выходит за рамки настоящей работы. На сегодня известно, что NO обладает способностью модифицировать многие антиоксидантные ферменты как *in vivo*, так и *in vitro*. Среди них АПО, ГПО,

различные формы СОД, КАТ, глутатион-S-трансфераза, глутатионредуктаза [9, 10, 13, 20]. Помимо этого вполне очевидной является возможность изменения экспрессии генов антиоксидантных ферментов под влиянием NO как сигнальной молекулы. Таким образом, можно полагать, что результирующий физиологический эффект доноров NO на антиоксидантную систему будет определяться его концентрацией в определенных компартментах, прямым действием на ферментные белки и сигнальным влиянием на экспрессию их генов.

Не исключено, что выявленные нами различия в реакции растений разных сортов на действие донора оксида азота связаны с неодинаковым эндогенным содержанием NO. При этом можно предположить, что растения с более высоким конститутивным содержанием оксида азота слабее реагируют на действие экзогенного NO. Естественно, что это предположение требует специального экспериментального подтверждения.

Итак, обработка растений донором оксида азота индуцировала как интегральные показатели засухоустойчивости — рост при засухе, содержание хлорофиллов (см. рис. 1, 2), так и активность антиоксидантных ферментов в листьях растений ячменя (см. таблицу), что свидетельствует об их вкладе в защиту от окислительных повреждений, вызываемых засухой. Вполне естественно, что стресспротекторное действие оксида азота при засухе может быть связано не только с изменением активности антиоксидантных ферментов в листьях растений. Так, имеются сведения об участии NO в индуцировании синтеза стрессовых белков [34] и закрывании устьиц у растений [21]. Как уже отмечалось, в нашей предыдущей работе было выявлено индуцирование донором оксида азота накопления сахаров у растений ячменя при засухе [2]. Можно полагать, что оксид азота индуцирует достаточно широкий спектр защитных реакций растений, но при этом проявляет неодинаковое влияние на устойчивость растений различных генотипов.

Публикация содержит результаты исследований, проведенных при грантовой поддержке Государственного фонда фундаментальных исследований Украины по конкурсному проекту Ф63/62-2016.

1. Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А. Функциональное взаимодействие оксида азота и пероксида водорода при формировании индуцированной теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. — 2015. — № 1. — С. 72—78.
2. Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Григоренко Д.А., Фирсовая Е.Н. Реакция растений ячменя различных генотипов на почвенную засуху и действие донора оксида азота // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2016. — Вип 2 (38). — С. 94—105.
3. Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Влияние нитропруссида натрия на теплоустойчивость колеоптилей пшеницы: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Физиология растений. — 2011. — № 6. — С. 883—890.
4. Кірізій Д.А., Шадчина Т.М., Стасик О.О. та ін. Особливості фотосинтезу і продукційного процесу у високоінтенсивних генотипів озимої пшениці. — К.: Основа, 2011. — 416 с.
5. Колупаев Ю.Е. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений // Успехи соврем. биологии. — 2016. — № 2. — С. 181—199.
6. Павловская Н.Е., Гринблат А.И. Активные формы кислорода и апоптоз у пшеницы и гороха // С.-х. биология. — 2010. — № 1. — С. 51—55.
7. Филиппович Ю.В., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. — М.: Просвещение, 1982. — 312 с.

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ

8. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О.А. Павлиновой. — М.: Наука, 1971. — С. 154—170.
9. Begara-Morales J.C., Chaki M., Sanchez-Calvo B. et al. Protein tyrosine nitration in pea roots during development and senescence // *J. Exp. Bot.* — 2013. — **64**. — P. 1121—1142.
10. Chaki M., Valderrama R., Fernandez-Ocana A.M. et al. Protein targets of tyrosine nitration in sunflower (*Helianthus annuus* L.) hypocotyls // *J. Exp. Bot.* — 2009. — **60**. — P. 4221—4236.
11. Chen Z., Zhang L., Zhu C. Exogenous nitric oxide mediates alleviation of mercury toxicity by promoting auxin transport in roots or preventing oxidative stress in leaves of rice seedlings // *Acta Physiol. Plant.* — 2015. — **37**: 194.doi 10.1007/s11738-015-1931-7.
12. Fan X.W., Li F.M., Song L. et al. Defense strategy of old and modern spring wheat varieties during soil drying // *Physiol. Plant.* — 2009. — **136**. — P. 310—323.
13. Fares A., Rossignol M., Peltier J.B. Proteomics investigation of endogenous S-nitrosylation in *Arabidopsis* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2011. — **416**. — P. 331—338.
14. Foyer C.H., Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications // *Antioxid. Redox. Signal.* — 2009. — **11**. — P. 861—906.
15. Foyer C.H., Shigeoka S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis // *Plant Physiol.* — 2011. — **155**. — P. 93—100.
16. Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiol. Biochem.* — 2010. — **48**. — P. 909—930.
17. Gupta K.J., Igamberdiev A.U. Compartmentalization of reactive oxygen species and nitric oxide production in plant cells: An overview // *Reactive Oxygen and Nitrogen Species Signaling and Communication in Plants, Signaling and Communication in Plants* / Eds. K.J. Gupta, A.U. Igamberdiev. — Heidelberg; New York; Dordrecht; London: Springer, 2015. — P. 1—14.
18. Khan M.N., Mobin M., Abbas Z.K. Nitric oxide and high temperature stress: a physiological perspective // *Nitric oxide action in abiotic stress responses in plants* / Eds. M.N. Khan et al. — Heidelberg; New York; Dordrecht; London: Springer, 2015. — P. 77—94.
19. Lopez-Carrion A.I., Castellano R., Rosales M.A. et al. Role of nitric oxide under saline stress: implications on proline metabolism // *Biol. Plant.* — 2008. — **52**. — P. 587—591.
20. Lozano-Juste J., Leon J. Nitric oxide regulates DELLA content and PIF expression to promote photomorphogenesis in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* — 2011. — **156**. — P. 1410—1423.
21. Lu D., Zhang X., Jiang J. et al. NO may function in the downstream of H₂O₂ in ABA-induced stomatal closure in *Vicia faba* L. // *J. Plant Physiol. and Mol. Biol.* — 2005. — **31**. — P. 62—70.
22. Mehlhorn H., Lelandais M., Korth H.G., Foyer C.H. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases // *FEBS Lett.* — 1996. — **378**. — P. 203—206.
23. Naeem M.K., Ahmad M., Kamran M. Physiological responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to drought stress // *Int. J. Plant Soil Sci.* — 2015. — **6**, N 1. — P. 1—9.
24. Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts // *Plant Cell Physiol.* — 1981. — **22**. — P. 867—880.
25. Nyathi Y., Baker A. Plant peroxisomes as a source of signalling molecules // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2006. — **1763**. — P. 1478—1495.
26. Ridge I., Osborne D.J. Hydroxyproline and peroxidases in cell walls of *Pisum sativum*: regulation by ethylene // *J. Exp. Bot.* — 1970. — **21**. — P. 843—856.
27. Sgherri C.L., Pinzincev C., Navari-Izzo F. Sunflower seedlings subjected to increasing stress by water deficit: changes in O₂-production related to the composition of thylakoid membranes // *Physiol. Plant.* — 1996. — **96**. — P. 446—452.
28. Shi H., Ye T., Zhu J.K., Chan Z. Constitutive production of nitric oxide leads to enhanced drought stress resistance and extensive transcriptional reprogramming in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot.* — 2014. — **65**. — P. 4119—4131.
29. Sidana S., Bose J., Shabala L., Shabala S. Nitric oxide in drought stress signalling and tolerance in plants // *Nitric oxide action in abiotic stress responses in plants* / Eds. M.N. Khan et al. — Heidelberg; New York; Dordrecht; London: Springer, 2015. — P. 95—114.
30. Siddiqui M.H., Al-Whaibi M.H., Basalah M.O. Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress // *Protoplasma*. — 2011. — **248**. — P. 447—455.
31. Simaei M., Khavari-Nejad R.A., Saadatmand S. et al. Effects of salicylic acid and nitric oxide on antioxidant capacity and proline accumulation in *Glycine max* L. treated with NaCl salinity // *Afr. J. Agricult. Res.* — 2011. — **6**. — P. 3775—3782.
32. Tan J., Zhao H., Hong J. et al. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress // *World*

- J. Agricult. Sci. — 2008. — 4. — P. 307—313.
33. Tognelli M., Penel C., Greppin H., Simon P. Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana* // Gene. — 2003. — 288. — P. 129—138.
34. Uchida A., Jagendorf A.T., Hibino T. et al. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice // Plant Sci. — 2002. — 163. — P. 515—523.
35. Zhang A., Jiang M., Zhang J. et al. Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves // New Phytol. — 2007. — 175. — P. 36—50.
36. Zhang Y., Wang L., Liu Y. et al. Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na^+/H^+ antiport in the tonoplast // Planta. — 2006. — 224. — P. 545—555.

Получено 12.10.2016

АКТИВНІСТЬ АНТОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У ЛИСТКАХ РОСЛИН
ЯЧМЕНЮ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ ЗА ДІЇ ГРУНТОВОЇ ПОСУХИ ТА НІТРОПРУСИДУ
НАТРІЮ

Ю.В. Карпець, Ю.Є. Колупаєв, Т.О. Ястремб, Г.А. Лугова

Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

Вивчали вплив обробки донором оксиду азоту нітропрусидом натрію (НПН) на активність антиоксидантних ферментів, вміст хлорофілу в листках і ріст рослин трьох сортів ячменю (*Hordeum vulgare* L.): Геліос (слабопосухостійкий), Козак (помірно посухостійкий) і Мономах (високопосухостійкий). Дія посухи протягом 6 діб (зниження вологості ґрунту до 25—30 % ПВ) призводила до пригнічення накопичення біомаси рослин і зниження вмісту хлорофілу. Негативний вплив посухи на біомасу рослин помітніше виявлявся у сортів Геліос і Козак. Посухостійкий сорт Мономах відрізнявся вищою конститутивною активністю антиоксидантних ферментів — каталази (КАТ), гваяколпероксидази (ГПО) та аскорбатпероксидази (АПО). Під впливом посухи у сорту Геліос знижувалась активність усіх трьох досліджених антиоксидантних ферментів, у сорту Козак — активність ГПО знижувалась, двох інших — змінювалась незначно, у сорту Мономах — висока активність усіх ферментів зберігалась. У разі обробки рослин усіх трьох сортів НПН за нормального зволоження активність КАТ підвищувалась істотно, активність АПО — значно менше, активність ГПО — майже не змінювалась. Передобробка НПН знимала негативний вплив посухи на активність антиоксидантних ферментів найпомітніше у рослин слабопосухостійкого сорту Геліос. Під впливом донора оксиду азоту в умовах посухи посилювався ріст рослин і зберігався близький до контролю вміст хлорофілу. Обговорено роль ферментативної антиоксидантної системи у стійкості рослин до посухи та значення оксиду азоту в регуляції активності антиоксидантних ферментів.

ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN LEAVES OF BARLEY PLANTS OF
VARIOUS GENOTYPES UNDER INFLUENCE OF SOIL DROUGHT AND SODIUM
NITROPRUSSIDE

Yu.V. Karpets, Yu.E. Kolupaev, T.O. Yastreb, G.A. Lugova

V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
Township Dokuchaevske, Kharkiv, 62483, Ukraine

The influence of treatment with the donor of nitric oxide sodium nitroprusside (SNP) on the activity of antioxidant enzymes, chlorophyll content in leaves and growth of plants of three varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.) — Gelioc (low drought-resistant), Kozak (moderately drought-resistant) and Monomakh (high drought-resistant) — have been investigated. 6-day influence of drought (decrease of soil humidity to 25—30 % of WC) led to the oppression of accumulation of plants biomass and lowering of chlorophyll content. More considerably negative influence of

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ

drought on plants biomass was registered in varieties Gelios and Kozak. The drought-resistant variety Monomakh differed in the higher constitutive activity of antioxidant enzymes — catalases (CAT), guaiacol peroxidase (GPX) and ascorbate peroxidase (APX). Under the influence of drought in variety Gelios the activity of all three studied antioxidant enzymes decreased; in variety Kozak the reduction of GPX activity was registered, the activity of other enzymes changed insignificantly; at the same time in variety Monomakh under the drought conditions the high activity of indicated antioxidant enzymes remained. The treatment of plants with SNP under normal humifying caused the essential increase of CAT activity and small increase of APX activity in all three varieties, but weakly influenced on GPX activity. Pretreatment with the NO donor removed the negative influence of drought on the activity of antioxidant enzymes; most considerably this effect was shown in plants of low drought-resistant variety Gelios. Under the influence of donor of nitric oxide in the drought conditions the growth of plants increased and the chlorophyll content remained close to control. The role of enzymatic antioxidative system in plants drought resistance and the value of nitric oxide in regulation of activity of antioxidant enzymes are discussed.

Key words: *Hordeum vulgare* L., drought, nitric oxide, antioxidant enzymes, resistance.