

УДК 581.1+577.34.05

## ВЛИЯНИЕ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ

М.С. РАДЮК, И.Н. ДОМАНСКАЯ, Р.А. ШЕРБАКОВ, Н.В. ШАЛЫГО

*Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси  
220072 Минск, ул. Академическая, 27  
e-mail: shalygo@ibp.org.by*

Исследовали влияние отрицательной температуры ( $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 ч) на активность антиоксидантных ферментов: аскорбатпероксидазы (АПР), глутатионредуктазы (ГР), супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КТ) в проростках ярового ячменя. Показано, что в условиях холодого стресса активность всех изученных ферментов возрастала. После устранения действия стрессового фактора (постстрессовый период) активность АПР, ГР, СОД и КТ продолжала повышаться, достигала максимума, после чего снижалась практически до исходных значений. При этом активность АПР возрастала в большей степени, чем других ферментов. Полученные данные показали, что при действии отрицательной температуры окислительные процессы начинаются прежде всего в цитозоле и наиболее интенсивно протекают в этом клеточном компартменте.

*Ключевые слова:* *Hordeum vulgare* L., холодого стресс, антиоксидантные ферменты, активность.

Под действием отрицательной температуры (холодого стресс) помимо механизмов, предотвращающих образование кристаллов льда в клетках и нейтрализующих последствия неизбежного при этом обезвоживания цитоплазмы, в растениях активизируется антиоксидантная система, контролирующая гомеостаз активных форм кислорода (АФК). Это связано с тем, что под действием низкотемпературного стресса происходят изменения в структуре и составе клеточных мембран, а также изменения метаболизма клеток, приводящие к образованию повышенного количества АФК [2].

Эффективность функционирования антиоксидантной системы определяется уровнем генерации АФК и общим потенциалом антиоксидантной системы, который характеризуется содержанием низкомолекулярных компонентов (токоферол, аскорбат, глутатион) и активностью антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза (СОД), аскорбатпероксидаза (АПР), глутатионредуктаза (ГР), каталаза (КТ) [1, 10, 12, 13].

СОД — высокоактивный фермент-антиоксидант с молекулярной массой  $\sim 31$  кД — существует в клетках растений в виде нескольких изоформ, содержащих в своем составе Cu, Zn, Mn и Fe [1, 25]. Основными изоформами СОД являются ферменты, в состав которых одновременно входят Cu и Zn: цитозольная изоформа Cu/Zn-СОД (цит Cu/Zn-СОД); хлоропластная изоформа Cu/Zn-СОД (хл Cu/Zn-СОД). Mn-СОД и Fe-

СОД содержатся в значительно меньших количествах, локализованы соответственно в митохондриях и хлоропластах [1, 6]. Все изоформы СОД катализируют реакции дисмутации супероксидного анион-радикала с образованием  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2$ .

В детоксикации  $\text{H}_2\text{O}_2$  в клетках растений принимают участие АПР и КТ. Изоформы АПР обнаружены как в хлоропластах, так и в цитозоле [22]. Разрушение  $\text{H}_2\text{O}_2$  с участием аскорбата и регенерация аскорбата в активную форму с помощью восстановленного глутатиона (GSH) происходят в рамках аскорбат-глутатионового цикла [12]. Важная роль в функционировании этого цикла принадлежит ГР — ферменту, восстанавливающему окисленную форму глутатиона (GSSG) в GSH. Лучшее всего функционирование аскорбат-глутатионового цикла изучено в хлоропластах, однако все ферменты этого цикла обнаруживаются также в цитозоле и других органеллах клетки [12]. Каталаза восстанавливает  $\text{H}_2\text{O}_2$  до воды, локализована в митохондриях и цитозоле [3, 21].

Реакция компонентов антиоксидантной системы, особенно антиоксидантных ферментов на низкотемпературный стресс, неоднозначна и зависит от вида растений, сортовых различий, возраста и продолжительности действия стрессового фактора [2, 3, 16, 18, 24]. Показано, что под влиянием низкотемпературного стресса в растениях повышаются содержание глутатиона и активность ГР. При этом наибольшие различия наблюдали у устойчивых к понижению температуры сортов кукурузы [19], томатов [26] и пшеницы [15]. Если у теплолюбивых растений (рис, кукуруза) в условиях низкотемпературного стресса активность КТ, АПР и ГР снижалась [16, 18], то у устойчивых к этому стрессу растений она, как правило, повышалась [8, 11, 24]. Так, у устойчивого к морозу сорта ячменя *Chumai 1* активность АПР, фенольной пероксидазы (ФПР) и ГР была выше, чем у неустойчивого сорта *Mo 103* [11]. Более высокая активность КТ и ФПР отмечена также у устойчивого к низкой температуре сорта пшеницы *Brasilia* по сравнению с неустойчивым сортом *Fridano* [24]. В то же время в работе [8] показано, что реакция антиоксидантных ферментов КТ, ФПР и АПР на низкотемпературный стресс у яровой пшеницы более выражена, чем у озимой. Активность СОД и КТ через 24 ч воздействия низкой положительной температуры снижалась у неустойчивых теплолюбивых растений (огурцы, кукуруза) и повышалась у более устойчивых (просо, картофель) [4].

Отметим, что работы по исследованию изменения антиоксидантного потенциала в растениях ячменя под влиянием низкотемпературного стресса на ранней стадии их развития практически отсутствуют.

Целью настоящей работы было исследование влияния отрицательной температуры ( $-5\text{ }^\circ\text{C}$ ) на функционирование антиоксидантных ферментов в зеленых, находящихся в ранней фазе своего развития проростках ячменя, включающее анализ активности АПР, ГР, СОД, КТ при действии стрессора и в постстрессовый период.

### Методика

В работе использовали проростки ярового ячменя сорта Гонар (белорусской селекции), выращенные при температуре  $24\text{ }^\circ\text{C}$  и освещенности  $100\text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$  с фотопериодом 14 ч. Растения выращивали на водопроводной воде в специальных сетчатых кюветах, в которых зерновки находились над поверхностью воды. В 6-суточном возрасте их помеща-

ли на 5 ч в холодильную камеру с температурой  $-5^{\circ}\text{C}$ , затем возвращали в исходные условия выращивания. Общая продолжительность эксперимента (стресс + постстресс) составляла 3 сут. Пробы для анализа (срезы выше колеоптиля) отбирали перед началом действия стрессового фактора, через 2 и 5 ч стрессового периода, а также через 19, 43 и 67 ч после стресса.

Активность изоформ АПР и СОД определяли с помощью нативного гель-электрофореза [9, 23].

Для измерения активности изоформ АПР 1 г листьев растирали в 2 мл 0,05 М К,Na-фосфатного буфера (рН 7,8), содержащего 1 мМ ЭДТА и 10 мМ аскорбата натрия. Гомогенат фильтровали сквозь 3 слоя капроновой ткани и центрифугировали в течение 10 мин при 14 000 g. Электрофорез проводили с использованием 10 %-го разделяющего и 5 %-го концентрирующего гелей размером  $60,0 \times 90,0 \times 1,5$  мм при температуре  $4^{\circ}\text{C}$  и напряжении 50 В в течение 16 ч. Гель насыщался 2 мМ аскорбатом натрия с помощью предварительного электрофореза в течение 30 мин. На старт наносили по 20 мкл смеси надосадочной жидкости, выравненной по белку, с 20 %-м глицерином (5 : 1, V/V). Визуализацию изоформ АПР проводили по методике [23]. Для этого гель помещали на 20 мин в 0,05 М К,Na-фосфатный буфер (рН 7,0), содержащий 4 мМ аскорбата натрия и 2 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Затем его промывали в течение 1 мин 0,05 М К,Na-фосфатным буфером (рН 7,0) и помещали в раствор, содержащий 2,5 мМ нитроголубого тетразолия (NBT) и 28 мМ ТЕМЕДа, на 10–20 мин для окрашивания. Окрашенный гель сканировали. Активность изоформ АПР вычисляли в относительных единицах с помощью программы TotalLab v. 2.01.

Для определения активности изоформ СОД 0,5 г листьев растирали в 3 мл 0,05 М К,Na-фосфатного буфера (рН 7,8), содержащего 7 мМ меркаптоэтанол и 5 мМ аскорбиновой кислоты. Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 13 000 g. Форез проводили, используя 13 %-й разделяющий и 5 %-й концентрирующий гели размером  $60,0 \times 90,0 \times 1,5$  мм. На старт наносили по 20 мкл смеси надосадочной жидкости, выравненной по белку, с 20 %-м глицерином (5 : 1, V/V). Электрофорез проводили при температуре  $4^{\circ}\text{C}$  и напряжении 60 В в течение 17 ч. Визуализацию изоформ СОД выполняли по методике [9]. Для этого гель помещали в 0,05 М К,Na-фосфатный буфер, содержащий 0,05 мМ рибофлавина и 0,1 мМ ЭДТА, и ставили в прибор для встряхивания. Через 2 мин к раствору добавляли NBT из расчета 1 мг/мл раствора и встряхивали в течение 40 мин в темноте. Затем гель промывали дистиллированной водой и выставляли на свет для окрашивания. Окрашенный гель сканировали. Активность изоформ СОД рассчитывали в относительных единицах с помощью программы TotalLab v. 2.01.

Активность ГР определяли в грубом ферментном препарате, для получения которого 0,5 г листьев растирали в 4 мл 0,05 М К,Na-фосфатного буфера (рН 7,8), содержащего 1 мМ ЭДТА и 10 мМ аскорбата натрия. Гомогенат фильтровали сквозь 3 слоя капроновой ткани, центрифугировали в течение 5 мин при 6000 g, после чего надосадочную жидкость центрифугировали повторно при 10 000 g в течение 10 мин. Далее к 200 мкл надосадочной жидкости приливали 2,1 мл 0,1 М *tris*-HCl буфера (рН 7,8) и 100 мкл 5 мМ GSSG. Реакцию запускали добавлением 75 мкл 5 мМ НАДФН<sup>+</sup>. Кинетику потребления субстрата —

НАДФН<sup>+</sup> — регистрировали в течение 8 мин при 340 нм, активность фермента рассчитывали при коэффициенте экстинкции  $6,22 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  [7].

Активность КТ определяли в гомогенате, полученном при растирании 0,5 г листьев в 3 мл 0,06 М К,Na-фосфатного буфера (рН 7,1), содержащего 10 мМ дитиотрейтола и 1 мМ фенилметилсульфонилфторида (ингибитор пероксидаз). Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 13 000 g. К 10 мкл надосадочной жидкости добавляли 890 мкл 0,1 М К,Na-фосфатного буфера (рН 7,1). Реакцию запускали добавлением 100 мкл 0,1 М H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Об активности КТ судили по скорости потребления H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> при 240 нм. Активность фермента рассчитывали, используя коэффициент экстинкции H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  $36 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  [20].

Опыты проводили трижды в трехкратной биологической повторности.

### Результаты и обсуждение

На первом этапе работы экспериментальным путем подбирали параметры холодного стресса. Так, перенос 6-суточных проростков ячменя с нормальных условий выращивания в морозильную камеру с температурой  $-7 \text{ }^\circ\text{C}$  приводил к гибели большинства ( $92 \pm 2 \%$ ) растений уже через 2 ч. Использование в качестве стрессора отрицательной температуры  $-2 \text{ }^\circ\text{C}$  не вызывало гибели проростков даже через 5 ч. При температуре  $-5 \text{ }^\circ\text{C}$  через 5 ч погибало 9 % проростков ячменя, через 8 ч — 40 %, через 14 ч гибель растений составила 91 % (рис. 1). Исходя из полученных данных, нами были выбраны следующие параметры: 5 ч воздействия температуры  $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Также принималось во внимание, что температура во время весенних утренних заморозков на территории Беларуси редко опускается ниже  $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ , а их продолжительность, как правило, не превышает 5 ч.

Следует отметить, что сразу после выноса опытных растений из морозильной камеры все растения внешне казались интактными. Однако после 1 мин выдерживания при комнатной температуре часть растений

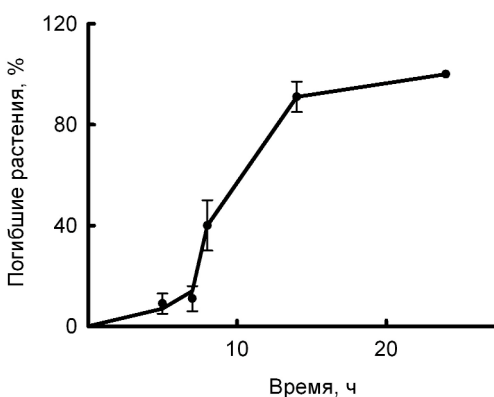


Рис. 1. Динамика гибели зеленых проростков ячменя при температуре  $-5 \text{ }^\circ\text{C}$

полностью поникала и в дальнейшем не восстанавливала тургор, что указывало на их гибель. Оставшиеся растения внешне не отличались от растений контрольного варианта. Именно выжившие после холодного стресса проростки мы использовали для отбора проб.

Установлено, что общая активность АПР под действием отрицательной температуры увеличивалась практически в 1,5 раза по сравнению с исходным уровнем, зарегистрированным до начала действия стрессового фактора (рис. 2, а). В постстрессовый период активность АПР возрастала еще больше, через 1 сут достигала

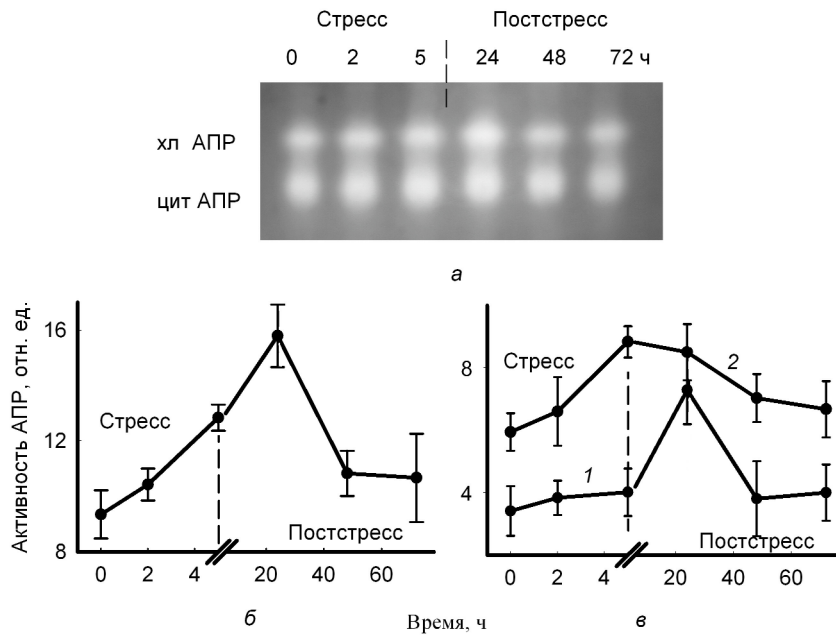


Рис. 2. Внешний вид геля после нативного электрофореза экстрактов проростков ячменя, подвергнутых действию отрицательной ( $-5^{\circ}\text{C}$ ) температуры (а), изменение общей активности АПР (б) и ее изоформ (в) (1 — хл АПР, 2 — цит АПР) под влиянием отрицательной температуры и в постстрессовый период. Здесь и на рис. 3, 4 вертикальной штриховой линией обозначен момент окончания действия стрессового фактора и начала постстрессового периода

максимума, после чего снижалась, но все же оставалась выше исходного уровня. Анализ активности отдельных изоформ АПР показал, что с помощью нативного гель-электрофореза определяются две изоформы фермента — хлоропластная (хл АПР) и цитозольная (цит АПР), что соответствует литературным данным [14]. При этом изначально активность цит АПР превышала активность хл АПР в 1,7 раза (см. рис. 2, б). Мы экспериментально доказали, что при холодовом стрессе и в постстрессовый период активность изоформ АПР в проростках ячменя изменяется по-разному. Так, активность хл АПР в период стресса практически не изменялась, однако после снятия действия стрессового фактора резко увеличивалась, достигая более чем двухкратного превышения над исходным уровнем. В постстрессовый период активность хл АПР снижалась до первоначального значения (см. рис. 2, б, кривая 1). Напротив, активность цит АПР в период стресса повышалась на 48 % по сравнению с исходным уровнем, а после его окончания снижалась, но оставалась на более высоком уровне, чем исходный (см. рис. 2, б, кривая 2).

Изменение общей активности СОД при стрессе и в постстрессовый период по направленности и времени достижения максимума соответствовало изменению активности АПР (рис. 3, а). Однако для СОД отмечена более низкая степень активации (на 10–15 % по сравнению с исходным значением), а также снижение активности фермента до исходного уровня после снятия стрессового воздействия. С помощью нативного гель-электрофореза хорошо визуализировались две изоформы: цит  $\text{Cu/Zn-SOD}$  и хл  $\text{Cu/Zn-SOD}$ . Активность цитозольной изоформы исходно была выше, чем хлоропластной. В условиях стресса и в постстрес-

ВЛИЯНИЕ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА

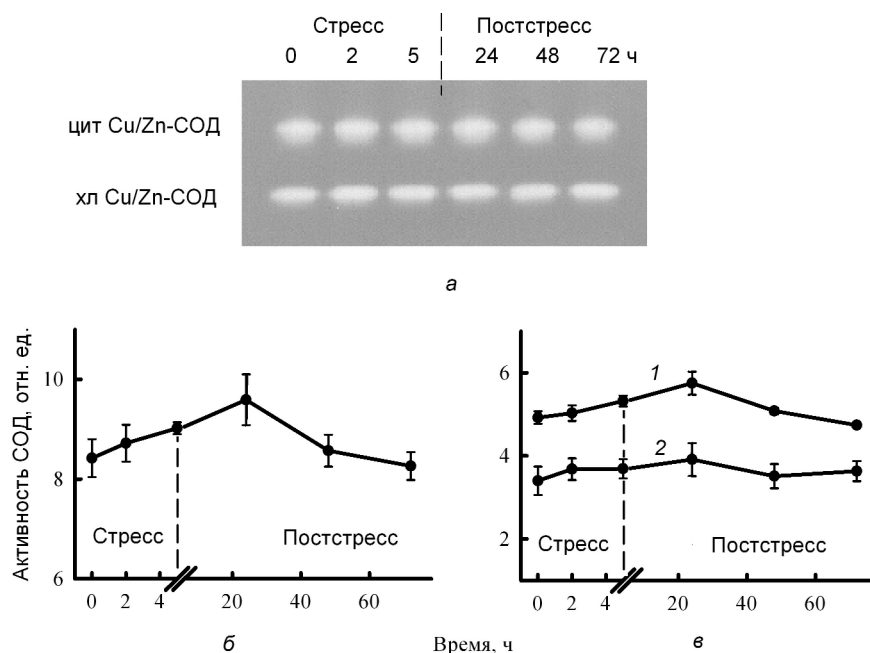


Рис. 3. Внешний вид геля после нативного электрофореза экстрактов проростков ячменя, подвергнутых действию отрицательной ( $-5^{\circ}\text{C}$ ) температуры (а), изменение общей активности Cu/Zn-СОД (б) и ее изоформ (в) (1 — цит Cu/Zn-СОД, 2 — хл Cu/Zn-СОД) под влиянием отрицательной температуры и в постстрессовый период

совый период направленность изменения активности обеих изоформ была практически одинаковой, отличие состояло лишь в том, что реакция цит Cu/Zn-СОД была более выраженной, чем хл Cu/Zn-СОД (см. рис. 3, б, кривые 1, 2).

На рис. 4, а представлена динамика общей активности ГР в зеленых листьях ячменя, подвергнутых действию отрицательной температуры ( $-5^{\circ}\text{C}$ ) в течение 5 ч и в постстрессовый период. Как видим, активность ГР при действии стрессора возрастает, достигает своего максимального значения в первые сутки постстрессового периода, к концу которого снижается до уровня, близкого к исходному. Характерно, что в отличие от стресса, вызванного низкой положительной темпе-

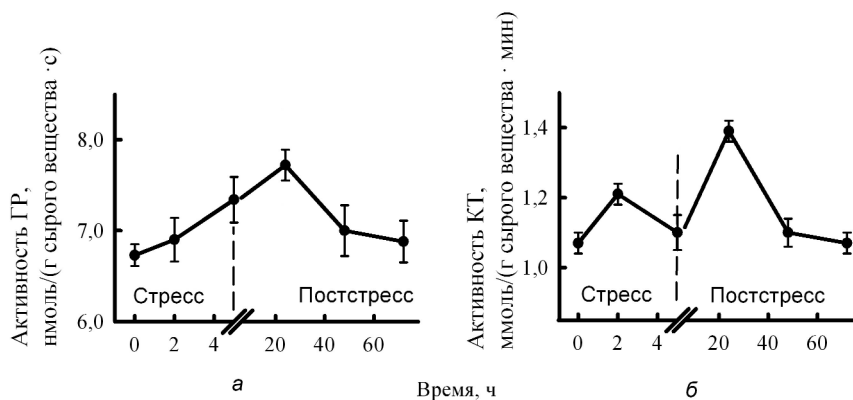


Рис. 4. Изменение активности ГР (а) и КТ (б) в проростках ячменя под влиянием отрицательной ( $-5^{\circ}\text{C}$ ) температуры и в постстрессовый период

ратурой [5], активность антиоксидантных ферментов (АПР, СОД, ГР) в первые сутки постстрессового периода продолжает возрастать или сохраняется на близком к максимальному значению уровне, более высоком, чем после воздействия низкой положительной температуры.

Общая активность КТ в условиях эксперимента изменялась волнообразно. Первый максимум активности приходился на начало периода действия отрицательной температуры, второй (более высокий по сравнению с первым) — регистрировался в постстрессовый период (см. рис. 4, б). Снижение активности КТ в конце стрессового периода вероятно связано с неустойчивостью этого фермента к действию низкой температуры [16, 17].

Следовательно, стресс, вызванный действием отрицательной температуры ( $-5^{\circ}\text{C}$ ), приводил к повышению активности антиоксидантных ферментов АПР, СОД, КТ и ГР, что в общих чертах согласуется с литературными данными [4, 8, 11, 15, 24]. Наиболее заметно возрастала активность АПР, ГР и КТ, что указывает на активное функционирование системы детоксикации пероксида водорода в условиях действия холодового стресса. Примечательно, что активность цит АПР во время стресса достигает своего максимального значения раньше, чем активность хл АПР. Полученные данные свидетельствуют о том, что окислительные процессы при низкотемпературном стрессе начинаются прежде всего в цитозоле и проходят там в период стресса более активно. На это указывает и возрастание в таких условиях общей активности КТ, более выраженная реакция цит Cu/Zn-СОД на действие стрессора по сравнению с хл Cu/Zn-СОД.

Таким образом в постстрессовый период, после переноса растений в нормальные условия выращивания, система детоксикации  $\text{H}_2\text{O}_2$  еще более активировалась, причем как в цитозоле (общая активность КТ), так и в хлоропластах (активность хл АПР). Максимум активности компонентов этой системы достигался через 1 сут после снятия действия стрессового фактора, затем активность ферментов снижалась практически до исходного уровня, указывая тем самым на адаптацию проростков ячменя к смене отрицательной температуры положительной.

1. Бараненко В.В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. — 2006. — 48, № 6. — С. 265—274.
2. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Активные формы кислорода при адаптации растений к стрессовым температурам // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — 41, № 2. — С. 95—108.
3. Корнеев Д.Ю. Трансгенные растения с повышенной активностью антиоксидантных ферментов как попытка создания сортов, устойчивых к физиологическим стрессам // Там же. — 2006. — 38, № 6. — С. 463—473.
4. Лукаткин А.С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений. 2. Активность антиоксидантных ферментов в динамике охлаждения // Физиология растений. — 2002. — 49, № 6. — С. 878—885.
5. Радюк М.С., Доманская И.Н., Щербаков Р.А., Шалыго Н.В. Влияние близкой к нулю положительной температуры на содержание низкомолекулярных антиоксидантов и активность антиоксидантных ферментов в зеленых листьях ячменя (*Hordeum vulgare* L.) // Там же. — 2009. — 56, № 2. — С. 193—199.
6. Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. Role of superoxide dismutases in controlling oxidative stress in plants // J. Exp. Bot. — 2002. — 53, N 372. — P. 1331—1341.
7. Aono M., Kubo A., Saji H. et al. Resistance to active oxygen toxicity of transgenic *Nicotiana tabacum* that expresses the gene for glutathione reductase from *E. coli* // Plant Cell Physiol. — 1991. — 32. — P. 691—697.

8. *Apostolova P., Yordanova R., Popova L.* Response of antioxidative defense system to low temperature stress in two wheat cultivars // *Gen. Appl. Plant Physiol.* — 2008. — **34**, N 3—4. — P. 281—294.
9. *Beauchamp C., Fridovich I.* Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // *Anal. Biochem.* — 1971. — **44**. — P. 276—287.
10. *Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V.* Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review // *Ann Bot.* — 2003. — **91**. — P. 179—194.
11. *Dai F., Huang Y., Zhou M., Zhang G.* The influence of cold acclimation on antioxidative enzymes and antioxidants in sensitive and tolerant barley cultivars // *Biol. Plant.* — 2009. — **53**, N 2. — P. 257—262.
12. *Foyer C.H., Noctor G.* Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub // *Plant Physiol.* — 2011. — **157**, N 1. — P. 2—18.
13. *Gill S.S., Tuteja N.* Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiol. Biochem.* — 2010. — **48**, N 12. — P. 909—930.
14. *Harinasut P., Srisunaka S., Pitukchaisopol S., Charoensataporn R.* Mechanisms of adaptation to increasing salinity of mulberry: proline content and ascorbate peroxidase activity in leaves of multiple shoots // *Sci. Asia.* — 2000. — **26**. — P. 207—211.
15. *Kocsy G., Galiba G., Brunold Ch.* Role of glutathione in adaptation and signalling during chilling and cold acclimation in plants // *Physiol. Plant.* — 2001. — **113**. — P. 158—164.
16. *Kuk Y.I., Shin J.C., Burgos N.R. et al.* Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants // *Crop. Sci.* — 2003. — **43**. — P. 2109—2117.
17. *Lee D.H., Lee C.B.* Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assaya // *Plant Sci.* — 2000. — **159**. — P. 75—85.
18. *Leipner J.* Chilling induced photooxidative stress and adaptation of defense system in maize (*Zea mays* L.) leaves. — 1998. — Diss. ETHZ, N 12680, Zurich.
19. *Leipner J., Fracheboud Y., Stamp P.* Effect of growing season on the photosynthetic apparatus and leaf antioxidative defences in two maize genotypes of different chilling tolerance // *Environ. Exp. Bot.* — 1999. — **42**. — P. 129—139.
20. *Luck H.* Catalase // *Methods of enzymatic analysis.* — Weinheim: Verlag Chemie, 1963. — P. 885—894.
21. *Mhamdi A., Queval G., Chaouch S. et al.* Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models // *J. Exp. Bot.* — 2010. — **61**, N 15. — P. 4197—4220.
22. *Mittler R.* Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends Plant Sci.* — 2002. — **6**, N 9. — P. 405—410.
23. *Mittler R., Zilinskas B.A.* Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate dependent reduction of nitroblue tetrazolium // *Anal. Biochem.* — 1993. — **212**. — P. 540—546.
24. *Scebba F., Sebastiani L., Vitagliano C.* Changes in activity of antioxidative enzymes (*Triticum aestivum*) seedling under cold acclimation // *Physiol. Plant.* — 1998. — **104**. — P. 742—752.
25. *Sheoran S., Pandey B., Singh R. et al.* Modeling and phylogeny analysis of bread wheat MnSOD // *Bioinformation.* — 2011. — **6**, N 6. — P. 209—211.
26. *Walker M.A., McKersie B.D.* Role of ascorbate-glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato // *J. Plant Physiol.* — 1993. — **141**. — P. 234—239.

Получено 28.03.2013

#### ВПЛИВ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЮ

*М.С. Радюк, І.Н. Доманська, Р.А. Щербаков, Н.В. Шалиго*

Інститут біофізики і клітинної інженерії Національної академії наук Білорусі, Мінськ

Досліджували вплив негативної температури ( $-5^{\circ}\text{C}$ , 5 год) на активність антиоксидантних ферментів: аскорбатпероксидази (АПР), глутатіонредуктази (ГР), супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ) у проростках ярого ячменю. Показано, що за умов холодного стресу активність усіх вивчених ферментів зростала. Після усунення дії стресового чинника (постстресовий період) активність АПР, ГР, СОД і КТ продовжувала підвищуватись, досягала максимуму, після чого знижувалась практично до вихідних значень. При цьому активність АПР зростала більшою мірою, ніж інших ферментів. Отримані дані показали, що за дії негативної температури окиснювальні процеси розпочинаються насаперед у цитозолі й найінтенсивніше відбуваються в цьому клітинному компартменті.



THE INFLUENCE OF FREEZING STRESS ON ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN BARLEY SEEDLINGS

*M.S. Radyuk, I.N. Domanskaya, R.A. Shcherbakov, N.V. Shalygo*

Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus  
27 Akademicheskaya St., Minsk, 220072, Belarus

The influence of low subzero temperature ( $-5^{\circ}\text{C}$ , 5 h) on activity of antioxidant enzymes, namely ascorbate peroxidase (APR), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in green barley leaves was investigated. It was shown that freezing stress causes the increase of activity of all antioxidant enzymes. After completing the chilling action the activity of APR, GR, SOD and CAT continues to increase with amounting to maximum and then decreases to initial level. At the same time activation of APR was higher in comparison with that of other enzymes. The data obtained suggests that oxidative processes enhancement under low temperature stress starts first of all in cytosol and occur there more actively.

*Key words:* *Hordeum vulgare* L., freezing stress, antioxidant enzymes, activity.