

УДК 630.44 : 581.1: 577.15

Ю. В. КАРПЕЦЬ^{1,2}, Т. М. ЧЕРКІС^{1*}

**ДИНАМІКА АКТИВНОСТІ ФЕНОЛПЕРОКСИДАЗИ
У ЗДОРОВИХ ТА УРАЖЕНИХ ФУЗАРІОЗОМ СІЯНЦЯХ СОСНИ**

1. Український науково-дослідний інститут лісового господарства та агролісомеліорації ім. Г. М. Висоцького

2. Харківський національний аграрний університет ім. В. В. Докучаєва

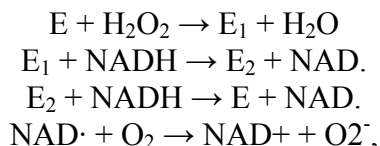
Досліджували динаміку активності розчинної та зв'язаної форм гваяколпероксидази у процесі росту й розвитку сіянців сосни звичайної протягом періоду найвищої чутливості до фузаріозу. В пагонах і коренях уражених проростків виявлено значне підвищення активності обох форм ферменту, причому збільшення активності зв'язаної пероксидази було значнішим. Обробка системним протруйником Роялфло значною мірою знижувала ступінь ураження рослин збудниками інфекційного вилягання сіянців і підвищувала активність зв'язаної пероксидази. Обговорюється значення підвищення активності фенолпероксидаз при ураженні патогеном.
Ключові слова: *Pinus sylvestris* L., сіянці, фузаріоз (=інфекційне вилягання), розчинна та зв'язана форми фенолпероксидази, стійкість.

На ранньому етапі вирощування листяних і хвойних порід у відкритому та закритому ґрунті найбільш небезпечним і шкодочинним є комплекс фітопатогенів із родів *Fusarium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Pythium*, *Rhizoctonia* та *Phytophthora* [15]. Зазначені гриби зберігаються у ґрунті, на рослинних рештках і на поверхні насіння. Основними збудниками інфекційного вилягання хвойних порід, зокрема сосни звичайної є гриби роду *Fusarium*, тому хвороба й отримала другу назву – фузаріоз сіянців.

Незважаючи на понад 100-річну історію вивчення ця хвороба в більшості лісових розсадників є причиною загибелі близько 15 – 20 % сіянців щорічно, а у сприятливі для розвитку патогенів роки поширеність фузаріозу може досягати 80 – 100 % [20]. Наприклад, у Харківській області, за даними Харківського ОУЛМГ, площа уражених інфекційним виляганням посівів у 1997 – 2007 рр. сягала 27,5 га, що становить 54,5 % від загального обсягу посівів сосни. Ці цифри не відбивають повною мірою масштаби загрози, оскільки не враховано витрати на повторне висівання і обробку пестицидами.

Важливим механізмом захисту рослин від біотичного впливу є підвищення вмісту активних форм кисню (АФК), які безпосередньо беруть участь в інактивації патогенних організмів [5]. Як відомо [1, 16], провідна роль у забезпеченні стійкості рослин до дії стресорів, зокрема у регуляції про-/антиоксидантного гомеостазу за таких умов належить пероксидазам. Традиційно пероксидази (КФ 1.11.1.7) розглядають як антиоксидантні ферменти, що руйнують пероксид водню і окислюють при цьому інші субстрати (аскорбінова кислота, глутатіон, НАДН, феноли, ІОК, цитохром, жирні кислоти і ін.) [1, 8]. Однак крім таких функцій, пероксидази можуть виявляти й оксидазну активність із переданням електронів від різного роду відновників (наприклад, НАДН) на молекулярний кисень, генеруючи таким чином АФК (супероксид і пероксид водню) [9, 14, 27, 28, 32, 33]. Останнє особливо характерне для фенолпероксидаз плазмалеми та іонно- й ковалентно- зв'язаних із клітинними стінками [1, 14, 18].

Генерація супероксид-аніона пероксидазою за надлишку відновників відбувається згідно зі схемою Чанса (цит. за: [12]):



де E_n – різні стани окислення пероксидази.

Вважається, що найбільша кількість супероксиду i , як наслідок, H_2O_2 , за окиснювального сплеску генерується за участі пероксидази клітинних стінок [23].

* © Ю. В. Карпець, Т. М. Черкіс, 2008

Останнім часом з'явилися відомості, що ці форми ферменту можуть виконувати широкий спектр фізіологічних функцій, пов'язаних з їх АФК-генеруючою здатністю [21, 25]. Так, відомо, що саме пероксидаза клітинних стінок відповідальна за продукцію пероксиду водню в ході окислювального вибуху у відповідь на дію еліситорів грибних патогенів квасолі й тютюну [23, 24]. Подібні дані щодо ролі пероксидаз отримано також при дослідженні патогенезу кільцевої гнилі картоплі [3].

У той же час, можлива участь пероксидаз у формуванні стійкості деревних рослин до біотичних стресів залишається нез'ясованою. Зокрема невідомо, чи відбувається активація цього ферменту при ураженні патогенами і чи можуть впливати протруйники насіння на пероксидазну активність у тканинах проростків на ранніх етапах розвитку рослин.

Метою цієї роботи було дослідження динаміки активності розчинної та зв'язаної форм пероксидаз у коренях і пагонах здорових та уражених фузаріозом сіянь сосни з різним ступенем розвитку хвороби, можливого впливу попередньої обробки насіння фунгіцидом, а також виявлення зв'язку між активністю пероксидаз і стійкістю проростків до патогена.

Методика. Насіння сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.) першого класу схожості висівали у пластикові кювети. У варіантах із використанням системного протруйника перед висіванням насіння обробляли препаратом Роялфло (2,5 мл/кг насіння). В кювети висівали по 200 насінин. Після проростання на 15 день з моменту висіву насіння для подальших досліджень у кожній кюветі залишали по 150 проростків. Вирощування сіянь проводили при температурі 18 ± 1 °С, помірному щоденному поливі й відносній вологості повітря 50 ± 10 %. У першій серії досліду вивчали вплив протруйника на ураженість сіянь фузаріозом, у другій – динаміку активності гваяколпероксидази в контрольних і дослідних (обробка фунгіцидом) варіантах, а також у сіянцях на різних фазах ураження патогеном.

Активність пероксидази визначали на 15, 20, 25, 35 і 45-й дні після висівання насіння до зникнення зовнішніх ознак ураження проростків фузаріозом. Сіянь за допомогою ланцета повністю вилучали із ґрунту, ретельно очищали від залишків субстрату, промивали кілька разів дистильованою водою, а потім розділяли на пагонові й кореневі частини.

Активність ферменту визначали за методикою Ріджа й Осборна [31] з деякими модифікаціями [10]. Після гомогенізації наважки рослинного матеріалу фермент екстрагували протягом 15 хвилин. Як екстрагент використовували 25 мл 0,06 М фосфатного буфера Серенсена (рН 6,2) без додання або з доданням 0,5 М NaCl. Відповідно для визначення сумарної активності пероксидази використовували буфер із доданням 0,5 М NaCl, для визначення активності лише розчинної (вільної) форми ферменту – без додання солі. Активність ферменту визначали в супернатанті після центрифугування гомогенату при 1000 g протягом 15 хв. Активність іоннозв'язаної пероксидази визначали в осаді фракції клітинних стінок, вилучаючи її за допомогою буфера Серенсена з доданням 0,5 М NaCl. Знесолення екстракту перед визначенням активності ферменту не проводили, оскільки, як показали попередні дослідження, наявність NaCl не впливала на результат аналізу. Як субстрат використовували H₂O₂ та як донор водню – гваякол. У реакційній кюветі змішували 0,75 мл 0,7 %-ного гваяколу, 2,25 мл 0,06 М фосфатного буфера Серенсена (рН 6,2), 0,75 мл ферментного екстракту і, з початком відліку часу, 0,75 мл 0,15 %-ного H₂O₂. Екстинцію визначали при $\lambda = 440$ нм кожні 20 секунд протягом 2 хвилин. Активність пероксидази виражали в одиницях зміни оптичної густини за 1 хвилину на 1 г сухої маси тканин.

При порівнянні активності ферменту у здорових і хворих сіянцях сходи поділяли на чотири групи: 1 – здорові сіянь; 2 – сіянь I-ої фази ураження (сходи тримаються у вертикальному положенні, на верхівках сіянь з'являється незначне прив'ядання, хвоя не відрізняється за кольором від здорових, при вириванні з ґрунту корінь витягується не повністю, чітко зберігається лише осьовий циліндр кореня); 3 – сіянь II-ої фази ураження (сходи почали нахиливатися, пагони ще не втратили нормального тургору, хвоя не відрізняється за кольором від здорової, у районі кореневої шийки з'являється водяниста перетинка, на коренях після виривання помітне підгнивання); 4 – сіянь III-ої фази ураження

(проростки вилягли, пагони почали втрачати тургор, хвоя зеленувато-жовтого кольору, на коренях спостерігається суттєве підгнивання).

Повторність кожного варіанта у серії з визначення ураженості фузаріозом п'ятиразова. Активність пероксидази визначали у 3 – 4-кратній біологічній повторності. На рисунках наведені середні значення показників та відповідні стандартні відхилення.

Результати та обговорення. Попередня обробка насіння сосни системним протруйником Роялфло значною мірою знижувала ураженість сіянців фузаріозом. Так, у контролі на кінець періоду спостережень (60-та доба від моменту висівання насіння у ґрунт) без видимих ознак ураження патогеном залишилося $42,2 \pm 7,8$ % сіянців від загальної кількості, а у дослідному варіанті (з протруюванням насіння) цей показник становив $82,4 \pm 6,5$ %. Сіянці у дослідному варіанті мали вищу енергію росту і наприкінці періоду спостережень мали кращі морфологічні показники (дані не наводяться).

Активність гваяколпероксидази в обох варіантах досліду була суттєво вищою в коренях сіянців порівняно з пагонами (рис. 1). При цьому в сіянцях, не уражених патогеном, протягом усього періоду спостережень в усіх варіантах досліду відбувалося поступове підвищення як сумарної активності гваяколпероксидази (рис. 1: А), так і окремо взятих розчинної (рис. 1: Б) та зв'язаної (рис. 1: В) форм ферменту. Таке підвищення активності пероксидази може бути пов'язане з віковими особливостями метаболізму [1, 7].

У дослідному варіанті протягом усього часу експерименту спостерігалася чітка тенденція до підвищення сумарної активності пероксидази як у коренях, так і у пагонах сіянців (рис. 1: А), різниця була достовірною (при $p \leq 0,1$) на 35 і 45 дні.

Активність розчинної пероксидази дослідного і контрольного варіантів суттєво не відрізнялася протягом періоду спостережень (рис. 1: Б), хоча на 20 і 45 дні виявлено певне зниження активності ферменту у пагонах варіанту з протруюванням насіння порівняно з контролем, яке може бути пояснено незначними флуктуаціями ферментної активності.

Рівень активності зв'язаної форми пероксидази був вищим у дослідному варіанті (з використанням протруйника) порівняно з контролем (рис. 1: В). У коренях різниця була достовірною (при $p \leq 0,05$) на 15 – 35 дні, у пагонах – на 20 – 45 дні від моменту висівання насіння у ґрунт. Такий ефект може бути пов'язаний із віддаленими наслідками впливу фунгіциду, оскільки певна його частина після протруювання залишається на поверхні насіння, а також у насінних покривах. З початком проростання насіння залишки препарату могли впливати на метаболізм сіянців [6].

В уражених фузаріозом сіянцях спостерігалася значне підвищення пероксидазної активності (рис. 2). При цьому залежність її динаміки від фази ураження в цілому була подібною в коренях і пагонах на всіх часових проміжках експерименту. Порівняно з контролем (неураженими сіянцями) сумарна активність пероксидази на I-й фазі ураження в коренях була вищою в 1,8 – 2,8 разу, в пагонах – в 3,3 – 4,7 разу, на II-й фазі ураження – у 2,1 – 3,3 та 3,9 – 6,6 разу, на III-й – у 1,6 – 2,5 і 2,6 – 4,9 разу відповідно (рис. 2: А, Б).

Активність розчинної форми гваяколпероксидази мала подібну залежність від фаз ураження. Так, у I-й фазі ураження порівняно з контролем у коренях відбувалося її збільшення в 1,7 – 2,4 разу, в пагонах – в 1,5 – 2,6 разу, на II-й фазі ураження – в 1,8 – 2,7 і 2,0 – 3,1 разу, на III-й – в 1,7 – 2,4 і 1,5 – 1,9 разу відповідно (рис. 2: В, Г).

Зв'язана форма пероксидази як у коренях, так і в пагонах під час ураження сіянців фузаріозом активувалася більшою мірою порівняно з розчинною формою ферменту. Підвищення активності зв'язаної пероксидази в коренях порівняно з контролем на I-й фазі ураження становило 2,0 – 3,1 разу, в пагонах – 7,6 – 9,3 разу, на II-й фазі ураження – у 2,4 – 3,8 і 8,2 – 14,1 разу, на III-й – в 1,6 – 2,6 і 5,3 – 11,4 разу відповідно (рис. 2: Д, Е).

Більший підйом активності іонно- та ковалентнозв'язаних форм гваяколпероксидази під час ураження фузаріозом може бути пов'язаний з оксидазними функціями цього ферменту [1, 14], адже підвищена генерація АФК необхідна для захисту рослин від патогена [13, 17, 22, 24].

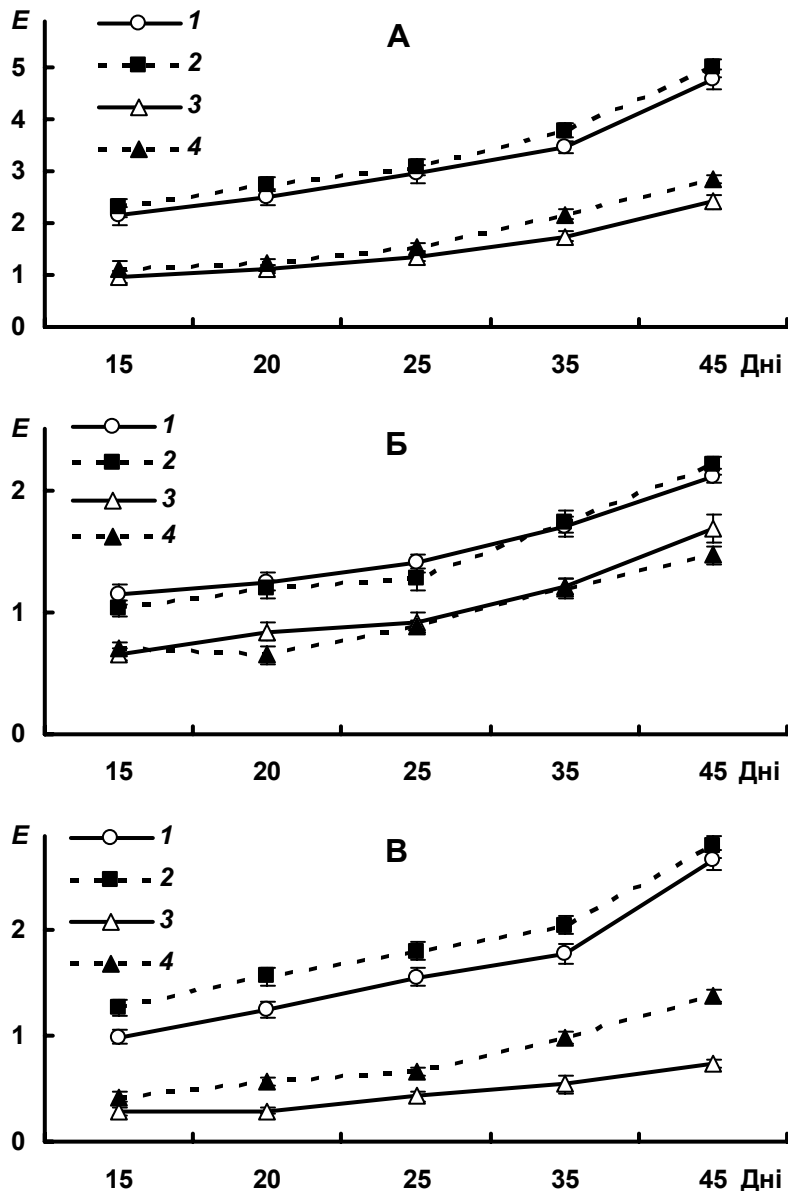


Рис. 1 – Динаміка активності гваяколпероксидази (Е, умовн. од./г. сух. маси · хв) у проростках сосни звичайної: А – сумарна активність, Б – активність розчинної форми, В – активність зв'язаної форми; 1, 2 – контроль, 3, 4 – варіант до обробки насіння протруйником Роялфло (2,5 мл/кг насіння); 1, 3 – корені, 2, 4 – пагони.

Суттєве підвищення вмісту зв'язаної форми пероксидази також може бути пояснене її участю у процесах лігніфікації, роль яких значно зростає при появі необхідності захисту рослинних тканин від фітопатогенів. Механічний бар'єр, що при цьому утворюється, зупиняє проникнення патогенних мікроорганізмів і надходження поживних речовин рослини в зону ураження. При цьому за участю пероксидази відбувається лігніфікація не лише рослинних тканин, але й гіф патогена [29].

Крім того, каталізоване зв'язаною формою пероксидази посилення генерації АФК може призводити до програмованої (аптозу) або непрограмованої (некрозу) загибелі клітин [13, 26, 30] і таким чином формувати навколо місця ураження зону з мертвих рослинних клітин як додатковий бар'єр для захисту від патогена.

У пагонах, на які еліситори патогена прямо не впливають, при ураженні сіяньців фузаріозом пероксидазна активність може підвищуватися за рахунок активації сигнальних систем [17], які в цьому випадку беруть участь у трансдукції інформації про біотичний стрес від місця ураження (кореня й кореневої шийки) до надземної частини сіяньців.

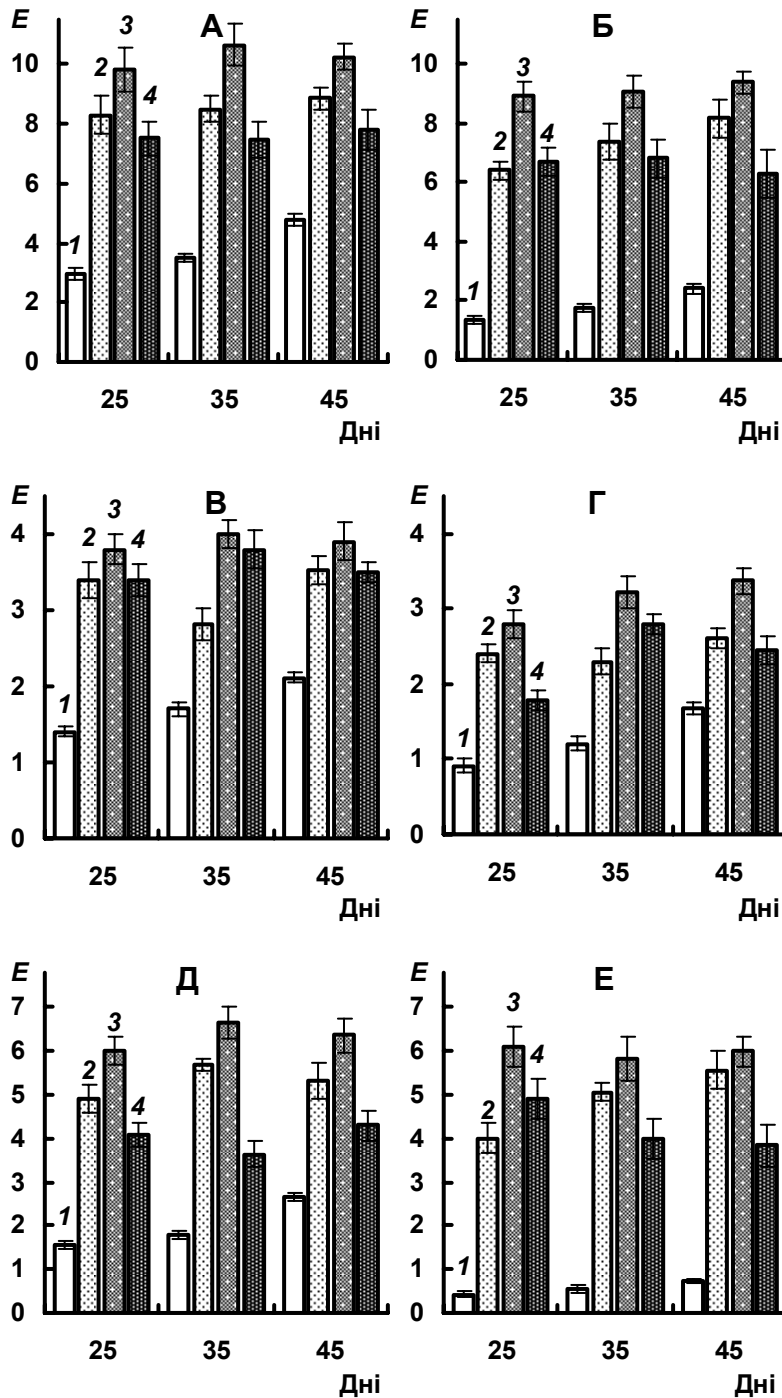


Рис. 2 – Активності гваяколпероксидази (Е, умовн. од./г. сух. маси хв) в здорових та уражених сіянцях сосни звичайної: А, Б – сумарна активність, В, Г – активність розчинної форми, Д, Е – активність зв’язаної форми; А, В, Д – корені, Б, Г, Е – пагони; 1 – здорові сіянці, 2, 3 і 4 – відповідно сіянці I-ї, II-ї і III-ї фаз ураженості (пояснення в методиці)

Підвищення активності розчинної форми гваяколпероксидази в уражених сіянцях може бути спричинене прямою субстратною активацією (внаслідок підвищення внутрішньоклітинного вмісту H_2O_2) [4, 11].

Зафіксоване нами багаторазове посилення пероксидазної активності, ймовірно, зумовлене саме біосинтезом ферменту *de novo* як одного зі стресових білків рослин у відповідь на ураження патогеном [2, 16, 19].

Виявлене нами багаторазове підвищення активності фенолпероксидази у тканинах уражених сіянців могло реалізуватися саме за рахунок ферменту рослин, а не патогенних

грибів, оскільки надалі (на III стадії ураження сіяньців фузаріозом) спостерігалось зниження ферментативної активності. Таке зниження пов'язане з поступовою втратою життєздатності та частковим відмиранням тканин сіяньців. У цей же час на фоні підвищення ураженості рослин міцелієм гриба не було зафіксоване підвищення активності (рис. 2). Крім того висока активність пероксидаз як ферментів, що використовують як субстрат-відновник складні речовини фенольної природи, характерна саме для організмів із добре розвиненим вторинним метаболізмом [1, 33]. Імовірно, що фермент гриба міг вносити певну частку в зареєстровану загальну активність фенолпероксидази, але цей внесок був мізерним. Таким чином, багатократний підйом активності відбувався саме за рахунок рослинних пероксидаз і пов'язаний із функціями ферменту як одного з ключових у захисті від патогена [1 – 2, 14, 16, 29]. Крім того, на користь такого твердження свідчить трансдукційне підвищення активності гваяколпероксидази в пагонах (органах, які не зазнавали прямого впливу патогена) за рахунок передання стресового сигналу від безпосереднього місця ураження (корінця й кореневої шийки) і, відповідно, роботи сигнальних систем [17].

В узагальненому вигляді динаміку активності гваяколпероксидази за умов ураження сіяньців сосни фузаріозом показано на рис. 3.

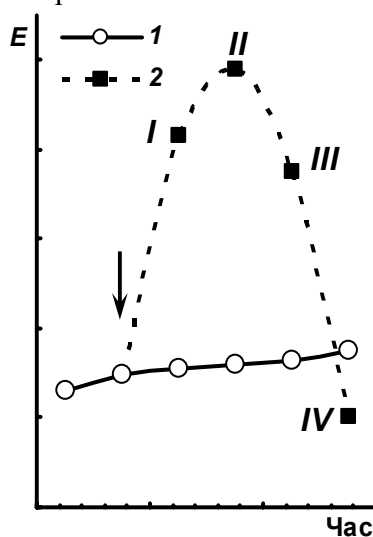


Рис. 3 – Узагальнена динаміка пероксидазної активності (E) у тканинах сіяньців сосни звичайної залежно від фази ураження фузаріозом: 1 – динаміка активності ферменту у здорових сіяньцях, 2 – динаміка активності ферменту в уражених фузаріозом сіяньцях; I, II, III – відповідно I, II і III фази ураження (пояснення в методиці), IV – фаза відмирання тканин нежиттєздатних сіяньців; стрілкою вказано початок патогенних процесів.

Відразу після початку патогенних процесів (позначено стрілкою) спостерігається стрімке зростання пероксидазної активності у тканинах сіяньців, яке триває протягом першої фази ураження. Пік активності пероксидази спостерігається протягом II-ї фази ураження, який, вочевидь, відповідає максимуму імунної відповіді. Далі (протягом III-ї фази) відбувається зниження активності пероксидази, пов'язане з розвитком деструктивних процесів, викликаних дією патогена, що призводить до загибелі ушкоджених сіяньців, відмирання тканин і, відповідно, повної інактивації ферменту (IV).

На основі описаної динаміки зростання пероксидазної активності з певною вірогідністю можна діагностувати зміну ферментативної активності в уражених сіяньцях уже на початку розвитку патологічного процесу. Стрімке зростання активності гваяколпероксидази відповідає початку ураження сіяньців фузаріозом. Цей показник може бути використаний для розробки методик діагностування захворювань рослин на початкових етапах розвитку ураження патогеном, але це питання потребує подальших досліджень.

Обробка системним протруйником значною мірою знижувала ступінь ураженості сіяньців сосни патогенами інфекційного вилягання і призводила до достовірного підвищення

активності зв'язаної гваяколпероксидази. Такий ефект зумовлений віддаленими наслідками впливу фунгіциду і не пов'язаний з індукцією певних захисних реакцій.

Висновки. У процесі росту й розвитку сіянців сосни звичайної спостерігається поступове підвищення як сумарної пероксидазної активності, так і окремо взятих вільної та зв'язаної форм ферменту. У процесі ураження сіянців фузаріозом виявлено різке багаторазове підвищення активності пероксидази, особливо її іоннозв'язаної форми, що може бути пояснене функціональними особливостями ферменту.

Зважаючи на чутливість пероксидазної активності рослинних тканин до біотичного стресу, яку була зареєстровано також іншими дослідниками [3, 23, 24], можна сподіватися на високу ймовірність успішного застосування цього показника для вивчення фізіологічних змін у хворих рослин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева В. А. Фермент пероксидаза: Участие в защитном механизме растений. – М.: Наука, 1988. – 128 с.
2. Войников В. К., Боровский Г. Б., Колесниченко А. В., Рихванов Г. Е. Стрессовые белки растений / Отв. ред. И. Э. Илли) – Иркутск: Изд-во ин-та географии СО РАН, 2004. – 141 с.
3. Граскова И. А., Антипина И. В., Потапенко О. Ю., Войников В. К. Динамика активности внеклеточных пероксидаз суспензионных клеток картофеля при патогенезе кольцевой гнили // Докл. АН [Россия]. – 2004. – Т. 399, № 4. – С. 567 – 570.
4. Диксон М., Узбб Э. Ферменты: Пер. с англ. – М.: Мир, 1982. – Т. 2. – 1120 с.
5. Дмитрієв О. П., Кравчук Ж. М. Активні форми кисню та імунітет рослин // Цитология и генетика. – 2005. – Т. 39, № 4. – С. 64 – 75.
6. Ермакова М. В. Реакция сеянцев сосны обыкновенной на обработку семян фунгицидами ТМТД и фундозолом // Лесоведение. – 1995. – № 3. – С. 57 – 64.
7. Ивакин А. П., Грушин А. А. Термостабильность пероксидазы сортов томатов, различающихся по жаростойкости // Физиология растений. – 1986. – Т. 33, № 2. – С. 226 – 233.
8. Карташова Е. Р., Руденская Г. Н., Юрина Е. В. Полифункциональность растительных пероксидаз и их практическое использование // С.-х. биология. – 2000. – № 5. – С. 63 – 70.
9. Колесников О. П., Часов А. В., Минабаева Ф. В. Один из аспектов участия пероксидазы клеточной стенки в адаптационных процессах корневых клеток // Биология – наука 21-го века: 5-ая Пушчинская конф. мол. ученых. Сб.тез. (16 – 20 апреля 2001 г.). – Пушино, 2001. – С. 134 – 135.
10. Колупаев Ю. Е., Акинина Г. Е., Карпец Ю. В., Мокроусов А. В. Действие Ca^{2+} на клетки колеоптилей озимой пшеницы в условиях высокотемпературного стресса. Сообщение 3. Изменение активности растворимой и ионно-связанной пероксидаз // Вісник Харк. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2003. – № 3(2). – С. 62 – 69.
11. Коэн Ф. Регуляция ферментативной активности: Пер. с англ. – М.: Наука, 1986. – 144 с.
12. Лебедева О. В., Угарова Н. Н. Стационарная кинетика реакции окисления NADH пероксидом водорода в присутствии пероксидазы хрена // Биохимия. – 1997. – Т. 62, № 2 – С. 249 – 253.
13. Максимов И. В., Черепанова Е. А. Про-/антиоксидантная система и устойчивость растений к патогенам // Успехи соврем. биологии. – 2006. – Т. 126, № 3. – С. 250 – 261.
14. Минабаева 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.
15. Рябинников В. А. Грибные болезни посадочного материала хвойных пород и их диагностические признаки. // Лесохозяйственная информация: Всероссийский научно-исследовательский ин-т лесоводства и механизации лесного хозяйства, 2004. – № 8. – С. 11 – 22.
16. Савич И. М. Пероксидазы – стрессовые белки растений // Усп.соврем. биологии. – 1989. – Т. 107, вып. 3. – С. 406 – 417.
17. Тарчевский И. А. Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
18. Часов А. В., Гордон Л. Х., Колесников О. П., Минабаева Ф. В. Пероксидаза клеточной поверхности – генератор супероксид-аниона в корневых клетках пшеницы при раневом стрессе // Цитология. – 2002. – Т. 44, № 7. – С. 691 – 696.
19. Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений // СПб: Изд-во С.-Пб. ун-та, 2002. – 244 с.
20. Шевченко С. В., Цилюрик А. В. Лесная фитопатология. – К: Вища школа. – 1986. – 381 с.
21. Allan A., Fluhr R. Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells // Plant Cell. – 1997. – V. 9. – P. 1559 – 1577.
22. Apostol I., Heinstejn P. F., Low P. S. Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells: role in defense and signal transduction // Plant Physiol. – 1989. – V. 90. – P. 109 – 116.

23. Bestwick S. R., Brown I. R., Bennett M. H. R., Mansfield J. W. Lokalisation of hydrogen peroxide accumulation during hypersensitive reaction of lettuce cells to *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola. // Plant Cell. – 1997. – V. 9. – P. 209 – 221.
24. Bolwell G. P., Blee K. A., Butt V. S. et al. Recent advances in understanding the origin of the apoplastic oxidative burst in plant cells // Free Radical Res. – 1999. – V. 31. – P. 137 – 145.
25. Bolwell G. P., Davies D. R., Gerrish C. et al. Comparative biochemistry of the oxidative burst produced by rose and French bean cell reveals two distinct mechanisms // Plant Physiol. – 1998. – V. 116. – P. 1379 – 1385.
26. Breusegem F. V., Dat J. F. Reactive oxygen species in plant cell death // Plant Physiol. – 2006. – V. 141. – P. 384 – 390.
27. 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.
28. Martinez C., Baccou J.-C., Bresson E. Salicylic Acid Mediated by the Oxidative Burst Is a Key Molecule in Local and systemic Responses of Cotton Challenged by an Avirulent Race of *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum* // Plant Physiol. – 2000. – V. 122, N 3. – P. 757 – 766.
29. Milosevic N., Shusarenko A. J. Active oxygen metabolism and lignification in the hypersensitive response in bean // Physiological and Molecular Plant Pathology – 1996. – V. 49, № 3 – P. 143 – 158.
30. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. – 2002. – V. 7, № 9. – P. 405 – 410.
31. 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.
31. Tomonori K., Reinhad P., Nobuyuki U. et al. Phenylethylamine Induced Generation of Reactive Oxygen Species and Ascorbate Free Radicals in Tobacco Suspension Culture: Mechanism for Oxidative Burst Mediating Ca²⁺-influx // Plant and Cell Physiol. – 2000. – V. 41, № 11. – P. 1259 – 1266.
32. Tomonori K., Shoshi M. Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture // J. Exp. Bot. – 2000. – V. 51, № 345. – P. 685 – 693.

Karpets Yu. V.^{1,2}, Cherkis T. M.¹

DYNAMICS OF PHENOL PEROXIDASE ACTIVITY IN THE HEALTHY AND INFECTED BY *FUSARIUM* WILT PINE SEEDLINGS

1. Ukrainian Research Institute of Forestry & Forest Melioration named after G. M. Vysotsky

2. Kharkiv National Agrarian University named after V. V. Dokuchajev

Dynamics of activity of soluble and bounded guaiacol peroxidase forms during growth and development of Scotch pine seedlings over period of the highest sensitivity to damping-off have been investigated. In propagules and roots of infected plantlets substantial increase of activity of both enzyme forms was observed, and the rise of bounded peroxidase was more significant. Treatment with system protectant Royalflo appreciably reduced degree of seedlings defeat by pathogens of infectious damping-off and increased activity of bounded peroxidase. Importance of phenol peroxidases activity increase at biotic stress is discussed.

Key words: *Pinus sylvestris* L., seedlings, *Fusarium* wilt (= infectious damping-off), soluble and bounded forms of phenol peroxidase, resistance.

Карпец Ю. В.^{1,2}, Черкис Т. М.¹

ДИНАМИКА АКТИВНОСТІ ФЕНОЛПЕРОКСИДАЗИ В ЗДОРОВИХ І ПОРАЖЕНИХ ФУЗАРІОЗОМ СЕЯНЦІВ СОСНИ

1. Український науково-дослідницький інститут лісного господарства і агролісомеліорації ім. Г. М. Висоцького

2. Харківський національний аграрний університет ім. В. В. Докучаєва

Исследовали динамику активности растворимой и связанной форм гваякопероксидазы в процессе роста и развития сеянцев сосны обыкновенной на протяжении периода наивысшей чувствительности к фузариозу. В побегах и корнях пораженных проростков отмечено значительное повышение активности обеих форм фермента, причем подъем активности связанной пероксидазы был более значительным. Обработка системным протравителем Роялфло способствовала значительному снижению степени поражения патогенами инфекционного полегания сеянцев и повышению активности связанной пероксидазы. Обсуждается значение повышения активности фенолпероксидаз при поражении фузариозом.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris* L., сеянцы, фузариоз (= инфекционное полегание), растворимая и связанная формы фенолпероксидазы, устойчивость

e-mail: TanyaCherkis@rambler.ru

Одержано редколлегією 24.10.2007 р.