

УДК 577.152.1:582.683.2-1522+577.218

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ У ARABIDOPSIS THALIANA ДИКОГО ТИПУ ТА У НОКАУТНОГО МУТАНТА ЗА ГЕНОМ APX2 ЗА ДІЇ ТЕПЛООВОГО ШОКУ

І.М. ДОЛІБА, Р.А. ВОЛКОВ, І.І. ПАНЧУК

Кафедра молекулярної генетики та біотехнології,
 Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
 Україна, 58012, м. Чернівці, вул. Коцюбинського, 2
 e-mail: irina.panchuk@gmail.com

Досліджено зміни каталазної активності (CAT) за дії теплового шоку у рослин *Arabidopsis thaliana* дикого типу (екотип Col 0) та в нокаутного мутанта за геном аскорбат пероксидази 2 (APX2) KO-25. У рослин *A. thaliana* дикого типу спостерігали підвищення активності CAT за дії помірного теплового шоку (37 °C) та у фазі постшокового відновлення. На відміну від цього, у рослин KO-25 такі ефекти були слабшими або взагалі відсутні. Зростання каталазної активності було більш виражене за дії жорсткого теплового шоку (44 °C). Так, каталазна активність у рослин дикого типу та нокаутного мутанта зростала відповідно у 3,0 та 2,3 рази порівняно з контрольними пробами. У фазі постшокового відновлення каталазна активність залишалася підвищеною у дикого типу, проте знижувалася до рівня контролю у мутантних рослин. На загал, наші дані вказують, що каталаза залучена у відповідь *A. thaliana* на дію теплового шоку. Проте втрата активності APX2 у мутанта KO-25 не компенсується додатковою активацією каталази. Можна припустити, що у мутантних рослин *A. thaliana* знижено продукування пероксиду водню.

Ключові слова: *Arabidopsis thaliana*, каталаза, пероксид водню, тепловий шок, нокаут-мутанти.

Вступ. Основним механізмом шкідливої дії теплового шоку є денатурація білків і спричинене цим порушення метаболічних процесів у рослинній клітині. Крім того, за дії високих температур спостерігається зростання внутрішньоклітинного рівня продукції активних форм кисню (АФК), зокрема пероксиду водню. Це може призводити до окислення білків, нуклеїнових кислот і мембранних ліпідів. Відповідно, нормалізація рівня H_2O_2 є одним з елементів шокової відповіді, як це було доведено у попередніх дослідженнях [1, 2].

АФК можуть не тільки спричиняти пошкодження, але й функціонувати як сигнальні молекули, що необхідні для індукції відповіді клітини на дію різних стресових чинників [3, 4]. Зокрема, попередніми роботами нашої лабораторії встановлено, що H_2O_2 є необхідним для ефективною транскрипції генів білків теплового шоку у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh [5]. Отже, з'ясування механізмів генерації та розщеплення H_2O_2 в умовах теплового шоку потрібне для розуміння механізмів клітинної відповіді та адаптації.

Рослини мають ферментативні та неферментативні системи антиоксидантного захисту, які контролюють внутрішньоклітинний рівень АФК. Гени, що кодують антиоксидантні ферменти різняться за рівнем та характером експресії, а

© І.М. ДОЛІБА, Р.А. ВОЛКОВ, І.І. ПАНЧУК, 2010

відповідні білки мають різну субстратну специфічність, тканинну та субклітинну локалізацію. Завдяки цьому вони можуть ефективно та специфічно контролювати продукцію та знешкодження АФК [6].

У рослинній клітині H_2O_2 утворюється у хлоропластах, мітохондріях, мікросомах та клітинній мембрані. З іншого боку, розщеплення H_2O_2 забезпечують декілька ферментів, з яких основними вважають каталазу (CAT), аскорбат (APX) та гваякол (POD) пероксидази [4, 7]. Ці ферменти різняться специфічністю до субстрату і локалізацією у клітині. CAT дисмутує молекулу H_2O_2 до води та кисню, використовуючи для цього дві молекули H_2O_2 , одна з яких є донором, а інша – акцептором водню. Всі ізоформи APX як субстрату для утилізації H_2O_2 використовують аскорбат, тоді як POD мають дуже широку субстратну специфічність [8]. Всі три ферменти представлені в рослинній клітині декількома ізоформами, які кодуються мультигенними родинками. У *A. thaliana* знайдено 3 гени, що кодують CAT [9], 9 генів – APX [7, 10] та 73 – POD [11]. Ізоформи CAT знаходяться в мікросомах [9], тоді як APX локалізовані у цитозолі, хлоропластах, мітохондріях та мікросомах [10], а POD – у вакуолях, цитозолі, апопласті та клітинній стінці [11]. Крім того, гени згаданих ферментів різняться характером експресії в умовах стресу. Зокрема, ген, що кодує цитозольну APX2 у *A. thaliana*, за оптимальних умов вирощування транскрибується на дуже низькому рівні, але рівень відповідної мРНК зростає у 1000 разів за дії теплового шоку [10]. Ген цитозольної APX1 є навпаки високотранскрибованим за оптимальних умов, тоді як за дії теплового шоку рівень його транскрипції додатково зростає лише у 2–3 рази [10]. Зростання активності POD у відповідь на тепловий шок було знайдено нами у *A. thaliana*, кукурудзи та тютюну [12–14]. Проте можлива участь CAT у відповіді на

тепловий шок все ще залишається недослідженою.

Високе різноманіття ізоферментів та генів, що їх кодують, підвищує надійність роботи антиоксидантної системи та наводить на думку про можливе дублювання функцій антиоксидантних ферментів. Нещодавно ми показали, що втрата APX2 у *A. thaliana* може бути компенсована зростанням активності POD за дії жорсткого теплового шоку [12]. Для подальшого розуміння явища функціонального дублювання антиоксидантних ферментів метою даного дослідження було вивчення ролі CAT у *A. thaliana* дикого типу та у нокаут-мутантів за геном гена *ApX2* за дії теплового шоку.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на рослинах *A. thaliana* екотипу Columbia 0 та нокаутній мутантній лінії KO-25 *A. thaliana*, в якій порушена експресія гена *ApX2* (At3g09640). Лінія KO-25, яка містить вставку T-ДНК у третьому екзоні гена *ApX2*, була відібрана у нашій лабораторії раніше [15] з використанням насіння, отриманого з колекції NASC (Nottingham Arabidopsis Stock Centre, University of Nottingham, Великобританія).

Рослини вирощували у ґрунті в культивацийній кімнаті при сталій температурі +20 °С, освітленні 2,5 кЛк в умовах 16-годинного світлового дня.

Рослини 7-тижневого віку (фаза 10–12 листків) піддавали тепловому шоку. Теплову обробку проводили в 1 мМК-фосфатному буфері (рН 6,0). Обробку здійснювали в темряві протягом 1, 2 та 4 год за 20, 37 та 44 °С. Для вивчення процесів, що відбуваються у фазі постшокової репарації, через 1 або 2 год після початку шокової обробки зразки переносили в камеру, де підтримували температуру 20 °С, і продовжували інкубацію протягом 1 або 2 год відповідно.

Після завершення обробки рослини заморожували в рідкому азоті та зберігали в морозильній камері за температури -70°C для подальших досліджень.

Для екстракції білків використовували буфер, що містив 0,1 М трис- HCl ($\text{pH}=6,8$), 20 % гліцерин та 30 мМ дитіотрейтол. Гомогенізований в присутності рідкого азоту рослинний матеріал заливали екстракційним буфером та центрифугували 15 хв за 14000 g та температури $+4^{\circ}\text{C}$. Після центрифугування відбирали супернатант та зберігали його на льоду для подальших досліджень.

Визначення каталазної активності проводили за методикою, описаною нами раніше [16]. Вміст білка в екстракті визначали спектрофотометрично за методом Бредфорда [17]. Активність ферменту виражали в мікромоль H_2O_2 , що розкладався за 1 хв на 1 мкг білка. Отримані результати перераховували у відсотки, приймаючи за 100 % питому активність ферменту в листках інтактних рослин. Вимірювання проводилися в трьох паралелях та чотирьох біологічних повторностях. Статистичну обробку даних проводили за критерієм Ст'юдента [18].

Ізоферментний спектр каталази визначали у нативному 6,5 % поліакриламідному гелі [19]. У кожну лунку гелю вносили по 10 мкг білка. Електрофорез проводили при напруженості 12 В/см протягом 6 год. Для візуалізації ізоформ каталази після закінчення електрофорезу гель інкубували протягом 5 хв у 0,01 % розчині пероксиду водню, промивали дистильованою водою та вносили на 5 хв у суміш, що складалася з 1 % FeCl_3 та 1 % $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. У місцях локалізації ізоформ каталази на гелі спостерігали появу світлих смуг на темному фоні, що пов'язано із розщепленням пероксиду водню за дії ферменту. Реакцію зупиняли шляхом промивання гелю водою.

Результати та обговорення

Отримані нами результати показують, що помірний тепловий шок (37°C) викликав підвищення каталазної активності в листках рослин *A. thaliana* дикого типу (рис. 1). Найбільш виражений ефект спостерігали після 2-годинного шоку. У цьому випадку каталазна активність достовірно зростала удвічі порівняно з контрольними зразками, що інкубувалися протягом 2 год за кімнатної температури. У фазі постшокової репарації (2 год 37°C + 2 год 20°C) виявлено додаткове зростання активності на 12 %. Підвищення каталазної активності спостерігали також і через 1 год. дії шоку, проте воно було достовірним лише з $0,05 < p < 0,1$ та не таким високим (на 28 % порівняно із контролем), як у випадку 2-годинного шоку. Додаткове зростання каталазної активності у фазі постшокової репарації у цьому випадку (1 год 37°C + 1 год 20°C , див. рис. 1) становило 7%. Після 4-годинного шоку різниця порівняно з контролем становила лише 16 % і була статистично недостовірною.

Раніше у нашій лабораторії було встановлено, що у клітинах арабідопсису за дії помірного теплового шоку протягом перших 15 хв відбувається двократне зростання внутрішньоклітинного рівня H_2O_2 . Протягом першої години дії шоку цей рівень додатково зростає приблизно на 40%, тоді як протягом другої-четвертої години відбувається поступове зниження концентрації H_2O_2 до контрольних значень [5]. Малоймовірно, що такі зміни рівня H_2O_2 можуть бути пов'язані з APX, адже активність цього ферменту у листках *A. thaliana* залишалась незмінною протягом 4-годинної обробки за 37°C [10]. Наші нові дані свідчать, що зростання рівня H_2O_2 безпосередньо після початку шокової обробки може індукувати зростання активності каталази, що в свою чергу призводить до падіння концентрації H_2O_2 протягом дру-

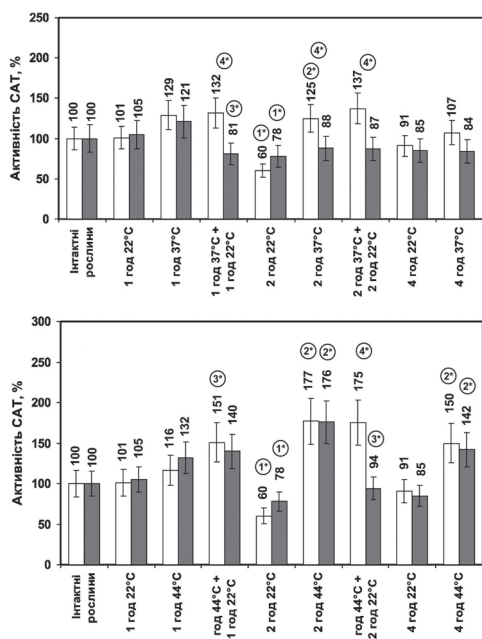


Рис. 1. Відносна активність САТ у рослинах *Arabidopsis thaliana* дикого типу (ДТ) та в нокаутного мутанта за геном *Arx2* (КО-25) за дії помірного (37 °С) та жорсткого (44 °С) теплового стресу: □ – ДТ; ■ – КО-25; 1* – різниця між інтактними та контрольними рослинами достовірна; 2* – різниця між контрольними та стресованими рослинами достовірна; 3* – різниця між стресованими рослинами та рослинами у фазі репарації достовірна; 4* – різниця між рослинами дикого типу та мутантом достовірна ($p < 0,05$)

гої-четвертої години помірного теплового шоку. При цьому зниження рівня H_2O_2 до контрольних значень супроводжується зниженням каталазної активності.

Інший характер змін каталазної активності встановлено для нокаутних рослин КО-25, у яких спостерігали збільшення каталазної активності на 16% лише у випадку 1-годинної обробки за 37 °С ($0,05 < p < 0,1$). Після 2- та 4-годинної обробки різниці між помірним тепловим шоком та кімнатною температурою не спостерігали. Крім того, достовірну різницю між рослинами дикого типу та КО-25 було виявлено у фазі постшокової репарації

(1 год 37 °С + 1 год 20 °С та 2 год 37 °С + 2 год 20 °С), де у КО-25 відмічено зниження активності до контрольних значень. Нагадаємо, що у мутантів КО-25 відсутня індукція *Arx2* у відповідь на тепловий шок. Відповідно, можна було очікувати, що це може компенсуватися зростанням активності інших ферментів, що розщеплюють H_2O_2 , зокрема каталази. Втім, у наших дослідках за дії шоку та у постшоковій фазі у лінії КО-25, порівняно з рослинами дикого типу, ми спостерігали не підвищення, а зниження каталазної активності. Для пояснення цього можна припустити, що втрата експресії *APX2* у мутантів компенсується не за рахунок активації каталази, а завдяки зниженню генерації пероксиду водню. Аналогічний механізм було описано для подвійних антисенсових по *APX* та *CAT* рослин тютюну, у яких спостерігались активація хлоропластної альтернативної оксидази та пентозофосфатного метаболічного шляху на фоні зниження інтенсивності фотосинтезу в умовах оксидативного стресу [20].

За дії жорсткого теплового шоку (44 °С) також виявлено зміни каталазної активності, яка збільшувалась через 1 год, сягла максимуму через 2 год та частково знижувалась через 4 год від початку обробки (рис. 1). Так, через 2 години каталазна активність у рослин дикого типу та у КО-25 зростала у 3,0 та 2,3 рази відповідно, тоді як через 4 години – у 1,6 та 1,7 рази порівняно з контрольними зразками, що інкубувались за кімнатної температури.

Максимальні значення каталазної активності, які спостерігали за дії жорсткого шоку, у 1,5–2,0 рази перевищували відповідні показники за помірної шокової обробки. Це спостереження добре узгоджується із нашими даними про високу термочутливість *APX* [10]. Зокрема було показано, що за дії жорсткого теплового шоку активність *APX* у *A. thaliana* (екотип С24) через 1 год. знижується до 30%

порівняно з контролем, а через 4 год – до 12%. Відповідно, підсилене порівняно з помірним шоком зростання активності каталази в умовах жорсткого теплового шоку може бути спрямованим на компенсацію втрати загальної активності АРХ.

За жорсткого шоку (як і за помірного), було знайдено різницю між рослинами дикого типу та КО-25 у фазі постшокової репарації. Зокрема, у точці 2 год 44 °С + 2 год 20 °С (рис. 1) у рослин дикого типу каталазна активність залишалась на тому ж рівні, що й після 2 год інкубації за 44 °С, тоді як у КО-25 спостерігалось зниження активності у 1,9 рази, тобто практично до рівня, зафіксованого у контрольному зразку.

Раніше ми продемонстрували, що за дії 2-годинного жорсткого теплового шоку у *A. thaliana* дикого типу активність POD зростає на 16 %, а у КО-25 – на 77 % [5]. Отже, підвищена активність POD в умовах жорсткого теплового шоку може пояснити прискорене зниження каталазної активності до контрольних значень, яке спостерігали у фазі постшокової репарації у мутанта КО-25. Іншим поясненням, як і у випадку з помірним шоком, може бути зниження генерації H₂O₂ у КО-25, що дозволяє рослині у постшоковій фазі швидше повернутися до нормального фізіологічного стану. Проте перевірка такої гіпотези потребує додаткових досліджень.

У геномі *A. thaliana* присутні три гени, що кодують різні ізоформи каталази, які по-різному експресуються у різних тканинах [9]. Зокрема, відомо, що на ранніх стадіях розвитку у листках експресуються лише гени CAT2 та CAT3, причому основна каталазна активність припадає на CAT2. Експресія CAT1 спостерігається лише на 9,5–10,5 тижнях розвитку, коли рослини входять у стадію старіння (фазу сенесценсу) [19].

Для перевірки можливості, що тепловий шок може по-різному впливати на ак-

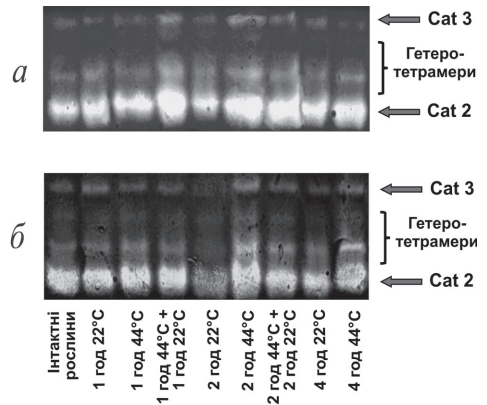


Рис. 2. Ізоферментні спектри каталази у листках рослин *Arabidopsis thaliana* дикого типу (а) та у нокаутного мутанта за геном *Apx2* (б) за дії жорсткого (44 °С) теплового шоку

тивність окремих ізоформ, ми дослідили зміни у ізоферментних спектрах за дії помірного та жорсткого теплового шоку. В результаті електрофоретичного розділення на гелі було виявлено ізоформи каталази високої, середньої та низької рухливості (рис. 2). Враховуючи, що для експериментів ми використовували 7-тижневі рослини, виявлені нами ізоформи являють собою CAT2 і CAT3. Згідно з літературними даними [19], найбільшу рухливість має CAT2, а найнижчу – CAT3. Із середньою швидкістю рухаються гетеротетрамери каталази, що складаються з комбінації мономерів CAT2 та CAT3. У наших експериментах як CAT2, так і CAT3 було виявлено у всіх варіантах досліду, хоча інтенсивність смуг на гелях відрізнялась у різних варіантах обробки. В цілому інтенсивність забарвлення ізоформ корелювала із даними вимірювання загальної каталазної активності. Отже, зростання або зниження загальної активності каталази було зумовлено змінами активності обох ізоформ – CAT2 і CAT3.

Висновки

В цілому отримані нами результати свідчать, що зростання активності CAT2 і

CAT3 є компонентом ранньої відповіді клітин листків *A. thaliana* на помірний та жорсткий тепловий шок. Більш сильне зростання каталазної активності за дії жорсткого шоку, імовірно, пов'язано з необхідністю компенсувати зниження загальної активності APX за цих умов. Проте каталаза не бере участі у компенсації втрати експресії APX2 у нокаут-мутантів по цьому гену.

Перелік літератури

1. Alscher R.G., Donahue J.L., Cramer C.L. Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells // *Physiol. Plantarum*. – 1997. – Vol. 100. – P. 224–233.
2. Panchuk I., Pyrizhok R., Volkov R. Engineering of new plants cultivars with improved abiotic stress tolerance // *Ann. Suceava University*. – 2007. – Vol. 6. – P. 25–35.
3. Desikan R., Cheung M-K., Bright J., Henson D., Hancock J.T., Neill S.J. ABA, hydrogen and nitric oxide signalling in stomatal guard cells // *J. Exp. Bot.* – 2004. – Vol. 55. – P. 205–212.
4. Hung S.-H., Yu C.-W., Hung S.-H., Lin C.H. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants // *Bot. Bull. Acad. Sin.* – 2005. – Vol. 46. – P. 1–10.
5. Panchuk I.I., Volkov R.A., Schöffl F. Heat stress-induced H₂O₂ is required for effective expression of heat shock genes in *Arabidopsis* // *Plant Mol. Biol.* – 2006 – Vol. 61 – P. 733–746.
6. Vranová E., Inze D., Breusegem F.V. Signal transduction during oxidative stress // *J. Exp. Bot.* – 2002. – Vol. 53. – P. 1227–1236.
7. Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants // *Trends Plant Sci.* – 2004. – Vol. 9. – P. 490–498.
8. Газарян И.Г., Хушпульян Д.М., Тишков В.И. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений // *Успехи биол. химии*. – 2006. – Т. 46. – С. 303–322.
9. Frugoli J.A., Zhong H.H., Nuccio M.L., McCourt P.M., McPeck A., Thomas T.L., McClung C.R. Catalase is encoded by a multigene family in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh // *Plant Physiol.* – 1996. – Vol. 112. – P. 327–336.
10. Panchuk I.I., Volkov R.A., Schöffl F. Heat stress- and heat shock transcription factor-dependent expression and activity of APX in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2002. – Vol. 129. P. 838–853.
11. Tognolli M., Penel C., Greppin H., Simon P. Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana* // *Gene*. – 2002. – Vol. 288. – P. 129–138.
12. Пиріжок Р.Ю., Волков Р.А., Панчук І.І. Температурозалежна активність гваякол пероксидази у *Arx2* нокаут-мутантів арабідопсису // *Вісник Укр. товар. генет. селекціонерів*. – 2008. – Т. 6. – С. 275–280.
13. Пиріжок Р.Ю., Волков Р.А., Панчук І.І. Активність пероксидази проростків кукурудзи в умовах теплового стресу // *Физиол. биохим. культ. растений* – 2009. – Т. 41, № 1. – С. 44–49.
14. Пиріжок Р.Ю., Панчук І.І. Активність пероксидази *Nicotiana tabacum* L. в умовах теплового стресу // *Наук. вісник Чернівецького нац. ун-ту*. – Вип. 455: Біологія. – Чернівці: Рута, 2009. – С. 116–119.
15. Панчук І.І., Пиріжок Р.Ю. Ідентифікація *Arx2* нокаут-мутантів арабідопсису // *Біол. системи*. – 2009. – Т. 1, № 1. – С. 11–15.
16. Доліба І.М., Волков Р.А., Панчук І.І. Метод визначення каталазної активності у рослинному матеріалі // *Физиол. биохим. культ. растений*. – 2010. – Т. 42, № 6 – с. 497–503.
17. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Analyt. Biochem.* – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.
18. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
19. Orendi G. Expression von Katalasen während der Blattseneszens und unter verschiedenen Stressbedingungen in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. / *Dissertation Verlag Grauer*. – 2001. – 135 s.
20. Rizhsky L., Hallak-Herr E., Van Breusegem F., Rachmilevitch S., Barr J.E., Rodermeil S., Inzé D., Mittler R. Double antisense plants lacking ascorbate peroxidase and catalase are less sensitive to oxidative stress than single antisense plants lacking ascorbate peroxidase or catalase // *Plant J.* – 2002. – Vol. 32. – P. 329–342.

Представлено О.М. Тищенко
Надійшла 14.07.2010

**ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ
У *ARABIDOPSIS THALIANA* ДИКОГО ТИПА
И У НОКАУТНОГО МУТАНТА ПО ГЕНУ *APX2*
ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ТЕПЛООВОГО ШОКА**

И.Н. Долиба, Р.А. Волков, И.И. Панчук

Кафедра молекулярной генетики и биотехнологии
Черновицкий национальный университет имени
Юрия Федьковича
Украина, 58012, г. Черновцы, ул. Коцюбинского, 2
e-mail: irina.panchuk@gmail.com

Изучены изменения каталазной активности (CAT) под действием теплового шока у растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа (экотип Col 0) и у нокаутного мутанта по гену аскорбат пероксидазы 2 (*Apx2*) КО-25. У растений *A. thaliana* дикого типа наблюдалось повышение активности CAT под действием умеренного теплового шока (37 °С) и в фазе постшокового восстановления. В отличие от этого у растений КО-25 такие эффекты были слабее или вообще отсутствовали. Возрастание каталазной активности было более выражено под действием жесткого теплового шока (44 °С). Так, каталазная активность у растений дикого типа и нокаут-мутантов увеличивалась соответственно в 3,0 и 2,3 раза по сравнению с контрольными пробами. В фазе постшокового восстановления каталазная активность оставалась повышенной у дикого типа, однако снижалась до уровня контроля у мутантных растений. В целом, наши данные показывают, что каталаза участвует в ответе *A. thaliana* на воздействие тепловым шоком. Однако потеря активности *APX2* у мутантных КО-25 растений не компенсируется дополнительной активацией каталазы. Можно предположить, что у мутантных растений *A. thaliana* снижена продукция перекиси водорода.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, катала-

за, перекись водорода, теплового шок, нокаут-мутанты.

**HEAT SHOCK-DEPENDENT CHANGES
OF CATALASE ACTIVITY IN WILD TYPE
ARABIDOPSIS THALIANA
AND IN *APX2* KNOCK-OUT MUTANT**

I.M. Doliba, R.A. Volkov, I.I. Panchuk

Dept. of Molecular Genetics and Biotechnology
Fedkovich National University of Chernivtsy
Ukraine, 58012, Chernivtsy, Kotsubynski str. 2
e-mail: irina.panchuk@gmail.com

Changes in catalase (CAT) activity upon heat shock were evaluated in wild type plants of *Arabidopsis thaliana* (ecotype Col 0) and in ascorbate peroxidase 2 (*Apx2*) knock-out mutant KO-25. In wild type *A. thaliana*, increase of CAT activity was found upon moderate heat stress (37°C) and in post-stress recovery phase. In contrast, the effects were less pronounced or absent in KO-25. The induction of catalase activity was more evident upon severe heat shock (44°C). After 2 hours treatment CAT activity was, respectively, 3,0 and 2,3 times higher in wild type and mutant plants comparing to the control probes incubated at room temperature. In post-stress recovery phase at room temperature CAT activity remained increased in wild type, but dropped to the control level in mutant plants. Taking together our data show that CAT appears to be involved in heat shock response in *A. thaliana*. However, the loss of *APX2* activity in the mutant KO-25 is not compensated by additional activation of CAT. Instead, a reduced generation of hydrogen peroxide in the mutant plants can be supposed.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, catalase, hydrogen peroxide, heat shock, knock-out mutants.