

УДК 581.1:577.13

ВПЛИВ ДОНОРА СІРКОВОДНЮ НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ ЗА ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ

Ю.Є. КОЛУПАЄВ^{1,2}, К.М. ФІРСОВА¹, М.В. ШВИДЕНКО¹, Т.О. ЯСТРЕБ¹

¹Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
62483 Харків, п/в Докучаєвське-2
e-mail: plant_biology@ukr.net

²Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
61022 Харків, майдан Свободи, 4

Досліджували вплив донора сірководню гідросульфїду натрію (NaHS) на стійкість етіолованих проростків пшениці (*Triticum aestivum* L.) до осмотичного стресу, спричинюваного 12 %-м ПЕГ 6000. Обробка NaHS концентраціями 0,1; 0,5; 1 мМ ослаблювала пригнічення росту коренів і пагонів під дією ПЕГ, підвищувала вміст води у проростках. Найпомітніший осмопротекторний ефект донор сірководню чинив за концентрації 0,5 мМ. Під його впливом у звичайних умовах та за осмотичного стресу підвищувалась активність антиоксидантних ферментів каталази і гваяколпероксидази, водночас активність супероксиддисмутази (СОД) істотно не змінювалась. Осмотичний стрес спричинював дворазове збільшення вмісту проліну в пагонах проростків, обробка NaHS додатково його підвищувала. Під впливом донора сірководню вміст антоціанів у пагонах зростав за звичайних умов і стабілізувався за стресових. Обробка проростків NaHS ослаблювала спричинюваний дією ПЕГ окиснювальний стрес, що виявлялося у зниженні вмісту пероксиду водню і малонового діальдегіду (МДА) в проростках. Зроблено висновок, що індуковане донором H₂S підвищення стійкості проростків пшениці до осмотичного стресу пов'язане з активуванням антиоксидантної та осмопротекторної систем.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., сірководень, осмотичний стрес, антиоксидантні ферменти, пролін, антоціани.

Сірководень (H₂S) — один із газоподібних сигнальних посередників у рослинних і тваринних клітинах [11, 12]. Він перебуває у тісній функціональній взаємодії з іншими месенджерами сигнальних систем — іонами кальцію, активними формами кисню (АФК), монооксидом азоту [12].

Останнім часом інтенсивно досліджується роль сірководню в адаптації рослин до низки стресових чинників. Отримано відомості про зміну вмісту сірководню у клітинах рослин за дії стресорів різної природи, зокрема низьких [10] і високих [24] температур, засолення [19], посухи [14]. У рослин арабідопсису встановлено посилення експресії генів ключових ферментів синтезу H₂S L- і D-цистеїндесульфгідрази у відповідь на зневоднення [14].

В останні десятиліття посуха стала одним із найзагрозливіших для рослин стресорів [3]. Тому способи індукування стійкості рослин до зневоднення за допомогою екзогенних сигнальних молекул, у тому числі сірководню, привертають увагу дослідників [22]. Зокрема показано, що

обробка насіння пшениці гідросульфідом натрію сприяла його проростанню за осмотичного стресу, спричинюваного ПЕГ 6000 [35]. Після обробки проростків пшениці донором сірководню підвищувалась активність ферментів аскорбат-глутатіонового циклу в умовах осмотичного стресу, цей ефект був опосередкований збільшенням вмісту абсцизової кислоти (АБК) [32]. Подібні результати отримали Ма і співавт. [28]: поліпшення ростових характеристик молодих рослин пшениці за умов осмотичного стресу супроводжувалося транзиторним посиленням експресії генів ферментів, причетних до синтезу АБК, та підвищенням активності антиоксидантних ферментів, насамперед СОД. При індукуванні H_2S стійкості рослин рису до дії осмотичного стресу, спричинюваного ПЕГ, активності СОД, каталази і пероксидази також підвищувались [27]. Під впливом донора сірководню зменшувались окиснювальні пошкодження, зростала виживаність проростків *Spinace oleracea* за жорсткої посухи [7]. У період відновлення після дії посухи в рослинах, оброблених $NaHS$, збільшувався вміст розчинних вуглеводів (насамперед трегалози і фруктози) та поліамінів.

Незважаючи на інтенсивне накопичення відомостей про вплив донорів сірководню на функціонування протекторних систем рослин за умов осмотичного та інших стресів, дані про спектр конкретних захисних реакцій, індукованих дією екзогенного H_2S , залишаються досить суперечливими. Зокрема встановлено збільшення під впливом екзогенного сірководню вмісту проліну в проростках кукурудзи і проса, що автори праць [25, 33] розглянули як одну з причин підвищення їх стійкості до іонів кадмію і гіпертермії. Водночас виявлено, що після обробки донором сірководню рослин огірків за умов сольового стресу вміст проліну в них зменшувався [34]. Зниження вмісту проліну за умов посухи під впливом екзогенного сірководню у рослин *Spinace oleracea* зареєстрували й автори праці [4].

Разом із проліном універсальними стресопротекторами вважають флавоноїдні сполуки, які задіяні в антиоксидантному захисті та знешкодженні токсичних речовин [16]. Вплив екзогенного сірководню на вміст флавоноїдів залишається малодослідженим. Так, показано посилення накопичення антоціанів у рослин ячменю за дії донора сірководню за умов ушкоджувального опромінення УФ-В [21]. Підвищувався вміст антоціанів під впливом $NaHS$ і в рослинах капусти [23]. Однак можлива роль індукованого сірководнем накопичення флавоноїдних сполук у стійкості рослин до осмотичного стресу, наскільки нам відомо, спеціально не вивчалась. Досі недостатньо досліджень щодо одночасного оцінювання впливу екзогенного H_2S на вміст низькомолекулярних протекторних сполук і антиоксидантних ферментів, хоча зважаючи на відомості про складну функціональну взаємодію низько- і високомолекулярних антиоксидантів (наприклад, антиоксидантних ферментів і проліну) [2], вони доцільні.

Метою нашої роботи було оцінювання впливу донора сірководню $NaHS$ на стійкість проростків пшениці до осмотичного стресу і функціонування ферментативної антиоксидантної системи та вміст низькомолекулярних протекторів — проліну й антоціанів.

Методика

Експерименти проводили на етіологованих проростках озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Досконала. Насіння незаражували протягом

30 хв 6 %-м розчином перексиду водню й ретельно промивали дистильованою водою.

У варіантах з осмотичним стресом насіння протягом 4 діб пророщували в середовищі 12 %-го розчину ПЕГ 6000 за температури 22 °С [18]. У контрольному варіанті насіння пророщували в дистильованій воді. У варіантах з обробкою донором сірководню свіжоприготовлені розчини NaHS у кінцевих концентраціях 0,1; 0,5; 1 мМ вносили у середовище пророщування насіння в першу і третю доби досліду. Через 4 доби пророщування насіння вимірювали довжину пагонів і коренів, визначали масу проростків, вміст у них води та біохімічні показники.

Біохімічні аналізи виконували з пагонами проростків. Активність антиоксидантних ферментів — цитозольних СОД (КФ 1.15.1.1), каталази (КФ 1.11.1.6) і гваяколпероксидази (КФ 1.11.1.7) — визначали за методами, описаними раніше [15]. Наважки пагонів гомогенізували на холоді в 0,15 М К,Na-фосфатному буфері (рН 7,6) із додаванням ЕДТА (0,1 мМ) і дигітотрейтолу (1 мМ). Аналізували надосадову рідину після центрифугування гомогенату при 8000 g протягом 10 хв за температури ≤ 4 °С. Активність СОД визначали за рН реакційної суміші 7,6 методом, що ґрунтується на здатності ферменту конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніони, які утворюються внаслідок аеробної взаємодії НАДН і феназинметосульфату. Активність каталази оцінювали за кількістю перексиду водню, що розкладався за одиницю часу. Активність гваяколпероксидази аналізували, використовуючи як донор водню гваякол, як субстрат — перексид водню.

Для визначення вмісту антоціанів наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 1 %-му розчині HCl в метанолі [29]. Після центрифугування гомогенату при 8000 g протягом 15 хв вимірювали світлопоглинання надосадової рідини при 530 нм.

Вміст проліну визначали за методом Бейтса і співавт. з використанням нінгідринного реактиву [6].

Перексид водню екстрагували з пагонів, розтертих на льоду, 5 %-м розчином трихлороцтової кислоти (ТХО), проби центрифугували за 8000 g протягом 10 хв при 4 °С, в надосадовій рідині визначали його вміст феротіоціанатним методом із використанням солі Мора й тіоціанату амонію [31].

Для визначення продуктів перексидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (переважно МДА), рослинний матеріал гомогенізували в реакційному середовищі, яке містило 0,25 %-й розчин 2-тіобарбітурової кислоти в 10 %-му розчині ТХО, гомогенат вміщували у киплячу водяну баню на 30 хв. Після цього проби різко охолоджували й центрифугували 20 хв за 8000 g. Оптичну густину надосадової рідини визначали за довжин хвиль 532 нм (максимум світлопоглинання МДА) і 600 нм (для поправки на неспецифічне світлопоглинання) [9].

Досліди проводили у триразовому біологічному повторенні й відтворювали незалежно тричі. На рисунках і в таблиці наведено середні значення та їхні стандартні відхилення. Вірогідність відмінностей між варіантами оцінено за критерієм Стьюдента. Обговорено відмінності, вірогідні за $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення

За звичайних умов обробка гідросульфідом натрію помітно не впливала на ростові показники проростків пшениці та їх біомасу (таблиця). За

Морфометричні показники проростків пшениці

Варіант	Довжина пагона, мм	Довжина кореня, мм	Маса проростка, мг
Нормальне зволоження			
Контроль	47,3±1,1	74,8±1,8	85,0±1,5
NaHS, 0,1 мМ	47,4±1,4	75,0±2,0	84,2±1,6
NaHS, 0,5 мМ	49,0±1,2	72,0±1,5	85,3±1,7
NaHS, 1 мМ	45,5±1,0	69,6±1,9	82,1±2,3
ПЕГ 6000, 12 %			
Контроль	22,0±0,6	57,5±1,5	49,0±1,0
NaHS, 0,1 мМ	28,3±0,8	61,0±1,2	57,9±1,2
NaHS, 0,5 мМ	29,0±0,5	66,7±1,4	58,3±1,3
NaHS, 1 мМ	26,2±0,8	59,6±1,6	55,5±2,0

умов їх росту в середовищі 12 %-го розчину ПЕГ 6000 істотно зменшувались розміри коренів і особливо пагонів, а також біомаса проростків. При цьому за обробки NaHS концентраціями 0,1 і 0,5 мМ помітно ослаблювався інгібувальний вплив осмотично активної речовини на ріст пагонів і накопичення біомаси проростків (див. таблицю). Вірогідний вплив донора сірководню на ріст коренів за осмотичного стресу спостерігався при концентрації 0,5 мМ. За вищої концентрації (1 мМ) позитивна дія NaHS на ріст проростків виявлялася слабкіше.

Обробка донором сірководню істотно не впливала на вміст води у пагонах проростків за нормальних умов (рис. 1). Під впливом ПЕГ 6000 кількість води в органах проростків помітно зменшувалась. За таких умов обробка NaHS концентраціями 0,1 і 0,5 мМ сприяла підтриманню вищого вмісту води у пагонах (див. рис. 1).

Оскільки найпомітніший позитивний вплив на ростові показники проростків за умов осмотичного стресу чинив гідросульфід натрію концентрацією 0,5 мМ, саме її використовували в подальших експериментах зі з'ясування впливу донора H₂S на функціонування протекторних систем.

Обробка проростків NaHS вірогідно не впливала на активність СОД (рис. 2, а). Осмотичний стрес спричинював зниження активності ферменту. За дії ПЕГ 6000 активність СОД під впливом донора сірководню мала тенденцію до підвищення, але цей ефект не був вірогідним за $p \leq 0,05$.

Під дією гідросульфиду натрію активність каталази у проростках пшениці підвищувалася (див. рис. 2, б), а за обробки ПЕГ 6000 — знижувалася. При цьому у варіанті з обробкою ПЕГ 6000 і донором сірководню вона залишалася близькою до контрольного значення.

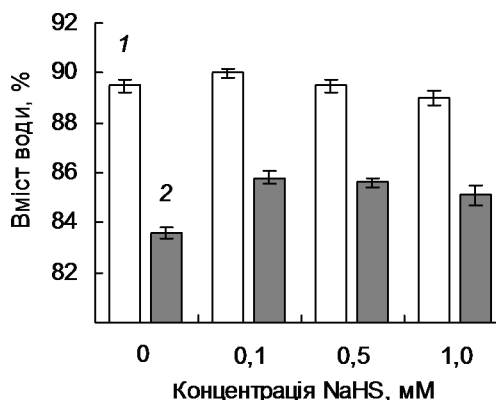


Рис. 1. Вміст води у пагонах проростків пшениці:

1 — нормальне зволоження; 2 — ПЕГ 6000 (12 %)

ВЛИЯНИЕ ДОНОРА СЕРОВОДОРОДА

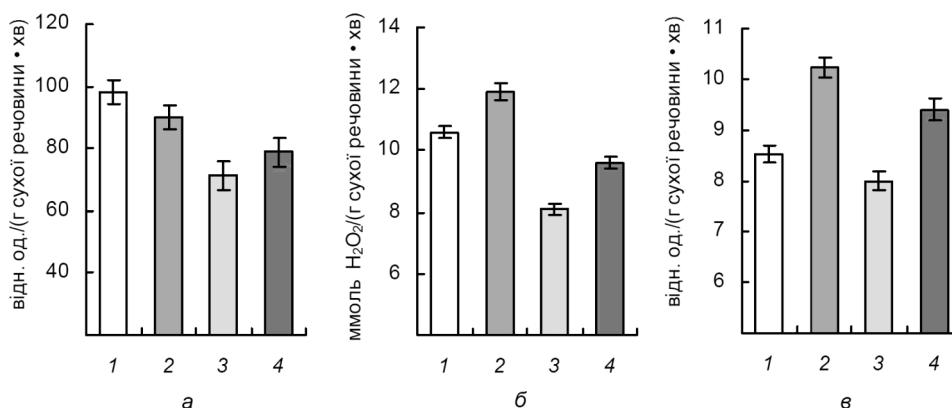


Рис. 2. Активність супероксиддисмутази (а), каталази (б) і гваяколпероксидази (в) у пагонах проростків пшениці. Тут і на рис. 3, 4:

1 – контроль; 2 – NaHS (0,5 мМ); 3 – ПЕГ 6000 (12 %); 4 – NaHS (0,5 мМ) + ПЕГ 6000 (12 %)

Активність гваяколпероксидази у пагонах проростків під впливом донора сірководню зростала (див. рис. 2, в), за умов осмотичного стресу, спричинюваного ПЕГ 6000 — істотно не змінювалась, обробка NaHS сприяла її підвищенню.

За обробки проростків донором H₂S спостерігалось відносно невелике, але вірогідне за $p \leq 0,05$ підвищення вмісту проліну в пагонах (рис. 3, а). Осмотичний стрес спричинював дворазове зростання його кількості. При цьому обробка NaHS приводила до істотного додаткового підвищення вмісту проліну в пагонах.

Вміст антоціанів у проростках пшениці під впливом донора сірководню дещо збільшувався за звичайних умов (див. рис. 3, б), а за дії осмотичного стресу — помітно зменшувався, що може бути зумовлено їх окиснювальною деградацією [1]. При цьому обробка проростків NaHS сприяла стабілізації їх пулу.

Під впливом донора H₂S вміст пероксиду водню в пагонах за нормальних умов дещо зменшувався (рис. 4, а). Осмотичний стрес спричинював зростання його кількості, а обробка проростків NaHS пригнічувала цей ефект.

Вміст МДА у проростках під впливом донора сірководню дещо зростає (див. рис. 4, б). За наявності ПЕГ 6000 кількість продукту ПОЛ у

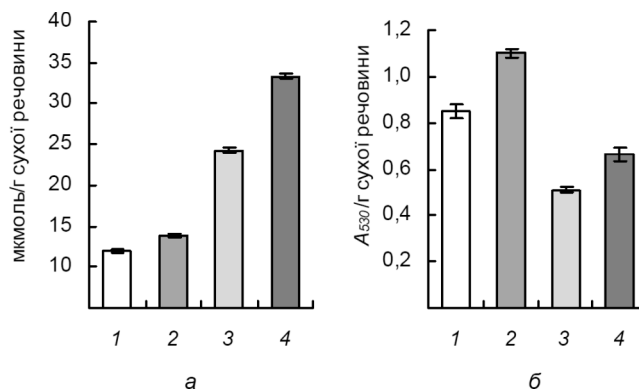


Рис. 3. Вміст проліну (а) й антоціанів (б) у пагонах проростків пшениці

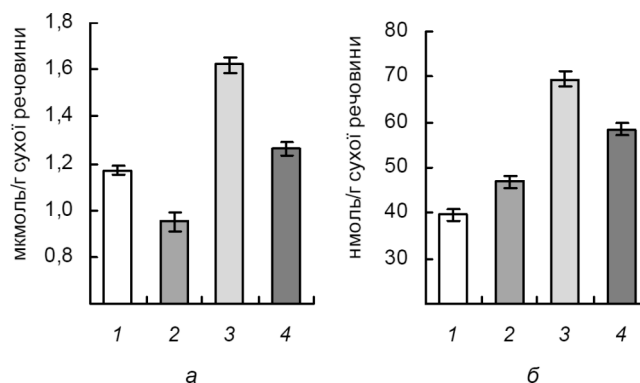


Рис. 4. Вміст перексиду водню (а) і малонового діальдегіду (б) у пагонах проростків пшениці

пагонах істотно збільшувалась, за обробки NaHS накопичення МДА за осмотичного стресу зменшувалось.

Отже, обробка проростків донором сірководню ослаблювала негативний вплив на них осмотичного стресу, спричинюваного ПЕГ 6000. Найпомітнішим ефектом NaHS було збільшення у проростках вмісту проліну (див. рис. 3, а). В іншій роботі показано, що під впливом сірководню кількість цього осмоліту зростала у проростках кукурудзи [25, 26]. Таким ефектом автори пояснили помітне H_2S -індуковане підвищення їх теплостійкості. Водночас, як уже зазначалось, у низці досліджень встановлено зниження вмісту проліну в рослинних тканинах за дії стресорів, що спричинюють осмотичний ефект (засолення, посуха), за попередньої обробки донором сірководню [7, 34].

Очевидно, вплив сірководню на накопичення проліну залежить від видових особливостей рослин і сили стресового впливу. Ймовірно, у наших експериментах за впливу досить жорсткого осмотичного стресу, що спричинював дворазове зменшення накопичення біомаси проростків і значне зниження в них вмісту води, зростання кількості проліну і, можливо, інших низькомолекулярних сполук мало істотне значення для стабілізації фізіологічних процесів. Примітно, що за умов осмотичного стресу під впливом обробки донором сірководню у проростках істотно підвищувався абсолютний вміст води (див. рис. 1). Це добре узгоджується з ефектом зростання вмісту проліну, що виконує функцію осмопротектора. У літературі є відомості про здатність сірководню індукувати накопичення й інших осмолітів, зокрема трегалози, гліцинбетаїну [7, 21].

Як відомо, пролін відіграє роль не лише сумісного осмоліту, а й антиоксиданту і низькомолекулярного шаперону щодо деяких білків [13]. Не виключено, що стабілізація активності каталази і гваяколпероксидази за умов осмотичного стресу в проростках, оброблених донором сірководню (див. рис. 2), зумовлена позитивним впливом на білкові молекули низькомолекулярних протекторів. За обробки донором сірководню у проростках разом із проліном зростав вміст антоціанів (див. рис. 3, б), що активно знешкоджують радикальні АФК, а також хелатують іони металів, які беруть участь у реакціях неферментативного утворення АФК [8]. Водночас відомо, що між низькомолекулярними (насамперед, проліном) і ферментативними антиоксидантами можливі реципрокні відноси-

ни [2]. В умовах наших експериментів на тлі підвищення під впливом донора сірководню вмісту проліну в пагонах не зафіксовано помітного зростання активності СОД (див. рис. 2, *a*). Натомість у праці [34] показано значне підвищення під впливом донора сірководню активності СОД, каталази, пероксидази і глутатіонредуктази з одночасним зменшенням вмісту проліну за умов сольового стресу.

Ймовірно, екзогенний сірководень чинить досить складний вплив на різні компоненти антиоксидантної й осмопротекторної систем. Припускають, що одним із прямих механізмів дії сірководню на стан білків є S-сульфгідрування їхніх тіольних груп [4], однак рослинні білки-мішені, що можуть зазнавати такої модифікації, залишаються практично недослідженими. Водночас молекулярно-генетичними методами доведено роль H_2S у регуляції експресії генів ферментів, що забезпечують підтримання редокс-гомеостазу (СОД, каталаза, ензими метаболізму аскорбату) [20]. Вплив H_2S на активність антиоксидантних ферментів, ймовірно, опосередкований АФК та іонами кальцію, оскільки усувався антиоксидантами, інгібіторами НАДФН-оксидази і хелатором позаклітинного кальцію ЕГТА [17].

Є також дані про позитивний вплив сірководню на експресію гена Δ^1 -піролін-5-карбоксилатсинтази та пригнічення ним експресії гена проліндегідрогенази, що сприяє накопиченню проліну [33]. Механізм впливу сірководню на метаболізм флавоноїдів, у тому числі антоціанів, залишається майже недослідженим. Проте в деяких працях зареєстровано вплив донорів сірководню на динаміку вмісту різних флавоноїдів у капустяних при зберіганні [23] та в рослинах ячменю за дії УФ-В [21]. Вплив донорів сірководню на вміст флавоноїдних сполук за дії посухи на злакові, наскільки нам відомо, досі не досліджений.

Ми виявили помітне зростання під впливом донора сірководню вмісту проліну й антоціанів у проростках пшениці за жорсткого осмотичного стресу. Не виключено, що ці низькомолекулярні антиоксиданти за таких експериментальних умов до певної міри компенсують відсутність істотного зростання активності СОД. У літературі є відомості про характерне для деяких видів рослин накопичення за стресових умов низькомолекулярних протекторів (флавоноїдів, проліну) за відсутності помітного зростання активності антиоксидантних ферментів [30]. Проте питання стосовно механізмів функціональної взаємодії антиоксидантів виходить за межі нашого дослідження.

Загалом можна констатувати, що донор сірководню чинив помітний позитивний вплив на підтримання редокс-гомеостазу в проростках пшениці, про що свідчить, зокрема, значно менше зростання в дослідному варіанті вмісту пероксиду водню і МДА за осмотичного стресу (див. рис. 4). Примітно, що позитивний вплив на активність каталази і гваяколпероксидази, а також на вміст антоціанів і проліну донор H_2S чинив і за відсутності стресора, що може зумовлювати так званий ефект передадаптації — готовності рослинного організму до «зустрічі» зі стресчинником [5]. Водночас за жорсткого осмотичного стресу у варіанті з обробкою проростків пшениці гідросульфідом натрію в них істотно додатково зростає вміст проліну. Ймовірно, донор сірководню чинить складний опосередкований вплив на різні компоненти протекторних систем, ступінь прояву якого може бути неоднаковим на різних стадіях дії стресора.

Публікація містить результати досліджень, проведених за грантом Президента України за конкурсним проектом Ф70/136-2017 Державного фонду фундаментальних досліджень.

1. Загоскина Н.В., Олениченко Н.А., Назаренко Л.В. Влияние кратковременного действия гипотермии на активность антиоксидантных ферментов и содержание фенольных соединений в листьях проростков яровой и озимой пшеницы // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2011. — Вип. 3 (24). — С. 25–34.
2. Колупаев Ю.Е. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений // Успехи соврем. биологии. — 2016. — **136**, № 2. — С. 181–198.
3. Моргунов В.В., Дубровна О.В., Моргунов Б.В. Сучасні біотехнології отримання стійких до стресів рослин пшениці // Физиология растений и генетика. — 2016. — **48**, № 3. — С. 196–214.
4. Остапченко Л.І., Синельник Т.Б., Компанець І.В. Біологічні мембрани та основи внутрішньоклітинної сигналізації. Теоретичні аспекти. — К.: ВПЦ «Київський університет», 2016. — 639 с.
5. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. — Уфа: Гилем, 2001. — 160 с.
6. Bates L.S., Walden R.P., Tear G.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. — 1973. — **39**. — P. 205–210.
7. Chen J., Shang Y.T., Wang W.H. et al. Hydrogen sulfide-mediated polyamines and sugar changes are involved in hydrogen sulfide-induced drought tolerance in *Spinacia oleracea* seedlings // Front. Plant Sci. — 2016. — **7**: 1173. — Doi: 10.3389/fpls.2016.01173
8. Es-Safi N.E., Ghidouche S., Ducrot P.H. Flavonoids: hemisynthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity // Molecules. — 2007. — **12**. — P. 2228–2258.
9. Fazlieva E.R., Kiseleva I.S., Zhuikova T.V. Antioxidant activity in the leaves of *Melilotus albus* and *Trifolium medium* from man-made disturbed habitats in the Middle Urals under the influence of copper // Russ. J. Plant Physiol. — 2012. — **59**. — P. 333–338.
10. Fu P.N., Wang W.J., Hou L.X., Liu X. Hydrogen sulfide is involved in the chilling stress response in *Vitis vinifera* L. // Acta Soc. Bot. Pol. — 2013. — **82**. — P. 295–302.
11. Gadalla M.M., Snyder S.H. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter // J. Neurochem. — 2010. — **113**. — P. 14–26.
12. Hancock J.T., Whiteman M. Hydrogen sulfide and cell signaling: Team player of feferee? // Plant Physiol. Biochem. — 2014. — **78**. — P. 37–42.
13. Islam M.M., Hoque M.A., Okuma E. et al. Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells // J. Plant Physiol. — 2009. — **166**. — P. 1587–1597.
14. Jin Z.P., Shen J.J., Qiao Z.J. et al. Hydrogen sulfide improves drought resistance in *Arabidopsis thaliana* // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2011. — **414**. — P. 481–486.
15. Karpets Yu.V., Kolypaev Yu.E., Lugovaya A.A., Oboznyi A.I. Effect of jasmonic acid on the pro-/antioxidant system of wheat coleoptiles as related to hyperthermia tolerance // Russ. J. Plant Physiol. — 2014. — **61**. — P. 339–346.
16. Khlestkina E.K. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals // Cereal Res. Commun. — 2013. — **41**. — P. 185–198.
17. Kolupaev Yu.E., Firsova E.N., Yastreb T.O., Lugovaya A.A. The participation of calcium ions and reactive oxygen species in the induction of antioxidant enzymes and heat resistance in plant cells by hydrogen sulfide donor // Appl. Biochem. Microbiol. — 2017. — **53**. — P. 573–579.
18. Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Yastreb T.O., Firsova E.N. Protective effect of inhibitors of succinate dehydrogenase on wheat seedlings during osmotic stress // Ibid. — P. 353–358.
19. Lai D.W., Mao Y., Zhou H. et al. Endogenous hydrogen sulfide enhances salt tolerance by coupling the reestablishment of redox homeostasis and preventing salt-induced K⁺ loss in seedlings of *Medicago sativa* // Plant Sci. — 2014. — **225**. — P. 117–129.
20. Li H., Li M., Wei X. et al. Transcriptome analysis of drought responsive genes regulated by hydrogen sulfide in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves // Mol. Genet. Genomics. — 2017. — Doi 10.1007/s00438-017-1330-4.
21. Li Q., Wang Z., Zhao Y. et al. Putrescine protects hullless barley from damage due to UV-B stress via H₂S- and H₂O₂-mediated signaling pathways // Plant Cell Rep. — 2016. — Doi. 10.1007/s00299-016-1952-8.
22. Lisjak M., Teklic T., Wilson I.D. et al. Hydrogen sulfide: environmental factor or signalling molecule? // Plant Cell Environ. — 2013. — **36**. — P. 1607–1616.

23. Li S.P., Hu K.D., Hu L.Y. et al. Hydrogen sulfide alleviates postharvest senescence of broccoli by modulating antioxidant defense and senescence-related gene expression // J. Agric. Food Chem. — 2014. — **62**. — P. 1119–1129.
24. Li Z.G., Luo L.J., Sun Y.F. Signal crosstalk between nitric oxide and hydrogen sulfide may be involved in hydrogen peroxide induced thermotolerance in maize seedlings // Russ. J. Plant Physiol. — 2015. — **62**. — P. 507–514.
25. Li Z.G. Synergistic effect of antioxidant system and osmolyte in hydrogen sulfide and salicylic acid crosstalk-induced heat tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings // Plant Signal. Behav. — 2015. — **10**:9. — e1051278.
26. Li Z.G., Yang S.Z., Long W.B. et al. Hydrogen sulfide may be a novel downstream signal molecule in nitric oxide-induced heat tolerance of maize (*Zea mays* L.) seedlings // Plant Cell Environ. — 2013. — **36**. — P. 1564–1572.
27. Liu J., Zhang H., Yin Y., Chen H. Effects of exogenous hydrogen sulfide on antioxidant metabolism of rice seed germinated under drought stress // J. Southern Agricult. — 2017. — **48**. — P. 31–37.
28. Ma D., Ding H., Wang C. et al. Alleviation of drought stress by hydrogen sulfide is partially related to the abscisic acid signaling pathway in wheat // PLoS One. — 2017. — Doi:10.1371/journal.pone.0163082.
29. Nogues S., Baker N.R. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under UV-B radiation // J. Exp. Bot. — 2000. — **51**. — P. 1309–1317.
30. Radyukina N.L., Toaima V.I.M., Zaripova N.R. The involvement of low-molecular antioxidants in cross-adaptation of medicine plants to successive action of UV-B radiation and salinity // Russ. J. Plant Physiol. — 2012. — **59**. — P. 71–78.
31. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica* // Plant Physiol. — 1976. — **57**. — P. 308–309.
32. Shan C., Zhang S., Zhou Y. Hydrogen sulfide is involved in the regulation of ascorbate-glutathione cycle by exogenous ABA in wheat seedling leaves under osmotic stress // Cereal Res. Commun. — 2017. — **45**. — P. 411–420.
33. Tian B., Qiao Z., Zhang L. et al. Hydrogen sulfide and proline cooperate to alleviate cadmium stress in foxtail millet seedlings // Plant Physiol. Biochem. — 2016. — **109**. — P. 293–299.
34. Yu L., Zhang C., Shang H. et al. Exogenous hydrogen sulfide enhanced antioxidant capacity, amylase activities and salt tolerance of cucumber hypocotyls and radicles // J. Integr. Agricult. — 2013. — **12**. — P. 445–456.
35. Zhang H., Wang M.J., Hu L.Y. et al. Hydrogen sulfide promotes wheat germination under osmotic stress // Russ. J. Plant Physiol. — 2010. — **57**. — P. 532–539.

Отримано 30.11.2017

ВЛИЯНИЕ ДОНОРА СЕРОВОДОРОДА НА СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Ю.Е. Колунаев^{1,2}, Е.Н. Фирсова¹, Н.В. Швиденко¹, Т.О. Ястреб¹

¹Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

Исследовали влияние донора сероводорода гидросульфида натрия (NaHS) на устойчивость этиолированных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к осмотическому стрессу, вызываемому 12 %-м ПЭГ 6000. Обработка NaHS в концентрациях 0,1; 0,5; 1 мМ ослабляла угнетение роста корней и побегов под действием ПЭГ, повышала содержание воды в проростках. Наиболее заметный осмопротекторный эффект донор сероводорода оказывал при концентрации 0,5 мМ. Под его влиянием в обычных условиях и при осмотическом стрессе повышалась активность антиоксидантных ферментов каталазы и гваяколпероксидазы, в то время как активность супероксиддисмутазы существенно не изменялась. Осмотический стресс вызывал двукратное увеличение содержания пролина в побегах проростков, обработка NaHS приводила к дополнительному его повышению. Под влиянием донора сероводорода содержание антоцианов в побегах увеличивалось в обычных условиях и стабилизировалось в стрессовых. Обработка проростков NaHS ослабляла вызываемый действием ПЭГ окислительный стресс, что проявлялось в снижении содержания пероксида водорода и малонового диальдегида (МДА) в проростках. Сделан вывод, что индуцированное донором H₂S повышение устойчивости проростков пшеницы к осмотическому стрессу связано с активизацией антиоксидантной и осмопротекторной систем.

HYDROGEN SULFIDE DONOR INFLUENCE ON STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF WHEAT SEEDLINGS UNDER OSMOTIC STRESS

Yu.E. Kolupaev^{1,2}, K.M. Firsova¹, M.V. Shvidenko¹, T.O. Yastreb¹

¹V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
Township Dokuchaevske-2, Kharkiv, 62483, Ukraine

²V.N. Karazin Kharkiv National University
4 Svoboda Square, Kharkiv, 61022, Ukraine

The hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide (NaHS) influence on resistance of etiolated wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings to osmotic stress caused by 12 % PEG-6000 was investigated. Treatment with NaHS in concentrations 0.1, 0.5 and 1 mM reduced the growth inhibition of roots and shoots under the action of PEG and increased water content in seedlings. The most appreciable osmoprotective action of hydrogen sulfide donor was observed at 0.5 mM concentration. Under its influence at normal conditions and at osmotic stress there was activation of antioxidant enzymes namely catalase and guaiacol peroxidase, while activity of superoxide dismutase did not change significantly. Osmotic stress caused twofold increasing of proline content in shoots of seedlings, treatment with NaHS led to its more enhancing. Under the action of hydrogen sulfide donor the amount of anthocyanins in aboveground part of seedlings have risen at normal conditions and stabilized at stress ones. Seedlings treatment with NaHS leveled the oxidative stress caused by PEG, which evidenced in decreasing of hydrogen peroxide and malonic dialdehyde content in tissues. A conclusion was made that enhancing of resistance of wheat seedlings to osmotic stress, caused by H₂S donor, related to activation of antioxidant and osmoprotective systems.

Key words: *Triticum aestivum* L., hydrogen sulfide, osmotic stress, antioxidant enzymes, proline, anthocyanins.