

УДК 577.175.14 :633.111.1.

СИГНАЛЬНА ФУНКЦІЯ ЦИТОКІНІНУ 6-БЕНЗИЛАМІНОПУРИНУ В РЕАКЦІЇ КЛІТИН МЕЗОФІЛУ *Triticum aestivum* L. НА ГІПЕРТЕРМІЮ

М. М. МУСІЄНКО, В. В. ЖУК, Л. М. БАЦМАНОВА

ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет
імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: zhuk_bas@voliacable.com

Вивчено сигнальну дію 6-бензиламінопурину (БАП) на клітини листкового мезофілу пшениці в умовах гіпертермії. Встановлено, що БАП за дії гіпертермії регулює вміст фотосинтетичних пігментів, пероксиду водню, активність антиоксидантних ензимів – супероксиддисмутази, аскорбатпероксидази, каталази. Продемонстрована адитивна дія БАП та гіпертермії на активацію антиоксидантних систем клітин. БАП регулює відновні процеси в клітинах листкового мезофілу пшениці в умовах високотемпературного стресу.

Ключові слова: 6-бензиламінопурин, гіпертермія, антиоксидантні ензими, хлоропласти, пігменти, пероксид водню, конфокальна мікроскопія, пшениця.

Рослини в природному середовищі нерідко зустрічаються з умовами гіпертермії, яка спричинює порушення динамічної рівноваги між надходженням та утилізацією енергії в процесі фотосинтезу, дестабілізацію метаболізму, деструкцію макромолекул і компартментів клітин. Надлишок теплової енергії спричинює деградацію реакційного центру фотосистеми (ФС) II, що підвищує продукування активного кисню [1, 2]. Функціональний стан фотосинтетичного апарату реєструють за флуоресценцією хлорофілу [3]. Активні форми кисню (АФК) мають коротку тривалість існування, але беруть участь у сигнальній мережі клітини разом із фітогормонами та іншими сполуками. Визначна роль у регуляції рівня АФК належить окисно-відновним процесам [4]. Фотовідновлення кисню в ФС I є головним джерелом супероксиду O_2^- . Сполука АФК – H_2O_2 продукується переважно перетворенням O_2^- за участю супероксиддисмутази (СОД), транспортується на далекі відстані по аквапоринових каналах, виконує функції сигнального месенджера [5]. Як відомо, АФК виконують окисдативну та сигнальну функцію, однак сигнальна функція H_2O_2 в рослинних клітинах вважається значимішою. H_2O_2 , який утворюється у хлоропластах, запускає експресію гена аскорбатпероксидази *APX4*, виконує роль окисно-відновного

сигналу в активації МАП-кіназного (мітоген-активованого протеїнкіназного) сигнального каскаду, фенольних пероксидаз, каталази, фосфатази [6]. Основним утилізатором H_2O_2 у хлоропластах є аскорбатпероксидаза, яка локалізована в мембрані тилакоїдів і стромі. Однак сигнальні функції АФК в адаптації фотосинтетичного апарату до абіотичних стресів досліджені частково для модельних систем і об'єктів.

В останні роки, після відкриття акцепторів цитокінінів у рослин, інтерес до дослідження їхньої сигнальної функції значно зріс [7, 8]. Встановлено, що цитокініни регулюють біогенез хлоропластів, синтез пігментів, затримують процеси старіння [9]. Показана участь 6-бензиламінопурину (БАП) у гальмуванні активності хлорофілази, затримці деградації хлоропластів, їх поліпептидів, підвищенні активності аскорбатпероксидази і каталази [10]. У попередніх дослідженнях нами виявлено, що за дії БАП стабілізувалась структура хлоропластів клітин мезофілу ярих злаків, затримувалась деструкція пігментів, старіння листкових пластинок, особливо в умовах посухи [11–13]. Однак функціональну здатність реакційних центрів ФС у живих хлоропластах дозволяє характеризувати лише інтенсивність їх флуоресценції [14]. Розвиток методу конфокальної лазерної мікроскопії протягом

останнього десятиліття дозволив досліджувати інтактні хлоропласти живих клітин вегетативних мікроспор, листків *Arabidopsis thaliana*, *Populus tremula*, що старіють [15–17]. Вивчення флуоресценції клітин мезофілу листка пшениці методом конфокальної мікроскопії досі не проводилося.

Мета роботи – дослідження дії синтетичного цитокініну БАП в умовах гіпертермії на пігментний комплекс, антиоксидантну систему, флуоресценцію хлорофілу клітин мезофілу листка пшениці.

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були рослини озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Столична (оригінація ННЦ «Інститут землеробства НААН», різновид еритроспермум, лісостепового еко типу, оптимальна температура вирощування 20–25 °С, вище 30 °С – стрес), яку вирощували в умовах водної культури протягом 14 діб, після чого рослини дослідних варіантів було оброблено шляхом обприскування 10^{-4} М водним розчином БАП (Sigma, США). Групи оброблених і необроблених БАП рослин було поділено на дві частини, одну з яких прогрівали в повітряному термостаті при температурі 45 °С протягом 3 год. Контролем були рослини, яких вирощували при температурі 22 °С і не обробляли БАП. Через одну, дві та три доби після дії високої температури та БАП відбирали зразки тканин першого листка для визначення вмісту пігментів, H_2O_2 , активності ферментів. Пігменти з рослинного матеріалу екстрагували 96%-им етанолом і визначали за методом Ліхтеналера [18], протохлорофіли за Броуерс і Міхель-Вольверз [19].

Для дослідження клітин листового мезофілу пшениці зрізів листків товщиною 40–50 мкм був використаний лазерний конфокальний мікроскоп LSM510 META (Carl Zeiss, Німеччина) з використанням об'єктиву LD Plan-Neofluor 40x/0,6 Corr [20]. Збудження флуоресценції хлорофілу відбувалось за довжини хвилі 543 нм, емісію від хлорофілу реєстрували в діапазоні від 560 до 700 нм. Результати досліджень обробляли за допомогою програми Zeiss LSM Image Browser.

Визначення вмісту ендogenous пероксиду водню (H_2O_2) проводили після гомогенізації зразків з 50 мМ калій-фосфатним буфером

(рН 6,5) (KOH, K_2HPO_4 , МАКРОХІМ, Росія) та центрифугування при 6000 г протягом 25 хв. До супернатанту додавали 0,1%-й розчин сульфату титану ($Ti_2(SO_4)_3$) у 20%-му розчині H_2SO_4 (Sigma-Aldrich, США). Абсорбцію жовтого комплексу вимірювали за 410 нм [21]. Результати виражали в мкмоль H_2O_2 /г сирової маси.

Дослідження активності антиоксидантних ферментів проводили після гомогенізації рослинного матеріалу в калій-фосфатному буфері (рН 7,0) на холоді [22]. Гомогенат центрифугували 20 хв при 12 000 г і температурі 4 °С. Визначення активності аскорбатпероксидази (1.11.1.11) проводили за методом Накано і Асада [23]. Реакційна суміш містила 50 мМ калій-фосфатний буфер (рН 7,0), 0,5 мМ аскорбат (МАКРОХІМ, Росія) і для запуску реакції 0,1 мМ H_2O_2 (МАКРОХІМ, Росія). Зміну абсорбції аскорбату вимірювали за 290 нм, активність АПО виражали в мкмоль H_2O_2 /хв·г. Активність СОД (1.15.1.1) визначали після додавання до супернатанту 0,9 мкМ розчину рибофлавіну (Sigma-Aldrich, США), 9,9 мМ розчину L-метіоніну (МАКРОХІМ, Росія) і 57 мкМ розчину нітросинього тетразолію (НСТ) (MERCK, Німеччина) [24]. Абсорбцію синього комплексу вимірювали за довжини хвилі 560 нм після експозиції на світлі проти темного контролю. Активність СОД виражали в умовних одиницях (ум. од.), які визначали як кількість ферменту, що спричинює 50%-не інгібування швидкості відновлення НСТ за 560 нм. Для визначення активності каталази (1.11.1.6) до супернатанту додавали 50 мМ калій-фосфатний буфер (рН 7,0), реакцію запускали додаванням 0,03%-го H_2O_2 [25]. Зміну абсорбції розчину вимірювали за довжини хвилі 240 нм. Активність каталази виражали в нмоль H_2O_2 /хв·г.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel. На рисунках представлено середнє і довірчий інтервал. Для оцінки різниці показників використовували *t*-критерій Стюдента. Різницю вважали вірогідною за $P \leq 0,05$.

Результати та обговорення

Сигнальна мережа рослинного організму здійснює управління ендogenous метаболізмом та забезпечує адаптацію до зміни умов середовища. Гіпертермія, як й інші абіотичні чинники середовища, здатна спричинити оксидативний стрес [2]. Нами встановлено, що зміни ендogenous

генного вмісту H_2O_2 в клітинах мезофілу в контрольному варіанті були незначними (рис. 1). За високотемпературного стресу вміст H_2O_2 збільшується протягом першої доби його дії у 1,5 раза, однак протягом трьох діб він зменшується до рівня контролю. БАП підвищує ендogenous концентрацію H_2O_2 за рахунок стимуляції фотосинтетичних процесів, які є головними продуцентами АФК і виконують сигнальні функції [1]. Дія БАП в умовах гіпертермії посилює продукування H_2O_2 порівняно зі значеннями контролю і дії температури, однак воно залишалось на рівні дії одного БАП.

У регулюванні вмісту АФК задіяний комплекс ензимів, в якому ключовим є СОД. Визначення активності СОД у клітинах мезофілу показало, що найнижчою вона була в листках рослин контрольного варіанта (рис. 2). За гіпертермії активність СОД на другу добу відновного періоду підвищується у 1,4 раза. Після дії БАП активність СОД зростала вдвічі протягом двох діб, що могло бути обумовлено посиленням захисту ФС. Найбільшу активність СОД, яка 5-разово перевищувала значення контролю, відзначено за спільної дії БАП і гіпертермії. Як відомо, СОД належить до субстратіндуцибельних ензимів, активність яких регулюється продукуванням O_2^- переважно в процесах енергообміну у фотосинтезі [1].

Утилізатором H_2O_2 у хлоропластах є аскорбатпероксидаза [4]. Активність її в контролі залишалась на стабільному рівні (рис. 3). За високої температури активність аскорбатпероксидази зменшується вдвічі порівняно з контролем, і не змінюється протягом трьох діб.

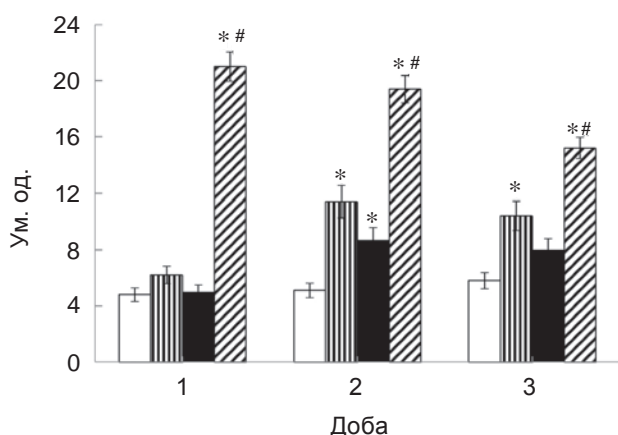


Рис. 2. Активність СОД в першому листку пшениці за дії БАП та гіпертермії

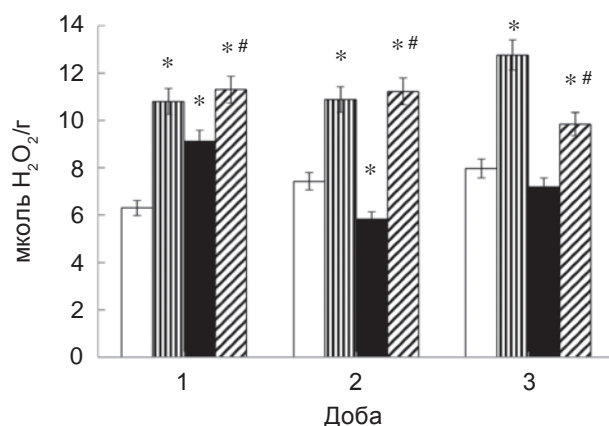


Рис. 1. Вміст ендogenous H_2O_2 у фотосинтетичних тканинах першого листка пшениці за дії БАП та гіпертермії. Тут і на рис. 2–4 та 6: □ – контроль, ▨ – БАП, ■ – прогрів, ▩ – БАП+прогрів. *Тут і в наступних рисунках позначена статистично вірогідна різниця порівняно з контрольним варіантом ($P \leq 0,05$), # вірогідна різниця порівняно з показниками за дії гіпертермії ($P \leq 0,05$)

Екзогенний БАП підвищував її активність на третину в умовах оптимальної температури, що обумовлено зростанням продукування H_2O_2 СОД. За гіпертермії і БАП активність аскорбатпероксидази зменшується протягом доби у 1,4 раза, однак у наступний період вона зростає до рівня контролю. Аскорбатпероксидаза зменшує кількість ендogenous H_2O_2 .

Деструктивні процеси спричиняють накопичення в пероксидах H_2O_2 , який утилізується каталазою [5]. Гіпертермія спричиняє розвиток деструктивних процесів, що підвищує рівень

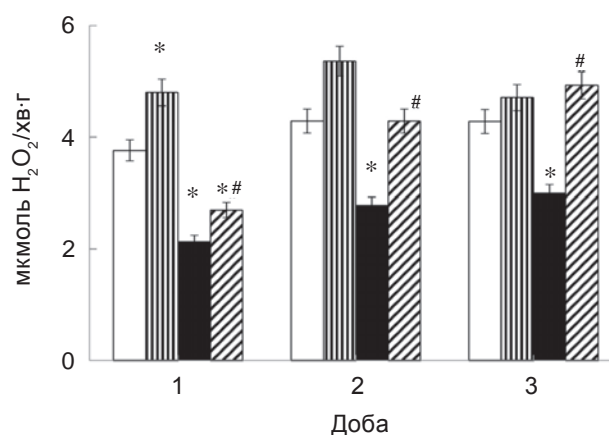


Рис. 3. Активність аскорбатпероксидази в першому листку пшениці за дії БАП та гіпертермії.

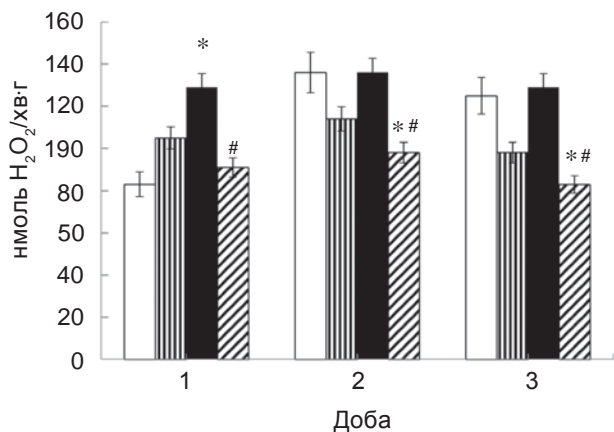


Рис. 4. Активність каталази в першому листку пшениці за дії БАП та гіпертермії

активності каталази впродовж трьох діб (в 1,5 раза протягом першої доби) (рис. 4). Дія БАП зменшувала активність каталази у 1,3 раза після гіпертермії. Зміни активності каталази можуть бути пов'язані з рівнем продукування H₂O₂ в клітині.

За допомогою методу конфокальної лазерної мікроскопії нами встановлено, що активна флуоресценція хлорофілу інтактних хлоропластів рослин контрольного варіанта відзначена в стовпчастому мезофілі і дещо нижча – у губчастому мезофілі (рис. 5). Більшість хлоропластів, які виявили флуоресценцію, локалізується по периферії клітин мезофілу. Після дії високої температури на рослини

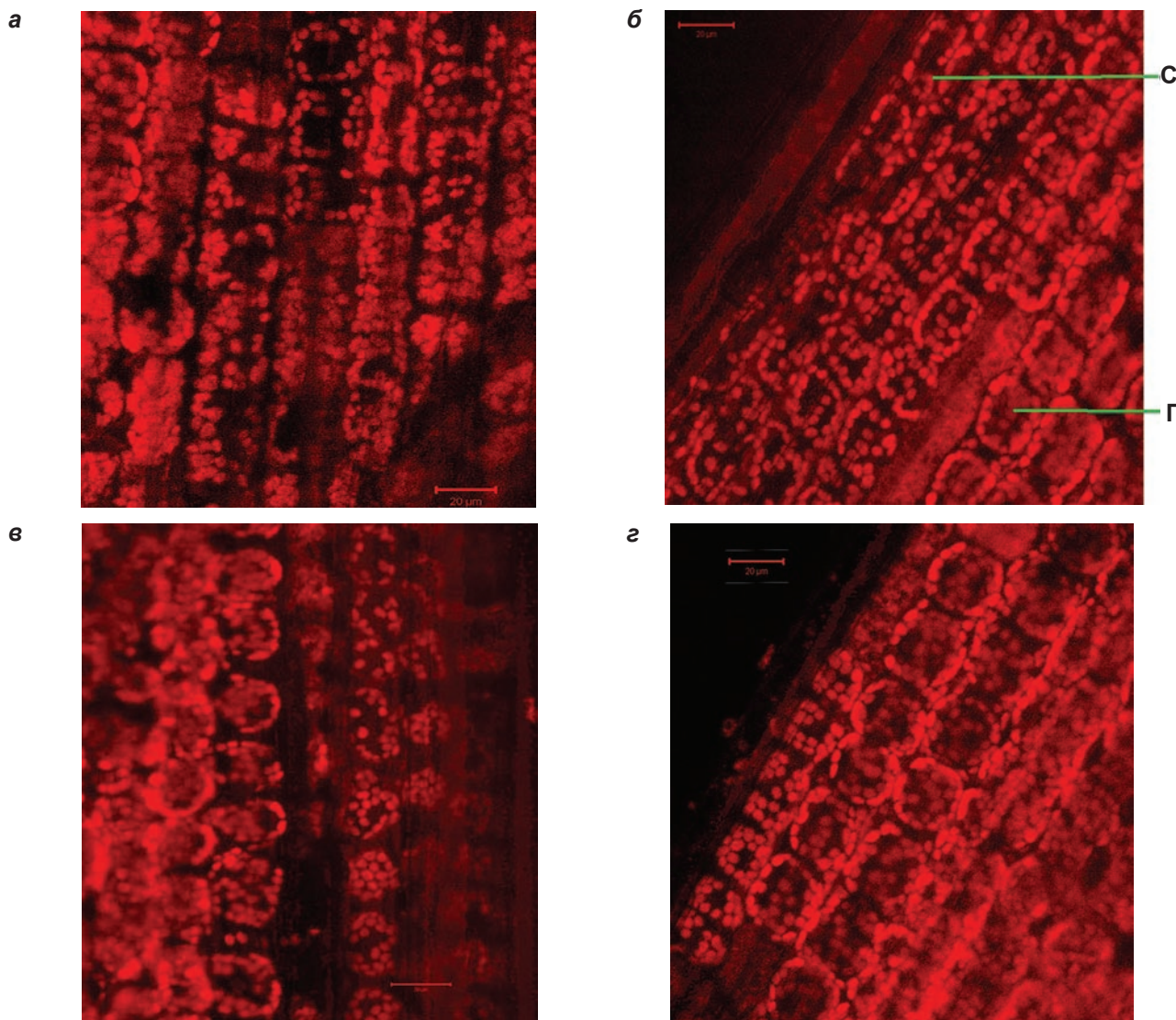


Рис. 5. Флуоресценція хлоропластів клітин мезофілу пшениці за дії БАП та гіпертермії: а – контроль, оптимальні умови, б – БАП, в – після прогріву, г – БАП + прогрів, С – стовпчастий мезофіл, Г – губчастий мезофіл, шкала – 20 мкм

пшениці флуоресценція хлоропластів клітин губчастого мезофілу порівняно із стовпчастим зменшувалась істотноше. Після дії БАП виявлено перерозподіл хлоропластів у клітинах стовпчастого мезофілу і локалізацію функціональних хлоропластів поблизу клітинної оболонки. Хлоропласти клітин губчастого мезофілу розташовувались у клітині дифузно. БАП затримував деструктивні процеси у пігментному комплексі за дії гіпертермії. Аналогічний зв'язок між інтенсивністю червоної флуоресценції хлоропластів та станом пігментних комплексів виявлено також в листках *Arabidopsis* та *Populus tremula* [16, 17]. Показано, що в період старіння листової пластинки у *Populus tremula* паралельно відбувались зміни вмісту пігментів та інтенсивності флуоресценції хлоропластів [17]. Регуляція утворення пігментів вважається однією з головних функцій цитокінінів, особливо в умовах дії стресів [9].

Хлорофіл *a* є головним пігментом реакційних центрів фотосистем. За оптимальної температури вміст його в листках пшениці підтримується на одному рівні (рис. 6, А). БАП стимулює утворення хлорофілу *a* і підвищує його вміст у 1,3 рази на першу добу після обробки. За дії гіпертермії та БАП вміст хлорофілу *a* вище, ніж після дії тільки гіпертермії в 1,2 рази.

Після дії гіпертермії вміст хлорофілу *b* не змінюється протягом 3 діб (рис. 6, Б). За дії БАП кількість хлорофілу *b* в оптимальних та стресових умовах збільшувалась у 1,5–1,7 рази. Хлорофіл *b* локалізований переважно в антенних комплексах ФС I та ФС II і виконує функцію уловлювання та передачі світлової енергії до хлорофілу *a*. Дія БАП затримувала деструктивні процеси в першому листку пшениці, що було виявлено також іншими дослідниками на прикладі відокремлених листків пшениці [10].

Гіпертермія стимулювала відновні процеси і збільшувала вміст протохлорофілу у

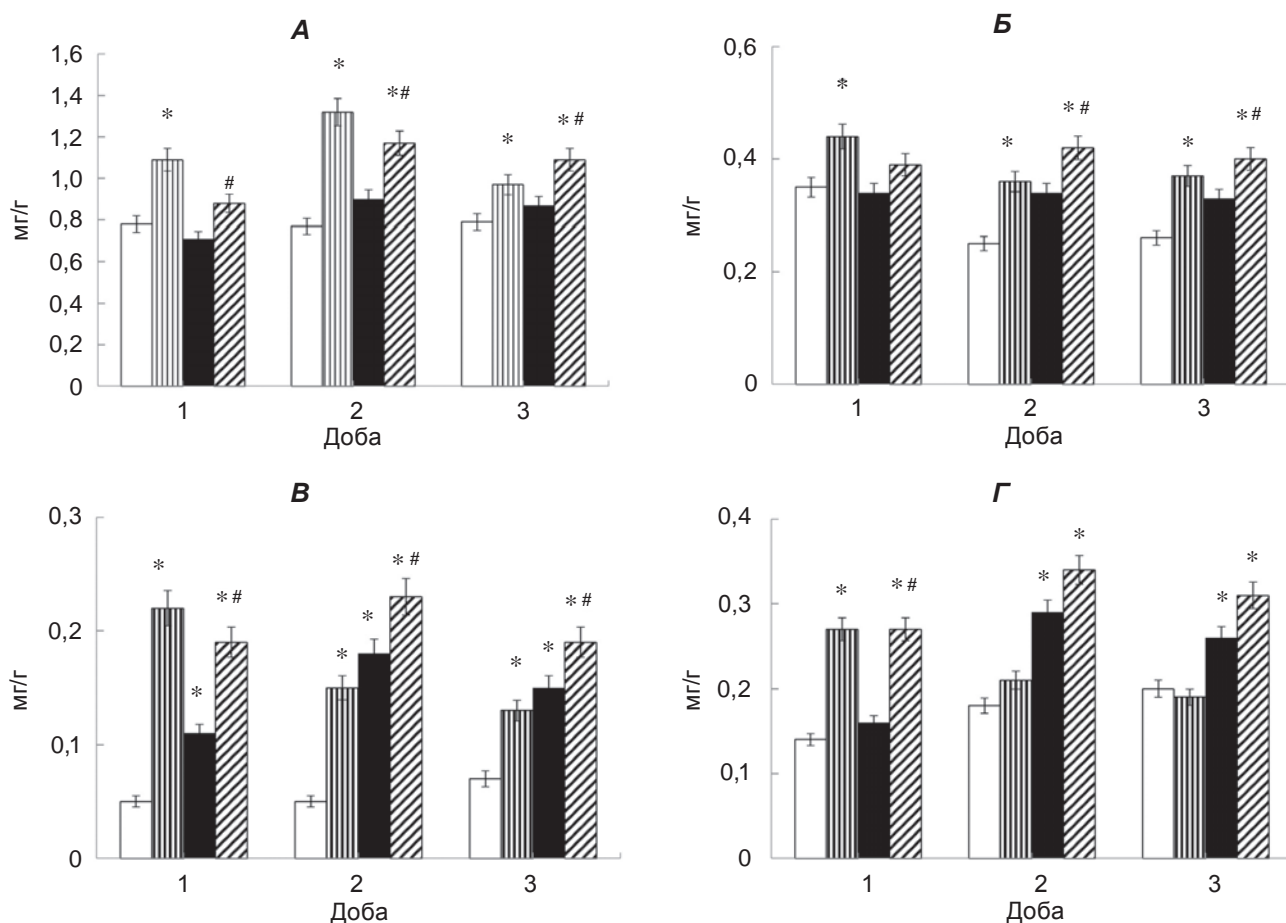


Рис. 6. Вміст хлорофілу *a*, *b*, протохлорофілу і каротиноїдів у першому листку пшениці за дії БАП та гіпертермії (А – хлорофіл *a*, Б – хлорофіл *b*, В – протохлорофіл, Г – каротиноїди)

2–3 рази (рис. 6, В). БАП посилював утворення протохлорофілу протягом доби у 4 рази, однак в оптимальних умовах росту рослин його кількість швидко зменшувалась. За дії високої температури і БАП кількість протохлорофілу у відновний період зростала.

Каротиноїди беруть участь у дисипації енергії, входять до світлозбиральних комплексів хлоропластів, виконують антиоксидантні функції. Гіпертермія підвищувала кількість каротиноїдів у 1,5 раза на 2–3-тю добу післястрессового періоду (рис. 6, Г). Дія БАП підвищувала вміст каротиноїдів у 2 рази лише протягом першої доби, після чого їх рівень зменшувався. Дія високої температури та БАП підвищувала вміст каротиноїдів у 1,5 раза на 1-шу добу порівняно з дією прогріву. Паралельне збільшення вмісту каротиноїдів і хлорофілів може бути обумовлено зростанням кількості хлоропластів або їхніх структурних складових у клітинах мезофілу.

Цитокініни в рослинах виконують сигнальні функції, які спрямовані, зокрема, на стабілізацію фотосинтетичного апарату, затримку процесів старіння, регуляцію транспорту асимілятів, розвитку провідної системи. Вони взаємодіють у сигнальній мережі рослин з АФК у забезпеченні функціонування рослинної клітини в нестабільних умовах навколишнього середовища [2]. Екзогенний цитокінін БАП легко включається в пул ендogenous цитокінінів і здатен до виконання всіх властивих їм функцій. Проведене нами дослідження дії цитокініну БАП за умов гіпертермії показало його здатність стимулювати антиоксидантний ензимний комплекс, регулювати ендogenous вміст АФК, підвищувати вміст пігментів у клітинах листового мезофілу пшениці.

Вперше використаний нами метод конфокальної лазерної мікроскопії для дослідження живих клітин мезофілу листка пшениці дозволив продемонструвати локалізацію функціональних інтактних хлоропластів усередині клітин. Результати па-

ралельного дослідження динаміки вмісту H_2O_2 , активності ключових антиоксидантних ензимів та комплексу пігментів за дії БАП та гіпертермії вказують на взаємодію сигнальної мережі цитокінінів і АФК, яка бере участь у формуванні відповіді рослинної клітини на гіпертермію.

Показано, що БАП здійснює сигнальну функцію в умовах гіпертермії, яка виявляється шляхом активації антиоксидантного ензиму СОД, регуляції рівня ендogenous H_2O_2 , зменшення деструктивної дії високотемпературного стресу на фотосинтетичний комплекс листків інтактних рослин пшениці.

СИГНАЛЬНА ФУНКЦІЯ ЦИТОКИНИНА 6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА В РЕАКЦІИ КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА *Triticum aestivum* L. НА ГИПЕРТЕРМИЮ

Н. Н. Мусиенко, В. В. Жук, Л. М. Бацманова

ННЦ «Институт биологии», Киевский
национальный университет имени
Тараса Шевченко, Украина;
e-mail: zhuk_bas@voliacable.com

Изучено сигнальное действие 6-бензиламинопурина (БАП) на клетки листового мезофилла пшеницы в условиях гипертермии. Установлено, что БАП при гипертермии регулирует содержание фотосинтетических пигментов, пероксида водорода, активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, аскорбатпероксидазы, каталазы. Продемонстрировано аддитивное действие БАП и гипертермии на активацию антиоксидантных систем клеток. БАП регулирует восстановительные процессы в клетках листового мезофилла в условиях высокотемпературного стресса.

Ключевые слова: 6-бензиламинопурина, гипертермия, антиоксидантные ферменты, хлоропласты, пигменты, пероксид водорода, конфокальная микроскопия, пшеница.

SIGNAL FUNCTION OF CYTOKININ 6-BENZYLAMINOPURINE IN THE REACTION OF *Triticum aestivum* L. MESOPHYLL CELLS TO HYPERTHERMIA

M. M. Musienko, V. V. Zhuk,
L. M. Batsmanova

ESC Institute of Biology, Taras Shevchenko
National University of Kyiv, Ukraine;
e-mail: zhuk_bas@voliacable.com

The signaling effect of 6-benzylaminopurine (BAP) on leaf mesophyll cells of *Triticum aestivum* L. under hyperthermic conditions was studied. It was found that BAP regulated photosynthetic pigment, hydrogen peroxide content and activity of antioxidant enzymes, namely superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and catalase under high-temperature conditions. The additive effect of BAP and high temperature on the activation of cell antioxidant systems was demonstrated. BAP regulated reducing processes in mesophyll leaf cells under high-temperature conditions.

Key words: 6-benzylaminopurine, high temperature, chloroplasts, pigments, hydrogen peroxide, antioxidant enzymes, confocal microscopy, wheat.

References

1. Foyer Ch. H., Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation and practical implications. *Antioxid. Redox Signal.* 2009;11(4):861-905.
2. Suzuki N., Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction. *Physiol. Plant.* 2006;126:45-51.
3. Baker N. L. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Ann. Rev. Plant Biol.* 2008;59:89-113.
4. Foyer Ch. H., Noctor G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. *Plant Physiol.* 2011;155:2-18.
5. Hung S.-H., Yu Ch.-W., Lin Ch. Y. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 2005;46:1-10.
6. Chiang Y. H., Zubo Y. O., Tapken W., Kim H. J., Lavanway A. M., Howard L., Pilon M., Kieber J. J., Schaller G. E. Functional characterization of the GATA transcription factors GNC and CGA1 reveals their key role in chloroplast development, growth and division in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2012;160:332-348.
7. Argueso C. T., Raines T., Kieber J. J. Cytokinin signaling and transcriptional networks. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2010;13:533-539.
8. Kolysnyk A., Musienko N. The use of different biological tests to study cytokinin activity of pyridine N-oxides. *Eur. Appl. Sci.* 2013;(1-2):5-8.
9. Zubo Y. O., Yamburenko M. V., Selivankina S. Y., Shakirova F. M., Avalbaev A. M., Kudryakova N. V., Zubkova N. K., Liere K., Kulaeva O. N., Kusnetsov V. V., Börner T. Cytokinin stimulates chloroplast transcription in detached barley leaves. *Plant Physiol.* 2008;148:1082-1093.
10. Zavaleta-Mancera H. A., López-Delgado H., Loza-Tavera H., Mora-Herrera M., Trevilla-García C., Vargas-Suárez M., Ougham H. Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence. *J. Plant Physiol.* 2007;164:1572-1582.
11. Musienko M., Zhuk V. Effect of exogenous cytokinin on wheat tolerance under drought conditions. *Bull. Agricult. Sci.* 2011;695(3):34-36. (In Ukrainian).
12. Zhuk V., Musienko M. The application of natural cytokinines analog for decreasing negative effect of water deficit on cereals productivity. *Agroecol. Zhurn.* 2011;(Spec. Issue):60-62 (In Ukrainian).
13. Zhuk V. V., Musienko M. M. The structure of cell chloroplasts of spring cereals. *Modern Phytomorphol.* 2012;2:137-139.
14. Buschman C., Landsdorf G., Lichtenthaler H. K. Imaging of the blue, green and red fluorescence emission of plants: an overview. *Photosynthetica.* 2000;38(4):483-491.
15. Roshchina V. V., Yashin V. A., Kononov A. V. Autofluorescence of developing plant vegetative microspores studied by confocal microscopy and microspectrofluorimetry. *J. Fluoresc.* 2004;14(6):745-750.
16. Christ B., Schelbert S., Aubry S., Süßenbacher I., Müller T., Kräutler B., Hörtensteiner S. MES16, a member of the methyltransferase protein family, specifically demethylates fluorescent chlorophyll catabolites during chlorophyll breakdown in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2012;158:628-641.

17. Keskitalo J., Bergquist G., Gardestrom P., Jansson S. A cellular timetable of autumn senescence. *Plant Physiol.* 2005;139:1635-1648.
18. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 1987;148:350-382.
19. Brouers M., Michel-Wolwertz M.-R. Estimation of protochlorophyll(ide) contents in plants in plant extracts: re-evaluation of molar absorption coefficient of protochlorophyll(ide). *Photosynth. Res.* 1983;4:265-270.
20. Wymer C. L., Beven A. F., Boudonck K., Lloyd G. W. Confocal microscopy of plant cells. *Methods Mol. Biol.* 1999;122:103-130.
21. Chen L.-M., Kao C.-H. Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 1999;40:283-287.
22. Rios-Gonzalez K., Erdei L., Lips S. H. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. *Plant Sci.* 2002;162:923-930.
23. Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 1981;22(5):867-880.
24. Beyer W. F. Jr., Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochim.* 1987;161:559-566.
25. Upadhyaya A., Sankhla D., Davis T. D., Sankhla N., Smith B. N. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *J. Plant Physiol.* 1985;121:453-461.

Отримано 22.11.2013