

УДК 577.25 + 577.164.2 + 577.204

ЗАГАЛЬНА РЕДУКУЮЧА СПРОМОЖНІСТЬ РОСЛИН *ARABIDOPSIS THALIANA* ЗА ДІЇ СОЛЬОВОГО СТРЕСУ

І.М. БУЗДУГА, Т.А. ЗАВОРОТНА, Н.О. ДІДЕНКО, І.І. ПАНЧУК*

Кафедра молекулярної генетики та біотехнології,
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського 2, м. Чернівці, 58012
*e-mail: i.panchuk@chnu.edu.ua

Засолення ґрунту є одним із найбільш розповсюджених абіотичних стресових факторів. Сольовий стрес у рослин призводить до виникнення вторинного оксидативного стресу, який є наслідком підвищеної генерації активних форм кисню (АФК). Захист від оксидативного стресу забезпечує антиоксидантна система, яка складається з ферментів та низькомолекулярних антиоксидантів. Сукупність антиоксидантних сполук, визначає загальну редукуючу спроможність (ЗРС) рослинної клітини. Участь цих сполук у регуляції окисно-відновного балансу клітини за умов гострого сольового стресу досі вивчена лише фрагментарно. Тому, в цій роботі досліджено вплив різних концентрацій хлориду натрію – 50, 100 та 200 мМ – на ЗРС у рослин арабідопсису. Для цього використано рослини *A. thaliana* віком 4,5 – 5 тижнів, які росли у ґрунті. Наземну частину рослин відокремлювали від кореневої системи і місце зрізу занурювали в рідке поживне середовище Мурасіге-Скуга (0,5x MS), що додатково містило хлорид натрію у концентраціях 50, 100 та 200 мМ. Після 4-годинної обробки присутність у середовищі 50 мМ хлориду натрію призводила до 10 кратного зростання вмісту іонів Na^+ в листках. Підвищення концентрації натрію в інкубаційному середовищі до 100 та 200 мМ зумовлювало ще більше накопичення цих іонів у рослині – у 20 та 28 разів, відповідно, порівняно з контролем. При цьому збільшення часу інкубації до 8 годин не спричиняло подальшого зростання концентрації іонів Na^+ в рослинах. Встановлено, що обробка протягом 4 годин з використанням 50 мМ NaCl призводила підвищення ЗРС на 22%. Проте з підвищенням концентрації солі до 100 та 200 мМ ЗРС знижувалася на 24 – 25% нижче від контрольного рівня. Зменшення рівня ЗРС спостерігалось і за 8-годинної обробки. Таким чином, інкубація рослин протягом 4 годин в присутності 50 мМ розчину активує у листках арабідопсису синтез низькомолекулярних антиоксидантів, що призводить до тимчасового зростання ЗРС вище, ніж у контрольних рослин. Проте зі збільшенням інтенсивності та/або тривалості стресової обробки значення ЗРС падають нижче від контрольного рівня. Отримані дані дозволяють припустити, що гострий сольовий стрес вже на ранніх етапах дії викликає поступове виснаження пулу низькомолекулярних антиоксидантів.

Ключові слова: загальна редукуюча спроможність (ЗРС), антиоксиданти, активні форми кисню (АФК), сольовий стрес, *Arabidopsis thaliana*.

Вступ. Засолення ґрунту є одним із найпоширеніших абіотичних стресових факторів, оскільки понад 20% зрошувальних земель у світі страждають від цієї проблеми (Ahmad et al., 2012; Deinlein et al., 2014; Gupta et al., 2014). Накопичення солей (насамперед хлориду натрію) в рослинному організмі призводить до порушення осмотичного та іонного гомеостазу (Begsu et al., 2011; Farmer et al., 2013; Sharma et al., 2012). Відповідь рослин на сольовий стрес включає зміни багатьох метаболічних процесів (Sharma et al., 2012; Ху Лиу, 2008; Aghaleh et al., 2009). Зокрема, сольовий стрес призводить до виникнення вторинного оксидативного стресу, який є наслідком підвищеної генерації активних форм кисню (АФК) (Caverzan et al., 2016; Nabibi,

2014; Scandalios et al., 2002; Scandalios et al., 2005). Зростання вмісту АФК в рослинних клітинах викликає окислення вільних сульфгідрильних груп та утворення карбонільних груп у молекулах білків, а також ушкодження клітинних мембран як наслідок активації перекисного окислення ліпідів (Wang, Apel, 2015). Крім того, що АФК мають пошкоджуючу дію, вони можуть виступати у ролі сигнальних молекул, які активують захисну відповідь (Reczek, Chandel, 2015).

Захист від оксидативного стресу у рослин забезпечує антиоксидантна система, що складається з ферментів (каталази, супероксиддисмутази, пероксидази, ферменти аскорбат-глутатіонового циклу тощо) та

низькомолекулярних антиоксидантів (аскорбату, глутатіону, поліфенолів, каротиноїдів, токоферолів та ін.), які можуть або неензиматично знешкоджувати АФК, або виконувати роль субстратів для антиоксидантних ферментів (Ahmad et al., 2012; Deinlein et al., 2014; Gupta et al., 2014; Foyer et al., 2011; Abogadallah, 2010; Munns, Tester, 2008).

Серед низькомолекулярних водорозчинних антиоксидантів особливу увагу привертає аскорбат, який є субстратом аскорбат пероксидази, наявної в багатьох компартментах рослинної клітини (Ahmad et al., 2010; Foyer et al., 2011; Chen et al., 2004). Окрім того, аскорбат неензиматично знешкоджує АФК, відповідає за відновлення α -токоферольного радикалу та виконує низку інших важливих функцій (Das et al., 2014; Foyer et al. 2011; Ahmad et al., 2008).

Глутатіон – інший водорозчинний антиоксидант, який безпосередньо взаємодіє з АФК, бере участь у реакціях, пов'язаних з окисненням/відновленням сульфгідрильних груп та є субстратом таких ферментів, як глутатіон-S-трансфераза, моно- та дигідроаскорбат редуктази, глутатіон пероксидаза та ін. (Foyer, Noctor, 2011; Ahmad et al., 2010).

Сукупність низькомолекулярних антиоксидантних сполук, основні з яких аскорбат та глутатіон, визначає загальну редукуючу спроможність (ЗРС) рослинної клітини. Участь таких сполук у регуляції окисно-відновного балансу клітини за умов гострого сольового стресу все ще залишається вивченою лише фрагментарно. Тому, в цій роботі оцінено ЗРС у листках арабідопсису, що зазнали впливу різних концентрацій хлориду натрію.

Об'єкти та методи дослідження. Для дослідження впливу хлориду натрію використовували рослини *A. thaliana* еко типу Columbia 0 віком 4,5-5 тижнів, що росли у ґрунті. Рослини вирощували за сталої температури +20°C, в умовах 16-годинного світлового дня, освітленні 2000 Лк та відносної вологості повітря 60 – 70 %.

Для того, щоб отримати інформацію про ранню стадію стресової відповіді та з'ясувати первинні реакції рослинної клітини на дію підвищених концентрацій хлориду натрію обробку рослин проводили за умов, які забезпечують його швидке надходження до тканин листків. Тому, для проведення стресової обробки наземну частину рослин відокремлювали від кореневої системи і місце зрізу занурювали в рідке поживне середовище Мурасіге-Скуга (0,5x MS), що додатково містило хлорид натрію у концентраціях 50, 100 та 200 мМ. Після цього зразки інкубували у темряві за

температури 20°C протягом 4 та 8 годин. Концентрацію хлориду натрію та час обробки підбирали у попередніх експериментах. Контрольні рослини інкубували на середовищі 0,5x MS без додавання хлориду натрію. Як додатковий контроль використовували інтактні рослини, які заморожували у рідкому азоті безпосередньо після зрізання.

Для визначення вмісту іонів натрію проводили «мокре» озолення рослинного матеріалу. Для цього, 0,5 г листків висушували у бюксах за температури 100°C протягом 8 годин. До висушеного матеріалу додавали 1 мл 0,25 Н HNO₃ та інкубували протягом 90 хв за температури 80°C. Після цього об'єм проб доводили до 4 мл, використовуючи 0,25 Н HNO₃. Концентрацію натрію визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С1-М1 в режимі полум'я за довжини хвилі 193,7 нм та розміром щілини 0,3 нм. Перед визначенням будували калібрувальний графік, використовуючи відповідні стандартні розчини. Вимірювання й обрахунок результатів здійснювали за допомогою програми AAS-SPECTR.

Сумарний вміст низькомолекулярних гідрофільних антиоксидантів оцінювали, вимірюючи загальну редукуючу спроможність (total reducing capacity – TRC) екстракту листків, отриманого з використанням 0,25 М розчину сульфосаліцилової кислоти (SSA). Визначення TRC шляхом йодатометричного титрування здійснювали за методом Петта в модифікації Прокошева (Третяков, 2003). До 300 мг гомогенізованого у рідкому азоті рослинного матеріалу додавали 3 мл 0,25 М розчину SSA та центрифугували за 10000 g протягом 10 хв. Отриманий супернатант переносили в чисту пробірку і використовували для визначення TRC. Для цього в колбочку вносили 1 мл центрифугату, додавали 2 мл H₂O, 1 мл 0,25 М SSA, 1 мл 4% KI та 50 мкл 1% свіжо приготованого розчину водорозчинного крохмалю. Отриману суміш титрували розчином 100 мкМ йодату калію до появи стійкого блакитного забарвлення. Паралельно готували контрольну пробу, в яку замість центрифугату вносили 0,25 М SSA. TRC виражали в умовних одиницях як кількість мікромоль йодату калію, що пішов на титрування, у перерахунку на 1 кг сирого матеріалу.

Кожний експеримент повторено для чотирьох незалежно вирощених партій рослин. Кожне вимірювання проводили у трьох паралельних пробах. Статистичну вірогідність отриманих даних оцінювали з використанням

двовибіркового t-критерію для залежних вибірок (Буджак, 2012).

Результати та обговорення. На першому етапі досліджень оцінено накопичення іонів натрію у тканинах листків. Отримані дані показали (Рис. 1), що під час інкубування рослин у темряві на поживному середовищі із додаванням хлориду натрію відбувається залежне від концентрації накопичення іонів натрію у листках.

Так, за 4-годинної обробки присутність у середовищі 50 мМ хлориду натрію призводила до 10-кратного зростання вмісту іонів Na^+ в листках. Підвищення концентрації натрію в інкубаційному середовищі до 100 та 200 мМ викликало ще більше накопичення цих іонів у рослині – у 20 та 28 разів відповідно, порівняно із контролем. При цьому збільшення часу інкубації до 8 годин не зумовлювало подальшого зростання концентрації іонів Na^+ в рослинах. Так, за дії 50 мМ NaCl спостерігалось 10-кратне зростання вмісту іонів натрію, як і за 4-годинної інкубації. За наявності 100 та 200 мМ іонів натрію у середовищі, їх концентрація у тканинах збільшувалась у 16 та 27 разів відповідно.

Зростання вмісту іонів натрію у листках арабідопсису за дії довготривалого сольового стресу було відмічене іншими дослідниками.

Зокрема, у 4-тижневих рослин виявлено збільшення вмісту натрію у 3-4,5 рази через 2 доби після поливу розчинами NaCl концентрації 50 та 100 мМ відповідно (Shkolnik-Inbar et al. 2013). У іншій роботі було встановлено, що через 2 та 5 днів після поливу 4-тижневих рослин арабідопсису 350 мМ розчинами NaCl концентрація натрію в листках зростала у 10 та 25 разів, відповідно (Jiang et al., 2013).

Порівняння наших та даних інших науковців підтверджує, що у нашому експерименті накопичення іонів Na^+ відбувається набагато швидше. Це, можливо пов'язано з тим, що у нашому випадку у рослин було видалено кореневу систему, яка виконує бар'єрну функцію. Отже, застосований нами дизайн експерименту дає змогу за короткий час досягти суттєвого накопичення іонів Na^+ у листках арабідопсису.

У контрольній групі рослин після 4-годинної інкубації концентрація іонів натрію суттєво не відрізнялася від інтактної групи. Однак на 8 годину інкубації вміст Na^+ зростав у 1,5 раза. Таке зростання вмісту натрію у контрольних рослинах може спричинятися наявністю іонів натрію в інкубаційному середовищі.

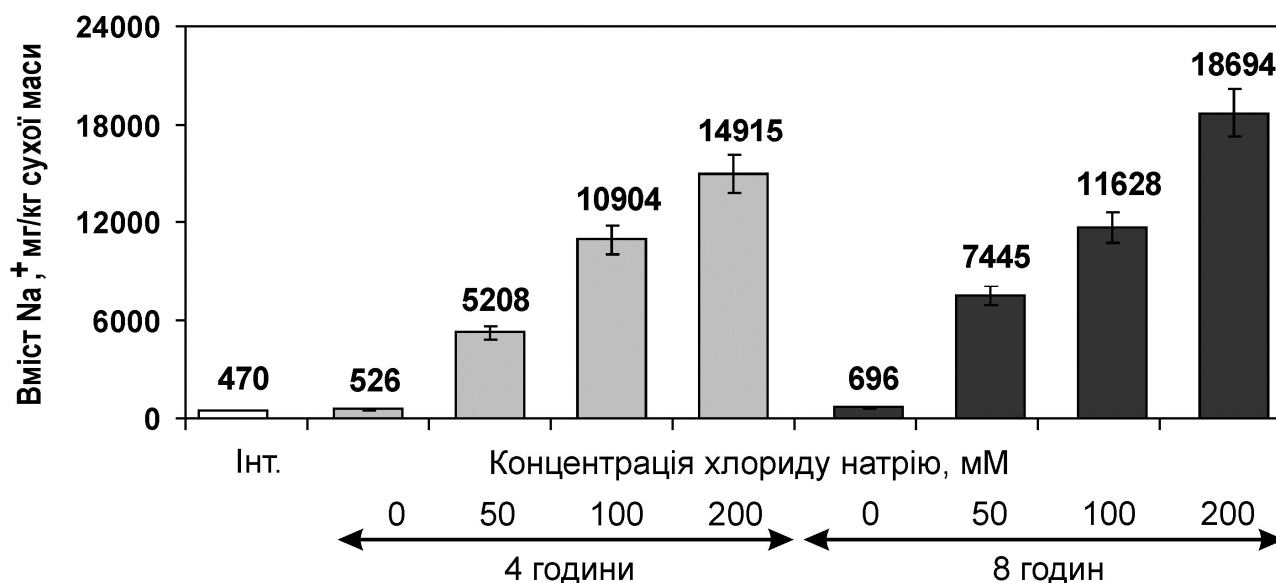


Рис. 1. Накопичення іонів натрію (мг/кг) у листках Arabidopsis thaliana за дії 50; 100 та 200 мМ хлориду натрію протягом 4 та 8 годин

Fig. 1. The accumulation of sodium ions (mg / kg) in Arabidopsis thaliana leaves upon 50; 100 and 200 mM NaCl treatment for 4 and 8 hours

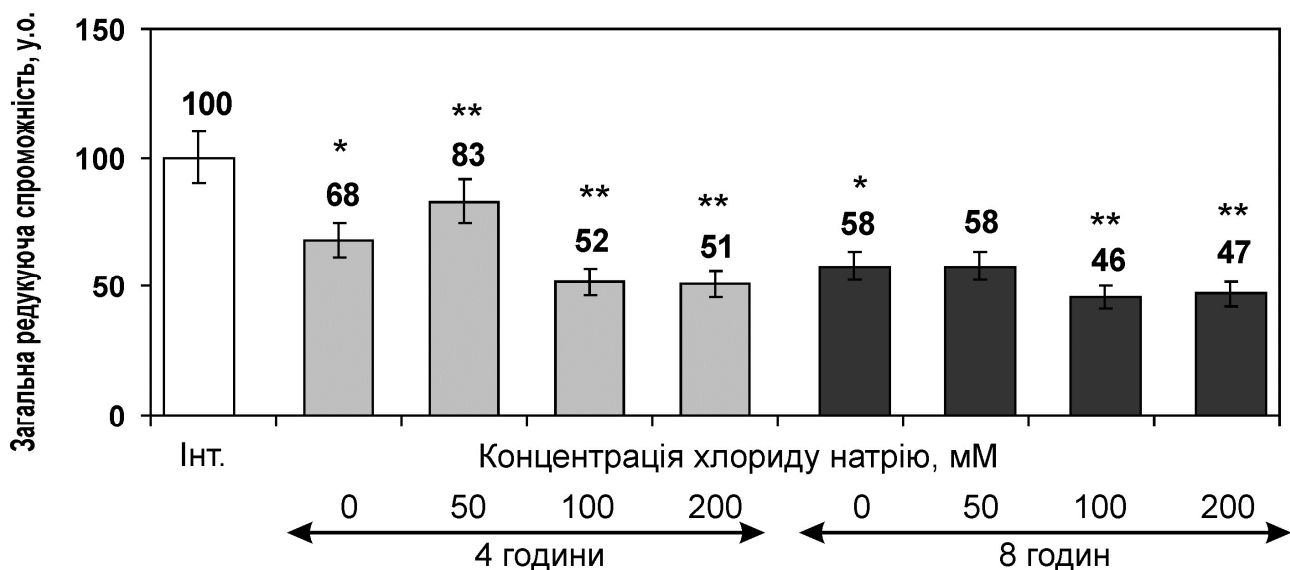


Рис. 2. Загальна редукуюча спроможність (ЗРС; умовні одиниці, у.о.) у листках *Arabidopsis thaliana* за дії 50; 100 та 200 мМ хлориду натрію протягом 4 та 8 годин. За 100 у.о. приймали рівень ЗРС інтактної групи рослин, який становив 456 мкмоль К₂С₂О₈/кг сирової маси

Примітка: * - різниця у порівнянні з інтактними рослинами достовірна; ** - різниця у порівнянні з контрольними рослинами достовірна ($p < 0,05$)

Fig. 2. Total reducing capacity (TRC, relative units, r.u.) in *Arabidopsis thaliana* leaves upon 50; 100 and 200 mM NaCl treatment for 4 and 8 hours. 100 r.u. defined as the TRC level of the intact plant, which was 456 micromol K₂C₂O₈/kg fresh weight

Note: * - the difference compared to intact plants is significant; ** - Difference compared to control plants is significant ($p < 0,05$)

Наступний етап досліджень полягав у визначенні ЗРС у листках рослин *A. thaliana*, що культивувались протягом п'яти тижнів за оптимальних умов і після цього зазнавали обробки розчинами NaCl різної концентрації. Результати показали (рис. 2), що, порівняно з інтактними рослинами, у контрольних зразках після інкубування протягом 4 та 8 годин у середовищі 0,5xMS спостерігалось зниження рівня ЗРС на 32 і 42 %, відповідно. Цей ефект, ймовірно пов'язаний з тим, що рослини були переміщені у темряву, а отже, у них припинився фотосинтез і, зокрема, перенесення електронів в електрон-транспортному ланцюгу хлоропластів. За даними літератури освітлення рослин необхідне для генерації відновної сили у вигляді NADPH при фотосинтезі та для синтезу такого важливого антиоксиданту, як аскорбат (Toth et al., 2011). Отже, зниження ЗРС після перенесення листків арабідопсису у темряву можна пояснити поступовим вичерпанням пулу антиоксидантів за відсутності їх компенсаторного синтезу.

За стресової обробки протягом 4 годин при використанні найменшої досліджуваної концентрації NaCl (50 мМ) відбувалося підвищення ЗРС на 22 %, що свідчить про збільшення пулу низькомолекулярних водорозчинних антиоксидантів на перших етапах ранньої стресової відповіді. Можна припустити,

що сольовий стрес відносно малої інтенсивності запускає у клітині синтез антиоксидантів за механізмом, який не залежить від освітлення. Проте при підвищенні концентрації солі до 100 та 200 мМ ЗРС знижувалась на 24-25 % нижче від контрольного рівня. Цей ефект можна пояснити підсиленням генерації АФК за дії більш інтенсивного стресу.

За 8-годинної інкубації ЗРС залишалась на рівні контролю після застосування для обробки 50 мМ NaCl або знижувалась на 19-21 % після використання більших концентрацій хлориду натрію. Отже, збільшення часу стресової обробки не призводить до посиленого вичерпання пулу низькомолекулярних антиоксидантів. Раніше у нашій лабораторії було доведено, що за дії короткотривалого гострого сольового стресу у листках арабідопсису спостерігається активація захисної відповіді, яка, зокрема, проявляється у зростанні активності гваякол пероксидази. Водночас помічено, що зменшення вмісту таких низькомолекулярних антиоксидантів, як поліфенольні сполуки, які є субстратами цього ферменту (Диденко и др., 2015; Діденко та ін., 2016). Останнє спостереження добре узгоджується із нашими новими даними стосовно зниження ЗРС за умов стресу.

Висновки. Отримані результати показують, що короткотривалий (4 год.) гострий сольовий стрес активує у листках арабідопсису синтез низькомолекулярних антиоксидантів, що призводить до тимчасового зростання ЗРС вище, ніж у контрольних рослинах. Проте із збільшенням інтенсивності та/або тривалості стресової обробки значення ЗРС падають нижче від контрольного рівня. Отже, гострий сольовий стрес уже на ранніх етапах дії викликає поступове виснаження пулу низькомолекулярних антиоксидантів.

Список літератури:

- Диденко Н. А., Буздуга И. Н., Панчук И. И. Активность аскорбат и гваякол пероксидаз *Arabidopsis thaliana* в условиях солевого стресса // Экологический мониторинг и биоразнообразие. – 2015. – Т. 10, № 3. – С. 14-18.
- Третьяков Н.Н. Практикум по физиологии растений – М.: Колос. – 2003. – С. 288 с. ISBN 5-9532-0058-7.
- Ху Ю., Лиу Ж. Ферменты антиоксидантной защиты и физиологические характеристики двух сортов топинамбура при солевом стрессе // Физиол. раст. – 2008. – Т. 55. – С. 863-868.
- Буджак В.В. Біометрія – Чернівці: Рута. – 2013. – 326 стор. ISBN 978-966-423-312-2
- Діденко Н. О., Волков Р. А., Панчук І. І. Вплив сольового стресу на вміст проліну та поліфенольних сполук у *Arabidopsis thaliana* // Біологічні системи. – 2016. – Т. 8, № 1. – С. 35-39.
- Abogadallah G.M. Insights into the significance of antioxidative defense under salt stress // Plant Signal Behav. – 2010. – V. 5. – P. 369-374. doi: 10.4161/psb.5.4.10873.
- Aghaleh M., Niknam V., Ebrahimzadeh H., Razavi K.. Salt stress effects on growth, pigments, proteins and lipid peroxidation in *Salicornia persica* and *S. europaea* // Biol. Plantarum. – 2009. – V. 53. – P. 243-248. doi: 10.1007/s10535-009-0046-7.
- Ahmad P., Jaleel C., Salem M., et al. Roles of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in plants during abiotic stress // Crit. Rev. Biotechnol. – 2010. – V. 30. – P. 161-175. doi: 10.3109/07388550903524243.
- Ahmad P., Prasad M. Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability // Plant Science. – 2012. – V. 8. – P. 149-156. doi: 10.1007/978-1-4614-0634-1_3.
- Ahmad P., Sarwat M., Sharma S. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants // Plant Biol. – 2008. – V. 51. – P.167-173. doi: 10.1007/BF03030694.
- Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annu. Rev. Plant Biol. – 2004. – V.55. – P. 373-399. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701.
- Alscher R.G., Erturk N. F., Heath L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants // J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53. – P. 1331-1341. doi: 10.1093/jexbot/53.372.1331.
- Begcy K., Mariano E., Mattiello L., Nunes et all. An *Arabidopsis* mitochondrial uncoupling protein confers tolerance to drought and salt stress in transgenic tobacco plants // PLoS ONE. – 2011. – V. 6. – P. e23776. doi:10.1371/journal.pone.0023776.
- Caverzan A., Casassola A., Brammer S. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plants tolerance to stress // Abiotic and Biotic Stress in Plants – Rec. Adv. and Fut. Perspect. In Tech Open. – 2016. – P. 463-474. doi: 10.5772/61368.
- Chen Z., Gallie D. The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement // Plant Cell – 2004. – V. 16. – P. 1143-1162. doi: 10.1105/tpc.021584.
- Das K., Roychoudhury A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants // Front. Environ. Sci. – 2014. – V. 2. – P. 1-13. doi: 10.3389/fenvs.2014.00053.
- Deinlein U., Stephan A., Horie T., et al. Plant salt-tolerance mechanisms // Trends in Plant Sci. – 2014. – V. 19. – P. 371-379. doi: 10.1016/j.tplants.2014.02.001.
- Farmer E. E., Mueller M. J. ROS - Mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling // Annu. Rev. Plant Biol. – 2013. – V. 64. – P. 429-450. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120132.
- Foyer C., Noctor G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub // Plant Physiol. – 2011. – V. 155. – P. 2-18. doi: 10.1104/pp.110.167569.
- Gupta B., Huang B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization // Int. J. of Genomics. – 2014. – P. 1-18. doi: 10.1155/2014/701596.
- Habibi G. Hydrogen peroxide (H₂O₂): generation, scavenging and signaling in plants. In *oxidative damage to plants antioxidant networks and signaling* // Elsevier, NY. – 2014. – P. 557-584. doi: 10.1016/B978-0-12-799963-0.00019-8.
- Jiang C., Belfield E., Cao Y., et al. An *Arabidopsis* soil-salinity-tolerance mutation confers ethylene-mediated enhancement of sodium/potassium homeostasis // Plant Cell. – 2013. – V. 25, No. 9. – P. 3535-3552. doi: 10.1105/tpc.113.115659.
- Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance // Ann. Rev. plant Biol. – 2008. – V. 59. – P. 651-681. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
- Reczek C., Chandel N. ROS-dependent signal transduction // Cur. Opin. in Cell Biol. – 2015. – V. 33. – P. 8–13. doi: 10.1016/j.ceb.2014.09.010.
- Scandalios J.G. The rise of ROS // Trends Biochem. Sci. – 2002. – V.27. – P. 483-486. doi: 10.1016/S0968-0004(02)02170-9.
- Scandalios J.G., Braz J. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses // Med. and Biol. Res. – 2005. – V. 38. – P. 995-1014. doi: 10.1590/S0100-879X2005000700003.
- Sharma P., Jha A., Dubey R., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions // J. Bot. – 2012. – V. 12. – P. 1-26. doi: 10.1155/2012/217037.

28. Shkolnik-Inbar D., Adler G., Bar-Zvi D. ABI4 down regulates expression of the sodium transporter HKT1; 1 in *Arabidopsis* roots and affects salt tolerance // *Plant Journal*. – 2013. – V. 73, No. 6. – P. 993-1005. doi: 10.1111/tbj.12091.
 29. Toth S., Nagy V., Puthur J., Kovacs L., Garab G. The physiological role of ascorbate as photosystem II electron donor: protection against photoinactivation in heat-stressed leaves // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 156. – P. 382-392. doi: 10.1104/pp.110.171918.
 30. Wang L., Apel K. Singlet oxygen: applications in biosciences and nanosciences // *Comprech. Ser. in Photoch. and Photobiol. Sci.* – 2015. – V. 14, No 39. – P. 267-276. ISBN: 978-1-78262-697-8.
- References:**
1. Abogadallah G.M. Insights into the significance of antioxidative defense under salt stress // *Plant Signal Behav.* – 2010. – V. 5. – P. 369-374. doi: 10.4161/psb.5.4.10873.
 2. Aghaleh M., Niknam V., Ebrahimzadeh H., Razavi K.. Salt stress effects on growth, pigments, proteins and lipid peroxidation in *Salicornia persica* and *S. europaea* // *Biol. Plantarum.* – 2009. – V. 53. – P. 243-248. doi: 10.1007/s10535-009-0046-7.
 3. Ahmad P., Jaleel C., Salem M., et all. Roles of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in plants during abiotic stress // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2010. – V. 30. – P. 161-175. doi: 10.3109/07388550903524243.
 4. Ahmad P., Prasad M. Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability // *Plant Science.* – 2012. – V. 8. – P. 149-156. doi: 10.1007/978-1-4614-0634-1_3.
 5. Ahmad P., Sarwat M., Sharma S. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants // *Plant Biol.* – 2008. – V. 51. – P. 167-173. doi: 10.1007/BF03030694.
 6. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2004. – V. 55. – P. 373-399. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701.
 7. Alscher R.G., Erturk N. F., Heath L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants // *J. Exp. Bot.* – 2002. – V. 53. – P. 1331-1341. doi: 10.1093/jexbot/53.372.1331.
 8. Begcy K., Mariano E., Mattiello L., Nunes et all. An *Arabidopsis* mitochondrial uncoupling protein confers tolerance to drought and salt stress in transgenic tobacco plants // *PLoS ONE.* – 2011. – V. 6. – P. e23776. doi: 10.1371/journal.pone.0023776
 9. Budhazak V.V. Biometrics – Chernivtsi: Ruta. – 2013. – 326 pp. ISBN 978-966-423-312-2.
 10. Caverzan A., Casassola A., Brammer S. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plants tolerance to stress // *Abiotic and Biotic Stress in Plants – Rec. Adv. and Fut. Perspect. In Tech Open.* – 2016. – P. 463-474. doi: 10.5772/61368.
 11. Chen, Z., Gallie D. The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement // *Plant Cell* – 2004. – V. 16. – P. 1143-1162. doi: 10.1105/tpc.021584.
 12. Das K., Roychoudhury A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants // *Front. Environ. Sci.* – 2014. – V. 2. – P. 1-13. doi: 10.3389/fenvs.2014.00053.
 13. Deinlein U., Stephan A., Horie T., et all. Plant salt-tolerance mechanisms // *Trends in Plant Sci.* – 2014. – V. 19. – P. 371-379. doi: 10.1016/j.tplants.2014.02.001.
 14. Didenko N.O., Buzduha I.M., Panchuk I.I. Ascorbate and guaiacol peroxidase activity in *Arabidopsis thaliana* upon salt stress // *Environmental monitoring and biodiversity.* – 2015. – V. 10, No 3. – P. 14-18.
 15. Didenko N.O., Volkov R.A., Panchuk I.I. Effects of saline stress on proline and polyphenolic compounds content in *Arabidopsis thaliana* // *Scientific Herald of Chernivtsi University. Biology (Biological Systems).* – 2016. – T. 8, No 1. – C. 35-39.
 16. Farmer E. E., Mueller M. J. ROS - Mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2013. – V. 64. – P. 429-450. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120132.
 17. Foyer C., Noctor G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 155. – P. 2-18. doi: 10.1104/pp.110.167569.
 18. Gupta B., Huang B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization // *Int. J. of Genomics.* – 2014. – P. 1-18. doi: 10.1155/2014/701596.
 19. Habibi G. Hydrogen Peroxide (H₂O₂): Generation, scavenging and signaling in plants. In *oxidative damage to plants antioxidant networks and signaling* // Elsevier, NY. – 2014. – P. 557-584. doi: 10.1016/B978-0-12-799963-0.00019-8.
 20. Hu Y., Liu G. Antioxidant enzymes and physiological characteristics of the two varieties of Jerusalem artichoke under salt stress // *Physiologija rastenij.* – 2008. – V. 55. – P. 863-868.
 21. Jiang C., Belfield E., Cao Y., et al. An *Arabidopsis* soil-salinity-tolerance mutation confers ethylene-mediated enhancement of sodium/potassium homeostasis // *Plant Cell.* – 2013. – V. 25, No. 9. – P. 3535-3552. doi: 10.1105/tpc.113.115659.
 22. Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance // *Ann. Rev. plant Biol.* – 2008. – V. 59. – P. 651-681. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
 23. Reczek C., Chandel N. ROS-dependent signal transduction // *Cur. Opin. Cell Biol.* – 2015. – V. 33. – P. 8-13. doi: 10.1016/j.ceb.2014.09.010.
 24. Scandalios J.G. The rise of ROS // *Trends Biochem. Sci.* – 2002. – V. 27. – P. 483-486. doi: 10.1016/S0968-0004(02)02170-9.
 25. Scandalios J.G., Braz J. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses // *Med. and Biol. Res.* – 2005. – V. 38. – P. 995-1014. doi: 10.1590/S0100-879X2005000700003.
 26. Sharma P., Jha A., Dubey R., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions // *J. Bot.* – 2012. – V. 12. – P. 1-26. doi: 10.1155/2012/217037.

27. Shkolnik-Inbar D., Adler G., Bar-Zvi D. ABI4 down regulates expression of the sodium transporter HKT1; 1 in *Arabidopsis* roots and affects salt tolerance // *Plant J.* – 2013. – V. 73, No. 6. – P. 993-1005. doi: 10.1111/tpj.12091.
28. Toth S., Nagy V., Puthur J., Kovacs L., Garab G. The physiological role of ascorbate as photosystem II electron donor: protection against photoinactivation in heat-stressed leaves // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 156. – P. 382-392. doi: 10.1104/pp.110.171918.
29. Tretiakov N.N. *Plant Physiology laboratory manual* – M.: Kolos. – 2003. – P. 288. ISBN 5-9532-0058-7.
30. Wang L., Apel K. Singlet oxygen: applications in biosciences and nanosciences // *Compreh. Ser. in Photoch. and Photobiol. Sci.* – 2015. – V. 14, No 39. – P. 267-276. ISBN: 978-1-78262-697-8.

TOTAL REDUCING CAPACITY OF ARABIDOPSIS THALIANA UPON SALT STRESS

I. M. Buzduha, T. A. Zavorotna, N. O. Didenko, I. I. Panchuk

Soil salinity is a common abiotic stress factor. Salt stress in plants causes secondary oxidative stress, which is the result of increased generation of reactive oxygen species (ROS). The defense against oxidative stress is provided by the antioxidant system, which consists of enzymes and low molecular weight antioxidants. The amount of antioxidant compounds determines the total reducing capacity (TRC) of plant cell. The involvement of such compounds in the regulation of redox balance of the cell under conditions of acute salt stress is still studied poorly. Accordingly, in this study the influence of different concentrations of sodium chloride (50, 100 and 200 mM) on the TRC in Arabidopsis was investigated. 4,5-5 weeks old Arabidopsis plants growing in soil were used for the investigation. Leave rosettes were separated from the roots and the cutting place placed in liquid Murashige-Skoog medium (0,5x MS), supplemented with 50, 100 or 200 mM sodium chloride. After 4 hours of treatment with 50 mM sodium chloride a 10-fold increase in the content of Na⁺ in leaves was observed. Increasing the concentration of sodium in the incubation medium to 100 mM and 200 mM caused an even greater accumulation of these ions in the plant, namely 20 and 28 times higher, respectively, compared to the control. In addition, increasing the incubation time to 8 hours resulted in no further increase in the concentration of Na⁺ in plants. It was found that 4 hours of treatment with 50 mM NaCl resulted in increase of TRC by 22%. However, when the salt concentration was further increased to 100 and 200 mM the TRC decreased to 24-25% below the level of control plants. Reduction of TRC was observed also after 8 hours of treatment. Thus, Arabidopsis plants incubated for 4 hours in 50 mM solution activate antioxidants synthesis in leaves, which leads to a temporary increase of TRC that is higher than in control plants. However, increasing the intensity and/or duration of stress treatment causes a decrease of the TRC below the control level. The obtained data suggest that the gradual depletion of the antioxidants pool occurs in the early stages of acute salt stress.

Key words: total reducing capacity (TRC), antioxidants, reactive oxygen species (ROS), salt stress, Arabidopsis thaliana.

Одержано редколегією 30.11.2016