

Вплив екзогенного пероксиду водню на стан пероксидного окислення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту моху *Fontinalis antipyretica* Hedw.

НАТАЛІЯ ЯРОСЛАВІВНА КИЯК

КУЧАК N.YA., 2008: **Influence of exogenous hydrogen peroxide on the state of lipid peroxidation and activity of antioxidative enzymes of moss *Fontinalis antipyretica* Hedw.** *Chornomors'k. bot. z.*, Vol. 4., №2: 244-250.

The effect of exogenous hydrogen peroxide on lipid peroxidation and activity of antioxidative enzymes in shoots of the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* was investigated. It was shown, that selected concentrations of H₂O₂ does not lead to the accumulation of lipoperoxidation products, but actively modulate the work of antioxidant enzymes. Increasing of catalase and peroxidase activity under influence of 1 and 10 mM H₂O₂ was established. Decreasing activity of glutathione reductase, which can be linked with change of redox-status in the plant cells, was fixed.

Key words: hydrogen peroxide, diene conjugates, malonic dialdehyde, glutathione, activity of catalase, peroxidase, glutathione reductase, Fontinalis antipyretica.

КИЯК Н.Я., 2008: **Вплив екзогенного пероксиду водню на стан пероксидного окислення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту моху *Fontinalis antipyretica* Hedw.** *Чорноморськ. бот. ж.*, т. 4, N2: 244-250.

Досліджено вплив екзогенного пероксиду водню на ліпопероксидацію та активність антиоксидантних ферментів у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica*. Пероксид водню у концентрації 1 мМ та 10 мМ не призводить до нагромадження продуктів ліпопероксидації, однак активно модулює роботу ферментів антиоксидантного захисту. Виявлено, що обидві концентрації пероксиду водню індукують зростання активності каталази та пероксидази. Відмічено зниження активності глутатіонредуктази під впливом H₂O₂, що може бути зумовлене зміною редокс-статусу рослинних клітин.

Ключові слова: пероксид водню, дієнові кон'югати, малоновий дигальдегід, відновлений глутатіон, активність каталази, пероксидази, глутатіонредуктази, Fontinalis antipyretica.

Якщо раніше активні форми кисню (АФК) розглядали як високотоксичні, хоча й короткоживучі молекули, то зараз посилено досліджується інша їх функція – участь у трансдукції сигналу для запуску захисних реакцій [ДМИТРИЄВ, КРАВЧУК, 2005; CHEN et al., 1993]. Вважають, що збільшене продукування АФК за несприятливих умов є загальним сигналом тривоги, який вказує на необхідність модифікації генної експресії та метаболізму. Пероксид водню є одним із первинних індукторів стрес-реакції рослинної клітини та важливим посередником у роботі сигнальних трансдукційних систем [ТАРЧЕВСКИЙ, 2002; WOLTASZEK, 1997]. При цьому H₂O₂ бере участь не лише в передачі зовнішнього сигналу до ядра та модифікації транскрипційних процесів, але, в першу чергу, координує дію клітинних компартментів для цілісної відповіді на стрес [CORPAS et al., 2001]. H₂O₂ впливає на імунітет рослин, індукуючи синтез речовин, токсичних для мікроорганізмів [ЗАПРОМЕТОВ, 1993], стимулює лігніфікацію клітинних стінок у місцях проникнення інфекції [CHEN et al., 1993]. Відомо також, що пероксид водню є фізіологічним модулятором мітохондрій, регулюючи транспорт іонів кальцію [RICHTER et al., 1995], а також виступає у ролі алостеричного ефектора, активуючи чи інгібуючи діяльність ферментів циклу Кальвіна, Cu/Zn СОД і Fe СОД [BOWLER et al., 1994].

Тому, актуальними є дослідження дії екзогенного пероксиду водню на розвиток стресової реакції рослин та активність ферментів-протекторів. Найчастіше для таких робіт використовують вищі квіткові рослини [ВЕСЕЛОВ и др., 2007; MITTLER, 2002]. Мохи у цьому аспекті вивчені значно слабше, хоча специфіка анатомо-морфологічної структури та висока толерантність до різноманітних несприятливих чинників робить їх вдалими об'єктами для дослідження морфо-фізіологічних та геномних змін, спричинених дією полютантів [BARGAGLI, 1998]. Є ряд публікацій щодо впливу важких металів та теплового шоку на розвиток оксидного стресу в мохів [BRUNS et al., 2001; PANDA et al., 2005]. Відомо також, що метаболічні перетворення пероксиду та супероксидного радикалу у *Mnium affine* регулюються пероксидазою і каталазою, активність яких стимулюють іони Ca^{2+} , Cu^{2+} та деякі амінокислоти [BARKASDJEVA et al., 1999], однак на сьогоднішній день є мало інформації про механізми регуляції та розвитку стресової реакції в мохів.

Метою роботи було дослідження впливу екзогенного пероксиду водню на ліпопероксидацію та динаміку активності ферментів антиоксидантного захисту у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були рослини водного моху *Fontinalis antipyretica*. Для аналізу використовували пагони, вирощені в лабораторній культурі у контрольованих умовах температури (20-22^o), вологості (85-90%) та освітлення (25000 лк) [ДЕМКИВ, СЫТНИК, 1985]. Обробку пероксидом водню здійснювали шляхом внесення рослинного матеріалу у водне поживне середовище Кноп-П, із 1 мМ та 10 мМ H_2O_2 . Тривалість експозиції – 15, 30 та 60 хвилин. Контролем були рослини, які не обробляли пероксидом водню.

Пероксидне окислення ліпідів оцінювали за вмістом первинних продуктів – дієнових кон'югатів (ДК) та кінцевого продукту ліпопероксидації – малонового діальдегіду (МДА). Для визначення кількості дієнових кон'югатів наважку рослинного матеріалу гомогенізували у 0,1 М калій-фосфатному буфері (рН 7,0), додавали суміш гептан-ізопропанол (1:1) та екстрагували потягом 20 хв. Вміст ДК визначали спектрофотометрично у гептановому шарі за довжини хвилі 232 нм та виражали в одиницях абсорбції [ГАВРИЛОВ, МИШКОРУДНАЯ, 1983].

Для визначення концентрації МДА рослинний матеріал гомогенізували у 20% розчині трихлороцтової кислоти та інкубували з 0,5% розчином тіобарбітурової кислоти. Вміст МДА визначали спектрофотометричним методом за довжини хвилі 532 нм і виражали в нМ на 1 г сирої маси [МУСИЕНКО и др., 2001].

Для визначення активності каталази рослинний матеріал екстрагували у 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,8) за температури 0 –4^oС. Гомогенат центрифугували протягом 15 хв за 5000 об/хв. Активність ферменту визначали спектрофотометрично з використанням 4% розчину молібдату амонію за довжини хвилі 410 нм. Розрахунки здійснювали, застосовуючи коефіцієнт мілімолярного поглинання молібденового комплексу ($\epsilon = 22,2 \text{ мМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$) і виражали активність ферменту в мкат/л [КОРОЛЮК и др., 1986].

Активність пероксидази визначали після екстракції у 0,1 М ацетатному буфері (рН 5,4). Гомогенат центрифугували протягом 15 хв за 5000 об/хв. Активність ферменту визначали спектрофотометрично, з використанням у якості субстрату бензидину, за довжини хвилі 412 нм. Активність ферменту виражали у відносних одиницях на 1 г сирої маси за хвилину [МЕТОДЫ ..., 1987].

Активність глутатіонредуктази (ГР) визначали після екстракції у 0,05 мМ калій-фосфатному буфері (рН 7,0). Екстракт центрифугували протягом 20 хв за 4000 об/хв. Реакційна суміш для визначення активності ГР містила: 0,05 мл ферментного препарату, 0,2 М К-фосфатний буфер (рН 7,5), 1 мМ ЕДТА та 2 мМ НАДФН. Реакцію ініціювали додаванням 5 мМ розчину відновленого глутатіону. Проби фотометрували на спектрофотометрі за довжини хвилі 412 нм протягом 4 хв з періодичністю 30 сек. Питому

активність ферменту виражали в мкМ НАДФН₂ на 1 г білка за хвилину [SMITH et al., 1988].

Для визначення вмісту відновленого глутатіону рослинний матеріал гомогенізували в 5% трихлороцтовій кислоті та центрифугували протягом 15 хв за 4000 об/хв. Реакційна суміш містила ферментний препарат, 15 мМ ЕДТА, 0,02% білок яєчного альбуміну, 0,3 мМ 5,5-дитіобіс (2-нітробензойну) кислоту, 50 мМ імідазол та 0,48 од. глутатіонредуктази. Реакцію ініціювали додаванням 0,9 мМ НАДФН. Проби фотометрували за довжини хвилі 412 нм протягом 4 хв. Вміст відновленого глутатіону виражали в мкМ НАДФН₂ на 1 г сирової маси [SMITH et al., 1988].

Концентрацію білка визначали за методом Бредфорда [BREDFORD, 1976].

Досліди проводили у трьох повторностях. Одержані результати вважали статистично вірогідними, якщо $p < 0,05$. Побудову графіків здійснювали за допомогою прикладної програми „Microsoft Exel 2000”.

Результати досліджень та їх обговорення

У нормальних умовах життєдіяльності в клітині постійно присутній певний рівень пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), індукований утворенням активних форм кисню. Зміщення цього рівня є однією з перших неспецифічних ланок у розвитку стрес-реакції. У пагонах *F. antipyretica* рівень ПОЛ тестували за вмістом первинних та кінцевих продуктів ліпопероксидації – дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду. Відомо, що підвищення рівня ДК у клітинах є чутливим тестом на появу гідроперекисів, а малоновий диальдегід є маркером розвитку деструктивних процесів у ліпідній компоненті мембран [ВЛАДИМИРОВ, АРЧАКОВ, 1972].

У наших дослідах встановлено, що обробка рослинного матеріалу 1 мМ розчином екзогенного пероксиду водню призводила до суттєвого (30-40%) зростання вмісту ДК, починаючи із перших хвилин реакції. Надалі відбувалося поступове зменшення вмісту ДК аж до рівня контролю. Концентрація малонового диальдегіду упродовж досліду не перевищувала контрольних значень (Табл. 1).

Динаміка вмісту досліджуваних продуктів ПОЛ під впливом підвищеної концентрації H₂O₂ (10 мМ) мала дещо інший характер. Вміст дієнових кон'югатів протягом 60 хв досліду був на 20-40% вищий, ніж у контрольному варіанті, а концентрація МДА підвищувалася наприкінці досліду, однак зростання було недостовірним (Табл. 1).

Таблиця 1.

Вплив екзогенного пероксиду водню на вміст дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду в пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica*.

Table 1.

Influence of exogenous hydrogen peroxide on the content of diene conjugates and malonic dialdehyde in the shoots of aquatic moss *Fontinalis antipyretica*.

Тривалість досліду, хв	Вміст дієнових кон'югатів, од. абсорб.		Вміст малонового диальдегіду, нмоль/1 г сирової маси	
	1 мМ H ₂ O ₂	10 мМ H ₂ O ₂	1 мМ H ₂ O ₂	10 мМ H ₂ O ₂
0	11,8 ± 0,8	11,8 ± 0,8	135,9 ± 4,9	135,9 ± 4,9
15	15,6 ± 0,6*	16,5 ± 0,7*	115,1 ± 2,2*	116,9 ± 2,8*
30	14,3 ± 0,8*	15,7 ± 12,8*	100,8 ± 4,4*	129,5 ± 2,6
60	11,3 ± 0,5	14,2 ± 0,4*	129,8 ± 5,8	141,9 ± 3,4

Примітка: * – різниця порівняно до контролю статистично достовірна при $p < 0,05$.

Відомо, що одним із можливих шляхів опосередкованого впливу екзогенного H₂O₂ на антиоксидантні захисні ферменти є активація процесу ПОЛ. Були підібрані такі дози пероксиду водню, які б істотно не впливали на вміст продуктів ПОЛ, що особливо важливо для досліджень регулюючої дії пероксиду на активність ферментів-протекторів. У пагонах *F. antipyretica* обидві концентрації пероксиду водню індукували збільшення лише початкових продуктів ПОЛ, не впливаючи істотно на вміст кінцевих метаболітів. Очевидно, такі концентрації H₂O₂ ще знаходяться в межах зони

толерантності клітин. Однак, вони виявилися дієвими для каталази та пероксидази, які відіграють важливу роль у системі антиоксидантного захисту.

Відомо, що каталаза специфічна лише до пероксиду водню і відповідає за видалення його надлишку в умовах біогенного та абіогенного стресу [ДМИТРИЄВ, КРАВЧУК, 2005]. 1 мМ розчин H_2O_2 індукував підвищення активності каталази у пагонах *F. antipyretica* майже на 60 % на початку досліду, після чого відбувалося зниження активності ферменту на 20-25 %, однак і через 60 хв активність каталази була вищою від контрольного варіанту (Табл. 2). Обробка рослин 10 мМ розчином пероксиду призводила до стрімкого зростання активності ферменту майже удвічі з піком активності на 30 хв досліду.

Активність пероксидази теж зростала під впливом екзогенного H_2O_2 . Часова динаміка наростання активності ферменту мала прямопропорційний характер і залежала від концентрації пероксиду. 1 мМ H_2O_2 стимулював пероксидазну активність на 18-25%, порівняно з контролем, а 10 мМ концентрація пероксиду підвищувала активність ферменту на 30-35% (Табл. 2). Таке істотне збільшення активності каталази та пероксидази могло відбуватися різними шляхами: внаслідок зростання синтезу ферментів *de novo*, зміни співвідношення між ізоформами ферменту, або модифікації наявних молекул [MITTLER, 2002].

Таблиця 2.

Вплив екзогенного пероксиду водню на активність каталази та пероксидази у пагонах моху *Fontinalis antipyretica*

Table 2.

Influence of exogenous hydrogen peroxide on the activity of catalase and peroxidase in the moss shoots *Fontinalis antipyretica*

Тривалість досліду, хв	Активність каталази, мкат/л		Активність пероксидази, відн. од./1 г сирої маси /хв	
	1 мМ H_2O_2	10 мМ H_2O_2	1 мМ H_2O_2	10 мМ H_2O_2
0	135,9 ± 18,2	135,9 ± 18,2	13,6 ± 0,9	13,6 ± 0,9
15	221,1 ± 11,5*	221,1 ± 15,4*	16,1 ± 0,5	18,1 ± 1,2*
30	170,5 ± 9,8*	295,7 ± 12,8*	16,5 ± 0,4*	17,3 ± 0,6*
60	189,5 ± 8,6*	235,8 ± 14,5*	16,8 ± 0,8*	18,5 ± 1,4*

Примітка: * – різниця порівняно до контролю статистично достовірна при $p < 0,05$.

Важливим для захисту рослин в умовах впливу АФК є глутатіон. Він відіграє роль внутрішньоклітинного окисно-відновного буфера, а співвідношення між рівнем відновленої та окисленої форми глутатіону відображає зміну редокс-статусу клітини та, імовірно, є сигналом для запуску механізмів детоксикації АФК [CREISSEN et al., 1999; FOYER et al., 2001]. У дослідях із водним мохом *F. antipyretica* 1 мМ та 10 мМ концентрації екзогенного пероксиду водню однаково впливали на вміст відновленого глутатіону (Рис. 1). Через 15 хв після дії H_2O_2 кількість глутатіону була такою ж, як і в контролі. Через 30 хв експозиції з H_2O_2 , вміст глутатіону зменшувався на 25-30 %, що свідчить про активне використання відновленої форми глутатіону, і, відповідно, зміну окисно-відновного балансу клітин під впливом пероксиду водню. Згідно з літературними даними, низькомолекулярні антиоксиданти глутатіон, аскорбінова кислота та каротиноїди відіграють провідну роль у захисті клітин на ранніх стадіях окислювального стресу [БУРЛАКОВА, ХРАПОВА, 1985; КЕНИЯ и др., 1993]. Як відомо, відновлений стан глутатіону підтримується за допомогою НАДФ-залежної глутатіонредуктази (ГР). Введення в середовище екзогенного H_2O_2 призводило до короточасного підвищення активності ГР. Починаючи з 15 хв досліду глутатіонредуктазна активність знижувалася майже на 35 % під впливом 1 мМ пероксиду, а на 10 мМ концентрації H_2O_2 – на 50 %, порівняно з контролем (Рис. 2).

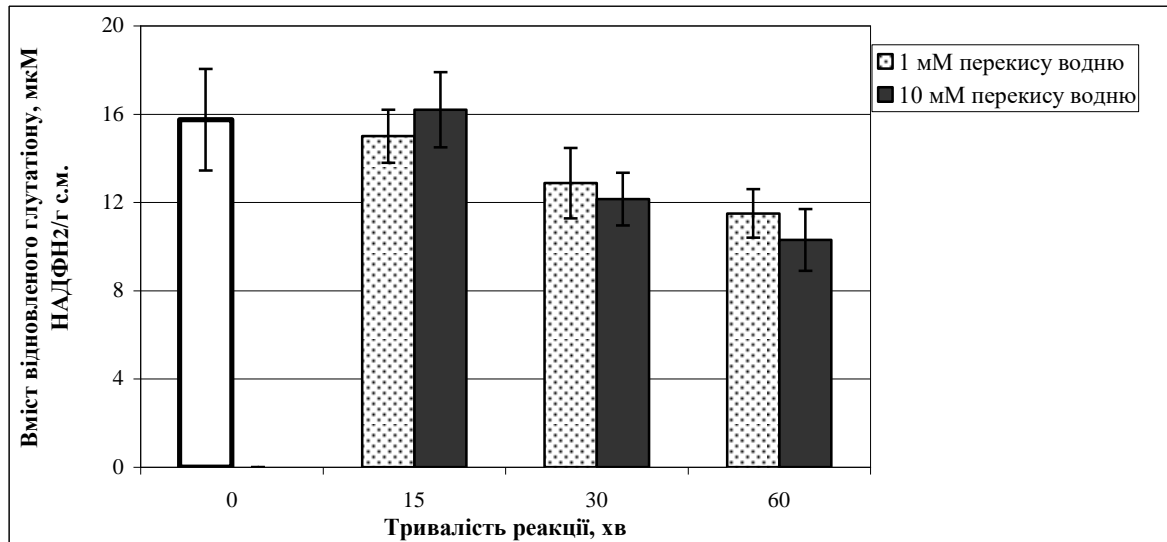


Рис. 1. Вплив екзогенного перексиду водню на вміст відновленого глутатіону в пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica*.

Fig. 1. Influence of exogenous hydrogen peroxide on the content of glutathione in the shoots of aquatic moss *Fontinalis antipyretica*.

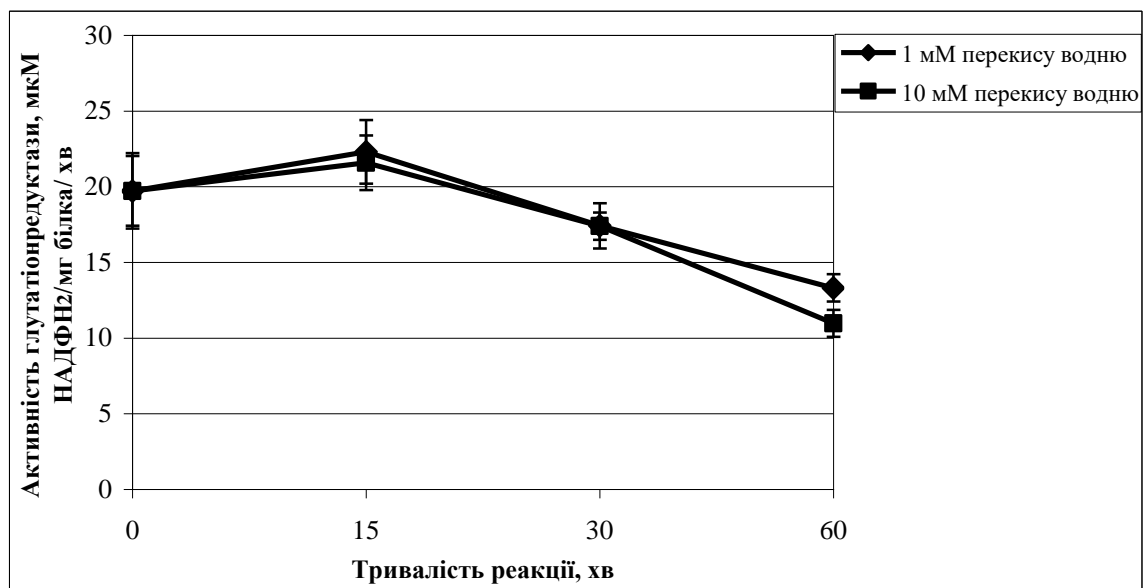


Рис. 2. Вплив екзогенного перексиду водню на активність глутатіонредуктази в пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica*.

Fig. 2. Influence of exogenous hydrogen peroxide on the activity of glutathione reductase in the shoots of aquatic moss *Fontinalis antipyretica*.

Порівняння часової динаміки активності глутатіонредуктази та вмісту відновленого глутатіону у пагонах *F. antipyretica* свідчить, що спад активності ферменту співпадає зі зниженням вмісту глутатіону. Такий ефект може бути наслідком дефіциту (при зміні редокс-статусу рослинної клітини) коферменту глутатіонредуктази – відновленої форми НАДФН [DE VOS et al., 1994; MAY et al., 1998].

Висновки

На підставі проведених досліджень встановлено, що перексид водню у концентраціях 1 мМ та 10 мМ не чинить деструктивної окислювальної дії на клітинні мембрани, істотно впливаючи лише на первинні продукти ліпопероксидації. В той же

час, обидві концентрації екзогенного пероксиду модулюють активність ферментів антиоксидантного захисту. Згідно з літературними даними, пероксид водню може бути вторинним посередником стресової реакції і регулятором експресії генів ферментів захисту [CHEN et al., 1993; DE MARCO et al., 1996]. Свідченням цього є істотне підвищення активності каталази та пероксидази у наших дослідах.

Регуляція активності ферментів пероксидом водню може бути опосередкована зміною редокс-статусу клітин в умовах окислювального стресу [ВЕСЕЛОВ и др., 2007], що пояснює зниження активності НАДФ-залежної глутатіонредуктази на фоні зменшення вмісту відновленого глутатіону в клітинах пагонів *F. antipyretica*. Каталаза і пероксидаза можуть бути нечутливі до зміни окисно-відновного балансу клітини, оскільки для їх функціонування не потрібні відновники [ДМИТРИЄВ, КРАВЧУК, 2005].

Таким чином, дослідження з водним мохом *F. antipyretica* свідчать, що пероксид водню виступає як індуктор стресової реакції, який регулює роботу ферментів-протекторів та запускає розвиток стрес-реакції в рослинному організмі.

Список літератури

- БУРЛАКОВА Е.Б., ХРАПОВА Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. – 1985. – Т. 14, вып. 9. – С. 1540-1557.
- ВЕСЕЛОВ А.П., КУРГАНОВА Л.Н., БАЛАЛАЕВА И.В. Роль redox-статуса в регуляции активности глутатионзависимых антиоксидантных ферментов хлоропластов при воздействии экзогенного H_2O_2 // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2007. – №1. – С. 119-121.
- ГАВРИЛОВ В.Б., МИШКОРУДНАЯ М.И. Спектрофотометрическое определение содержания диеновых гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – №3. – С. 33-35.
- ВЛАДИМИРОВ Ю.А., АРЧАКОВ, А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 136 с.
- ДЕМКИВ О.Т., СЫТНИК К.М. Морфогенез архегоният. – К.: Наук. думка, 1985. – 204 с.
- ДМИТРИЄВ О.П., КРАВЧУК Ж.М. Активні форми кисню та імунітет рослин // Цитология и генетика. – 2005. – №4. – С. 64-74.
- ЗАПРОМЕТОВ М. Н. Специализированные функции фенольных соединений в растениях // Физиол. раст. – 1993. – Т. 40, №6. – С. 921-932.
- КЕНИЯ М.В., ЛУКАШ А.И., ГУСЬКОВ Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи соврем. биол. – 1993. – Т. 113, вып. 4. – С. 465-470.
- КОРОЛЮК М. А., ИВАНОВА Л. И., МАЙОРОВА И. Г., ТОКАРЕВ В. Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1986. – № 1. – С. 16-20.
- МЕТОДЫ биохимического исследования растений – Под ред. А.И. Ермакова. 3-е изд., переработанное и дополненное. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 325 с.
- МУСИЕНКО М. М., ПАРШИКОВА Т. В., СЛАВНЫЙ П. С. Спектрофотометрические методы в практике физиологии, биохимии и экологии растений. – К.: Фитосоциоцентр, 2001. – 200 с.
- ТАРЧЕВСКИЙ И. А. Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 292 с.
- BARKASDJIEVA N.T., CHROSTOV K.N., CHRISTINA K.N. Effect of calcium and zinc on the activity and thermostability of superoxide dismutase and peroxidase // Biol. Plant. – 1999. – №43. – P. 73-78.
- BARGAGLI R. Mosses as passive and active biomonitors of trace elements // Trace Elements in Terrestrial Plants. / Ed. Bargagli R. – Springer-Verlag, Berlin. – 1998. – P. 207-236.
- BOWLER C., VAN CAMP W., VAN MONTAGU M., INZE D. Superoxide dismutase in plants // Crit. Rev. Plant Sci. – 1994. – №13. – P. 199-218.
- BREDFORD W. A simple method for protein test // Annal. Biochem. – 1976. – №72. – P. 248-252.
- BRUNS I., SUTTER K., MENGE S., NEUMANN D. Cadmium lets increase the glutathione pool in bryophytes // Journal of Plant Physiology. – 2001. – № 158. – P. 79-89.
- CHEN Z., SILVA H., KLESSIG D.F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid // Science. – 1993. – Vol. 262. – P. 1883-1885.
- CORPAS F.J., BARROSO J.B., del RIO L.A. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells // Tr. Plant Sci. – 2001. – Vol. 8, № 4. – P. 145-150.
- CREISSEN G., FIRMIN J., FRYER M. et al. Elevated glutathione capacity in the chloroplasts of transgenic tobacco plants paradoxically causes increased oxidative stress // Plant Cell. – 1999. – №11. – P. 1277-1292.
- FOYER C.H., THEODOULOU F.L., DELROT S. The functions of inter- and intracellular glutathione transport systems in plants // Tr. Plant Sci. – 2001. – Vol. 6, №10. – P. 486-492.
- DE VOS C.H.R., KRAAK L.H., BINO R.J. Ageing of tomato seeds involves glutathione oxidation // Physiol. Plant.

- 1994. – Vol. 92. – P. 131-139.
- DE MARCO A., KALLIOPI A. ROUBELAKIS-ANGELAKIS. The complexity of enzymic control of hydrogen peroxide concentration may affect the regeneration potential of plant protoplasts // *Plant physiol.* – 1996. – Vol. 110. – P. 137-145.
- MAY M. J., VERNOUX T., LEAVER C., VAN MONTAGU M. V., Inze D. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development // *J. Exp. Bot.* – 1998. – №49. – P. 649-667.
- MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. // *Trends Plant. Sci.* – 2002. – №7. – P. 405-410.
- PANDA S. K., CHOUDHURY I. and KHAN M. H. Heavy metal induced lipid peroxidation affects antioxidants in wheat leaves // *Biol. Plant.* – 2003. – N 46. – P. 289-294.
- RICHTER Ch., GOGVADZE V., LAFFRANCHI R., SCHLAPBACH R. Oxidants in Mitochondria: from Physiology to Diseases // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1995. – Vol. 1271. – P. 67-74.
- SMITH J., VIERHGELLER T. L., THRONE C. A. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenate using 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) // *Annal. Biochem.* – 1988. – №175. – P. 408-413.
- WOJTASZEK P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection // *Biochem. J.* – 1997. – Vol. 322. – P. 681-692.

Рекомендує до друку
А.П. Орлюк

Отримано 08.10.2008 р.

Адреса автора:

*Н. Я. Кияк
Інститут екології Карпат
НАН України
вул. Стефаника, 11
м. Львів, 79000
Україна
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua*

Author's address:

*N. Ya. Kyjak
Institute of Ecology of the Carpathians
National Academy of Sciences of Ukraine
11, Stefanyka Str.
Lviv, 79000
Ukraine
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua*