УДК: 577.152/.352:581.144.2:581.526.52+661.162.6

ФУНКЦІОНУВАННЯ ТРАНСПОРТНИХ H^+-АТР-аз ПЛАЗМАТИЧНИХ І ВАКУОЛЯРНИХ МЕМБРАН У КЛІТИНАХ КОРЕНІВ КУКУРУДЗИ В УМОВАХ СОЛЬОВОГО СТРЕСУ ТА ДІЇ АДАПТОГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ

Ж. І. РИБЧЕНКО, Т. О. ПАЛЛАДІНА

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ;
e-mail: zhanna_bio@ukr.net; tatiana_palladina@ ukr.net

Участь електрогенних H^+-насосів, механізми яких у плазматичних та вакуолярних мембранах рослинних клітин репрезентовано H^+-АТР-азами E_1-E_2- та V-типу, в адаптації рослинних клітин до умов сольового стресу досліджено шляхом визначення їх гідролітичної й транспортувальної активності. Досліди здійснювалися на проростках кукурудзи, експонованих у присутності 0,1M NaCl протягом 1 або 10 діб. Синтетичні препарати Метіур та Івін застосовувалися шляхом замочування насіння в їх 10^{-7} М розчинах. Фракції плазматичних і вакуолярних мембран ізолювали з коренів проростків. У контрольних варіантах дослідів (у середовищі без NaCl) гідролітична активність H^+-АТР-ази у плазматичній мембрані зростала з віком проростків, а транспортувальна не зазнавала суттєвих змін, тоді як відповіді слабкішої за неї вакуолярної H^+-АТР-ази були протилежними. Експозиція проростків на NaCl знижувала гідролітичну активність обох H^+-АТР-аз та посилювала їх транспортувальну активність, що вказує на інтенсифікацію роботи H^+-насосів, особливо у вакуолярній мембрані, репрезентованих H^+-АТР-азою. Обидва адаптогенні препарати, головним чином Метіур, сприяли подальшому посиленню транспортувальної активності цих ензимів, особливо у варіантах з експозицією на NaCl. Одержані результати продемонстрували важливу роль зазначених H^+-насосів плазматичної та вакуолярної мембран у механізмі адаптації клітин рослин до умов сольового стресу, що здійснюється шляхом енергетичного забезпечення роботи вторинноактивних Na^+/H^+-насосів, які видаляють Na^+ із цитоплазми.

Ключові слова: засолення, транспортувальна та гідролітична активність H^+-АТР-ази, плазмалема, тонопласт, Метіур, Івін.

Засолення ґрунтів є одним із найсильніших стресорних факторів для рослин, що обмежує їх видове різноманіття й перешкоджає агровиробництву в багатьох регіонах світу [1]. Механізм сольового стресу в рослинному організмі полягає в порушенні осмотичного та іонного гомеостазу клітин, до якого додається токсична дія іонів, особливо натрію, який є головним іоном солей, утворюючих засолення. Рослинні організми докорінно відрізняються від тваринних своїм відношенням до натрію, який для перших є непотрібним, а в підвищених концентраціях токсичним іоном, тоді як для других – життєвонеобхідним елементом.

Причина протилежного ставлення до натрію полягає в природі електрогенних іонних насосів, що функціонують у плазматичних мембранах клітин, забезпечуючи енергією процеси активного транспорту. У плазматичній мембрані рослинної клітини (плазмалемі) цю роль виконує H^+-насос, репрезентований H^+-АТР-азою (3.6.3.6), а в тваринній – Na^+-насос, репрезентований Na^+, K^+-АТР-азою, які належать до E_1-E_2 типу [2]. Крім того, особливість будови рослинної клітини полягає в наявності в ній вакуолярного простору, обмеженого вакуолярною мембраною (тонопластом), в якому функціонують два H^+-насоси, один з яких репрезентований H^+-АТР-азою (3.6.3.14) V-типу, подібною за структурою до H^+-АТР-аз мітохондрій і хлоропластів, а другий – H^+-пірофосфатазою (3.6.1.1) [3].

Внаслідок роботи електрогенних H^+-насосів на мембранах створюється електрохімічний потенціал, в якому на плазматичній мембрані переважає електрична, а на вакуолярній – хімічна компонента [4]. Первинні H^+-насоси підтримують функціонування вторинноактивних Na^+/H^+ антипортерів, які в умовах засолення видаляють Na^+ з цитоплазми до позаклітинного й вакуолярного простору.

З'ясування механізмів токсичної дії натрію в рослинах є не тільки теоретичним завданням, але й дуже важливим для практики агровиробництва на засолених грунтах, світовий масив яких неупинно зростає. Вирішення цієї проблеми пов'язують переважно зі створенням солестійких трансгенних форм основних сільськогосподарських культур [5].

Проте значного посилення стійкості рослин до різних стресорних факторів, у тому числі умов засолення, можна також досягти за допомогою безпечних і дешевих сполук із властивостями антидепресантів, які придатні для застосовування на будь-яких видах рослин. Солепротекторну здатність було виявлено у синтетичних препаратах Епін (Республіка Білорусь) [6], а також українських препаратів Метіур (натрієва сіль 6-метил-2-метил-2-меркапто-гідроксипіримідину) та Івін (N-оксид 2,4-диметил піридин), причому Метіур був рекомендований нами як засіб для вирощування кукурудзи на зерно на засолених ґрунтах [7]. Результати досліджень біохімічних механізмів їх адаптогенної дії в умовах сольового стресу наведено в наших попередніх публікаціях [8–10]. Метою цієї роботи стало з'ясування впливу препаратів Метіур та Івін на функціонування H^+-насосів, репрезентованих транспортними H^+-АТР-азами, у плазматичних і вакуолярних мембранах клітин коренів в умовах засоленого середовища.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень слугували проростки кукурудзи *Zea mays* L. (гібрид «Десна СВ»), які вирощували у водній культурі на поживному середовищі Хогленда при 25 °С та освітленні 50 Вт/м^2. 7-денні проростки переносили на свіже середовище, яке містило 0,1М NaCl, що є критичною концентрацією для злаку, і експонували до 10 діб.

Препарати Метіур та Івін застосовували шляхом замочування насіння у 10^{-7} М водних розчинах їх протягом доби перед пророщуванням.

Мембранні препарати одержували з усього кореня без його поділу на окремі тканини шляхом центрифугування, використовуючи ультрацентрифугу Optima tm L-90K Beckman Coulter.

Фракцію плазматичних мембран ізолювали методом поділу фаз за Larsson et al. [11], а фракцію вакуолярних мембран – в ступінчатому градієнті сахарози за методом Poole et al. [12].

Чистоту одержаних фракцій і наявність мембранних домішок визначали за активністю маркерних ензимів. Зокрема, вміст плазматичних мембран виявляли за чутливістю гідролізу АТР до ванадату, а вакуолярних – до нітрату як інгібіторів їхніх H^+-АТР-аз [13]. Частину обернених везикул визначали на підставі впливу в інкубаційному середовищі тритону Х-100 на гідроліз АТР [11], а цілісність їх додатково контролювали за допомогою електронної мікроскопії [14].

Гідролітичну активність АТР-аз визначали на підставі накопичення $P_н$, яке вимірювали за Лоурі і Лопесом [15] на спектрофотометрі СФ-2000 при 600 нм щодо контролю без АТР, представляючи в нмоль $P_н$/мг протеїну за хв.

Транспортувальну активність АТР-аз виміряли флуоресцентним методом із використанням зонда акридинового оранжевого [16], вимірюючи флуоресценцію на спектрофлуориметрі Shimazdu RF 1501 при збудженні 325 нм, емісії 538 нм та ширині щілини 10 нм, представляючи у Δ%F/мг протеїну за хв.

Кількість протеїну в мембранних препаратах визначали за методом Бредфорд [17], використовуючи для побудови калібрувального графіка альбумін крові людини.

Застосовані реактиви вітчизняного виробництва мали кваліфікацію хч та чда, кумасі яскраво-блакитний, G-250, NADPH, цитохром *с* та MES – виробництва Fluka (Швейцарія), а решта – Sigma (США).

Всі досліди здійснювали в шести біологічних і трьох аналітичних повтореннях, а достовірність одержаних даних визначали за критерієм Стьюдента.

Результати і обговорення

Одержані фракції було охарактеризовано щодо їхньої чистоти та стану мембран. У фракції плазматичних мембран їх вміст дорівнював 84%, тоді як вакуолярних мембран – 6%, а мітохондріальних і апарату Гольджі – кожного 5%. У фракції вакуолярних мембран їх вміст становив 70%, плазматичних – 10%, а мембран мітохондрій та апарату Гольджі – кожного 5%. Фракції було репрезентовано замкненими везикулами діаметром біля 0,1–0,2 мкм (для плазмалеми) та 0,05–0,08 мкм (для тонопласта). В обох фракціях везикули не контактували між собою й мали переважно обернену орієнтацію, яка у фракції плазмалеми дорівнювала 75%, а у фракції тонопласта – 70%. Таким чином, одержані мембранні фракції були придатними для репрезентування певних мембран в біохімічних дослідженнях.

За відсутності сольової експозиції гідролітична активність H^+-ATP-ази плазматичних мембран зростала з віком проростків, тоді як застосування адаптогенних препаратів послаблювало її (табл. 1, *А*). Транспортувальна активність цього ензиму майже не змінювалася з віком проростків, в той час як застосування адаптогенних препаратів спричинювало її посилення (табл. 1, *Б).*

Сольова експозиція проростків інгібувала гідролітичну активність H^+-ATP-ази плазматичної мембрани, причому обидва адаптогенні препарати однаковою мірою сприяли її подальшому, майже дворазовому, падінню під час 1-добової експозиції, тоді як під час 10-добової Івін на відміну від Метіуру призводив до її подальшого сильного гальмування (табл. 2, *А*). Раніше в роботі, виконаній також на коренях проростків кукурудзи, експонованих на 0,1 М NaCl протягом 4 діб, було показано, навпаки, посилення гідролізу АТР на 24,2% відносно безсольового контролю [18]. Розбіжність з нашими результатами можливо пояснюється тим, що її автори працювали не на певній мембранній фракції, а на гомогенатах, де гідроліз АТР здійснювався переважно неспецифічними гідролазами, які звільнялися з вакуолярного простору.

В умовах засолення транспортувальна активність H^+-ATP-ази плазматичних мембран збільшувалася на чверть під час 1-добової експозиції, проте скорочувалася вдвічі у разі її подовження до 10 діб. Обидва препарати стимулювали транспортувальну активність, причому вплив Метіуру був сильнішим і зберігався в часі (табл. 2, *Б*).

Гідролітична і транспортувальна активність H^+-ATP-ази у вакуолярній мембрані виявилася десятикратно меншою, ніж в ензиму в плазматичній мембрані, що вже відзначалося нами раніше [20]. Обробка синтетичними препаратами призводить до інгібування гідролітичної активності (табл. 3, *А*). Обидва препарати спричинювали посилення транспортувальної активності, яка вдвічі скорочувалася з віком проростків, але залишалася у 1,5 раза вищою, ніж у вакуолярних мембранах, ізольованих із контрольних проростків (табл. 3, *Б*).

Сольова експозиція протягом 1 доби зменшувала гідролітичну активність вакуолярної H^+-ATP-ази в 2,4 раза, збільшуючи такою самою мірою транспортувальну (табл. 4, *А*, *Б*). Одержані нами результати щодо підвищення транспортувальної активності H^+-ATP-ази в плазматичній мембрані на 60, а вакуолярної на 140% під час 1-добової сольової експозиції майже повністю збігаються з даними інших авторів [19], одержаними на проростках огірків, експонованих протягом 1 доби на 0,2 М NaCl, де посилення транспортувальної активності цих ензимів відбувається відповідно на 50 і 130%.

Підвищення транспортувальної активності вакуолярної H^+-ATP-ази в умовах засолення було також показано в клітинах солестійких трансгенних форм тютюну, бобів та соняшника [21]. Ці факти засвідчують знач-

Таблиця 1. Вплив адаптогенних препаратів на H^+-ATP-ази плазмалеми клітин коренів проростків кукурудзи

Препарат	Вік проростків			
	8 діб	% по відношенню до контролю	17 діб	% по відношенню до контролю
А. Гідролітична активність (нмоль $P_{неорг}$/мг протеїну·хв)				
Контроль	490,10 ± 5,1	100	690,3 ± 10,1	100
Метіур	450,15 ± 10,2$^{\#,*}$	92	520,2 ± 1,1$^{\#,*}$	75
Івін	250,16 ± 20,1$^{\#,*}$	51	280,15 ± 20,20$^{\#,*}$	41
Б. Транспортувальна активність (Δ%F/мг протеїну·хв)				
Контроль	35,5 ± 1,0	100	37,4 ± 1,0	100
Метіур	40,2 ± 2,0$^{\#}$	114	40,2 ± 1,0$^{\#}$	108
Івін	39,3 ± 1,0$^{\#}$	111	41,3 ± 2,0$^{\#}$	111

Тут і надалі $M \pm m$; $n = 6$, $P < 0,05$, # вірогідно відносно контролю без сольової експозиції, * вірогідно відносно контролю за сольової експозиції

Таблиця 2. Вплив адаптогенних препаратів на H^+-АТР-ази плазмалеми клітин коренів, експонованих у присутності 0,1 NaCl

Препарат	NaCl у середовищі	Термін експозиції проростків			
		1 доба	% по відношенню до контролю	10 діб	% по відношенню до контролю
А. Гідролітична активність (нмоль $P_{неорг}$/мг протеїну·хв)					
Контроль	NaCl	408,11 ± 12,2$^{\#}$	100	520,11 ± 8,2$^{\#}$	100
Метіур	NaCl	218,12 ± 16,3$^{\#,*}$	53	580,20 ± 14,3$^{\#,*}$	111
Івін	NaCl	218,22 ± 20,0$^{\#,*}$	53	174,15 ± 19,1$^{\#,*}$	33
Б. Транспортувальна активність (Δ%F/мг протеїну·хв)					
Контроль	NaCl	44,1 ± 1,5$^{\#}$	100	41,1 ± 1,0$^{\#}$	100
Метіур	NaCl	47,4 ± 2,0$^{\#}$	107	46,3 ± 1,5$^{\#}$	112
Івін	NaCl	40,2 ± 2,0	91	40,3 ± 1,0	98

ну роль вакуолярної H^+-АТР-ази в підтриманні іонного гомеостазу клітин в умовах сольового стресу, яку вона виконує шляхом створення високого мембранного потенціалу на цій мембрані. Проте в наших дослідах подовження сольової експозиції до 10 діб зумовлювало послаблення транспортувальної активності вакуолярної H^+-АТР-ази до рівня безсольового контролю (табл. 4, *Б*). Це дозволяє вважати її посилення за 1-добової сольової експозиції короткочасною стресовою реакцією рослинного організму. Обробка насіння препаратами Метіур та Івін послаблювала гідролітичну активність вакуолярної H^+-АТР-ази за 1-добової сольової експозиції проростків, в той час як їх вплив на транспортувальну активність був протилежним, тобто обидва препарати посилювали її. Такий вплив адаптогенних препаратів спостерігався також за 10-добової сольової експозиції проростків, хоча й меншою мірою (табл. 4, *А*, *Б*).

Одержані результати продемонстрували протилежний вплив застосованих адаптогенних препаратів під час сольової експозиції та без неї на гідролітичну і транспортувальну активність H^+-АТР-аз у вакуолярних та плазматичних мембранах. Посилення транспортувальної активності у разі послаблення гідролітичної вказує на те, що енергія АТР використовувалася переважно на створення електрохімічного потенціалу, чому сприяє застосування адаптогенних препаратів, особливо Метіура. Слід враховувати, що у вакуолярній мембрані функціонує також другий H^+-насос,

Таблиця 3. Вплив препаратів на функціонування H^+-АТР-ази тонопласта в клітинах коренів проростків кукурудзи

Препарат	Вік проростків			
	8 діб	% по відношенню до контролю	17 діб	% по відношенню до контролю
А. Гідролітична активність (нмоль $P_{неорг}$/мг протеїну хв)				
Контроль	53,0 ± 2,0	100	52,5 ± 3,0	100
Метіур	46,0 ± 9,0*	87	46,7 ± 2,0$^{\#,*}$	89
Івін	47,0 ± 3,0*	89	37,4 ± 2,0$^{\#,*}$	71
Б. Транспортувальна активність (Δ%F/мг протеїну хв)				
Контроль	3,4 ± 1,0	100	7,5 ± 1,0	100
Метіур	8,3 ± 0,7$^{\#,*}$	249	10,7 ± 0,3$^{\#,*}$	142
Івін	7,2 ± 1,2$^{\#,*}$	216	11,2 ± 0,2$^{\#,*}$	149

Таблиця 4. Вплив препаратів на функціонування H^+-АТР-ази тонопласта в клітинах коренів, експонованих у присутності 0,1 NaCl

Препарат	NaCl у середовищі	Термін експозиції проростків			
		1 доба	% по відношенню до контролю	10 діб	% по відношенню до контролю
А. Гідролітична активність (нмоль $P_{неорг}$/мг протеїну·хв)					
Контроль	NaCl	$22,0 \pm 2,0^{\#}$	100	$78,2 \pm 3,0^{\#}$	100
Метіур	NaCl	$35,0 \pm 2,0^{\#,*}$	159	$45,0 \pm 2,0^{*}$	57
Івін	NaCl	$29,0 \pm 2,0^{\#}$	132	$45,0 \pm 3,0^{*}$	57
Б. Транспортувальна активність (Δ%F/мг протеїну·хв)					
Контроль	NaCl	$8,7 \pm 1,5^{\#}$	100	$7,6 \pm 0,7$	100
Метіур	NaCl	$9,2 \pm 2,0^{\#,*}$	106	$10,9 \pm 1,0^{\#,*}$	143
Івін	NaCl	$8,7 \pm 0,9^{\#,*}$	100	$10,6 \pm 0,4^{\#,*}$	139

репрезентований H^+-пірофосфатазою, внесок якого у величину мембранного потенціалу в умовах сольового стресу може бути значним. Ефект адаптогенних препаратів на активність H^+-АТР-аз плазматичних та вакуолярних мембран може здійснюватися не тільки шляхом впливу на молекулярну активність цих протеїнів, але також через експресію їхніх генів та генів регуляторних протеїнів.

На нашу думку, біоактивні властивості застосованих нами препаратів великою мірою пов'язані зі здатністю їх посилювати в рослинних клітинах функціонування H^+-насосів, що енергізують процеси активного транспортування через плазматичні і вакуолярні мембрани. В умовах сольового стресу їх адаптогенна спроможність, яка сильніше виявлена у Метіуру, може пояснюватися підтримкою іонного гомеостазу клітин передусім шляхом активного видалення із цитоплазми натрію.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ТРАНСПОРТНЫХ H^+-АТР-аз ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ И ВАКУОЛЯРНЫХ МЕМБРАН КЛЕТОК КОРНЕЙ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОГО СТРЕССА И ДЕЙСТВИЯ АДАПТОГЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Ж. И. Рыбченко, Т. А. Палладина

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, Киев;
e-mail: zhanna_bio@ukr.net, tatiana_palladina@ ukr.net

Участие электрогенных H^+-насосов, механизмы которых в плазматической и вакуолярной мембранах растительных клеток представлены H^+-АТР-азами E_1-E_2 и V-типа, в адаптации к условиям солевого стресса исследовано путем определения их гидролитической и транспортной активности. Исследования проводили на проростках кукурузы, экспонированных на 0,1 М NaCl на протяжении 1 или 10 суток. Синтетические препараты Метиур и Ивин использовались путем замачивания семян в их 10^{-7} М растворах. Фракции плазматических и вакуолярных мембран изолировали из корней проростков. В контрольных вариантах опытов (в среде без NaCl) гидролитическая активность H^+-АТР-азы в плазматической мембране повышалась с возрастом проростков, а транспортная существенно не изменялась, тогда как ответ более слабой вакуолярной H^+-АТР-азы были противоположными. Экспозиция проростков на NaCl снижала гидролитическую активность обеих H^+-АТР-аз и усиливала их транспортную активность, что указывает на усиление работы H^+-насосов, особенно в вакуолярной мембране, представленных H^+-АТР-азой. Оба адаптогенных препарата, главным образом Метиур, способствовали дальнейшему повышению транспортной активности этих энзимов, особенно в вариантах с экспозицией на NaCl. Полученные результаты продемонстрировали важную роль H^+-насосов плазматической и вакуолярной мембран в адаптации клеток растений к условиям солевого стресса, которая осуществляется путем энергетического обеспечения работы вторичноактивных Na^+/H^+-насосов, удаляющих Na^+ из цитоплазмы.

Ключевые слова: засоление, транспортная и гидролитическая активность H^+-АТР-азы, плазмалемма, тонопласт, Метиур, Ивин.

FUNCTION OF TRANSPORT H^+-ATPases IN PLANT CELL PLASMA AND VACUOLAR MEMBRANES OF MAIZE UNDER SALT STRESS CONDITIONS AND EFFECT OF ADAPTOGENIC PREPARATIONS

Zh. I. Ribchenko, T. A. Palladina

Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: zhanna_bio@ukr.net,
tatiana_palladina@ ukr.net

Summary

Participations of electrogenic H^+-pumps of plasma and vacuolar membranes represented by E_1-E_2 and V-type H^+-ATPases in plant cell adaptation to salt stress conditions has been studied by determination of their transport activities. Experiments were carried out on corn seedlings exposed during 1 or 10 days at 0.1 M NaCl. Preparations Methyure and Ivine were used by seed soaking at 10^{-7} M. Plasma and vacuolar membrane fractions were isolated from corn seedling roots. In variants without NaCl a hydrolytical activity of plasma membrane H^+-ATPase was increased with seedling age and its transport one was changed insignificantly, wherease the response of the weaker vacuolar H^+-ATPase was opposite. NaCl exposition decreased hydrolytical activities of both H^+-ATPases and increased their transport ones. These results demonstrated amplification of H^+-pumps function especially represented by vacuolar H^+-ATPase. Both preparations, Methyure mainly, caused a further increase of transport activity which was more expressed in NaCl variants. Obtained results showed the important role of these H^+-pumps in plant adaptation under salt stress conditions realized by energetical maintenance of the secondary active Na^+/H^+ -antiporters which remove Na^+ from cytoplasm.

Key words: salinity, transport and hydrolytic activity of H^+-ATPase, vacuolar, Methyure, Ivine.

1. www.fao/countryprofiles/default.asp
2. *Palmgren M. G.* // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 2001. – **52**. – P. 817–845.
3. *Gaxiola R. A., Palmgren M. G., Schumacher K.* // FEBS Lett. – 2007. – **581**. – P. 2204–2214.
4. *Barkla B. J., Zingarelli L., Blumwald E. and Smith C. A.* // Plant Physiol. – 1995. – **109**. – P. 549–556.
5. *Blumwald E., Aharon G. S., Apse M. P.* // Biochim. Biophys. Acta. – 2000. – **1465**. – P. 140–151.
6. *Яхин О. И., Лубянов А. А., Калимуллина З. Ф.* // Агрохимия. – 2009. – № 3. – С. 25–27.
7. *Пат. 26531 UA*, 51 МПК (2006), А01С 1/00 Спосіб посилення солестійкості кукурудзи для її вирощування на засолених ґрунтах / Палладіна Т. О., Куриленко І. М., Чижикова Т. О. – Опубл. 25.09.2007. – Бюл. № 15.
8. *Куриленко І. М., Палладіна Т. О.* // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 6. – С. 56–60.
9. *Чижикова О. А., Палладіна Т. О.* // Там само. – 2006. – **78**, № 1. – С. 124–129.
10. *Контурська О. О., Палладіна Т. О.* / Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія. – 2007. – 2 (11). С. 64–68.
11. *Larsson C., Sommarin M., Widell S.* // Meth. Enzymology. – 1994. – 228. – P. 451–469.
12. *Poole R. J., Briskin D. P., Kratky Z., Johnstone R. M.* // Plant Physiol. – 1984. – **74**. – P. 594–556.
13. *Briskin D. R.* // Meth. Enzymology. – 1987. – **148**. – P. 546.
14. *Freundlich A., Robards A. V.* // Cytobiologie. – 1974. – **8**, N 3. – P. 355–370.
15. *Lowry O. H., Lopez J. A.* // J. Biol. Chem. – 1946. – **162**. – P. 120–133.
16. *Ward J., Sze H.* // Meth. Plant Cell Biol. – 1995. – **42**. – P. 1148–1156.
17. *Bradford M.* // Anal. Biochem. – 1976. – **72**, N 1. – P. 278–254.
18. *Кабузенко С. Н., Кузнецова Н. Н., Омельченко А. В.* / Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология». – 2007. – 20 (59), № 2. – С. 26–32.
19. *Janicka-Russak M. Klobus G.* // J. Plant Physiol. – 2007. – **164**. – P. 295–302.
20. *Рибченко Ж. І., Палладіна Т. О.* / Доповіді Національної академії наук України. – 2011. – № 5. – С. 176–179.
21. *Queiros F., Fontes N., Silva P. et al.* // J. Exp. Bot. – 2009. – **60**, N 4.– P. 1363–1374.

Отримано 09.08.2011