

ВПЛИВ НІТРОПРУСИДУ НАТРІЮ У СИСТЕМІ *IN VITRO* НА ПІГМЕНТНИЙ СКЛАД, КОНЦЕНТРАЦІЮ КАРБОНІЛЬНИХ ГРУП БІЛКІВ І АНТИОКСИДАНТНИЙ ПОТЕНЦІАЛ У ЛИСТКАХ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ

Ю. Василик*, Н. Мосійчук

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника
вул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ 76025, Україна
e-mail: juliavasylyk@ukr.net*

Було досліджено вплив оксиду Нітрогену (NO), донором якого був нітропрурид натрію (НПН), на вміст пігментів, карбонільних груп білків і антиоксидантний потенціал у листках проростків кукурудзи. Інкубація листків з фериціанідом калію (ФЦК), який використовувався як додатковий контроль, і НПН за концентрацій 0,1 та 0,5 мМ призводила до подібного зростання концентрації хлорофілів, каротиноїдів і антоціанів. За всіх використаних концентрацій ФЦК і НПН знижували вміст карбонільних груп білків на 16–31%, однак лише НПН підвищував загальний антиоксидантний потенціал. Отже, нітропрурид натрію може підвищувати концентрацію пігментів, знижувати кількість карбонільних груп білків, а також підвищувати загальний антиоксидантний потенціал у листках проростків кукурудзи.

Ключові слова: *Zea mays*, пігменти, карбонільні групи білків, антиоксидантний потенціал, оксид Нітрогену.

На даний час триває розробка агрозаходів, спрямованих на посилення стійкості сільськогосподарських культур до різних біотичних і абіотичних факторів. Є можливість значно посилити стійкість рослин до дії негативних чинників шляхом застосування донорів оксиду Нітрогену, таких як нітропрурид натрію, S-нітрозоглутатіон та S-нітрозо-N-ацетилпеніциламін [11, 19, 33].

Оксид Нітрогену (NO) задіяний у розвитку рослин, регуляції проростання насіння [14], поділі клітин [5] і старінні [23]. Він також може вивільнятися рослинами у відповідь на дію різних стресових факторів, зокрема патогенів [10], надмірної інтенсивності світла [14], оксидантів [6] та інших стресорів. Водночас активовані форми Нітрогену можуть мати як захисну, так і токсичну дію [4]. При обробці рослин донорами оксиду Нітрогену останній може проявляти антиоксидантні властивості та попереджувати чи сповільнювати запрограмовану загибель клітини [3].

Метою роботи було дослідити вплив NO -донора нітропруриду натрію на пігментний склад, концентрацію карбонільних груп білків і антиоксидантний потенціал у листках проростків кукурудзи в системі *in vitro* порівняно з впливом фериціаніду калію, який має подібну до нітропруриду натрію хімічну структуру, однак не здатний генерувати NO [13].

Матеріали та методи

Постановка експерименту. Для експерименту використовували насіння кукурудзи (*Zea mays* L.) гібриду харківський 195 МВ. У дослідженнях користувалися реактивами “Sigma-Aldrich” (США, Німеччина), “Fluka” (Німеччина) та вітчизняного виробництва кваліфікації не нижче ч. д. а.

Насіння замочували на добу в дистильованій воді, потім пророщували під вологою серветкою 4 доби. П'ятиденні проростки з довжиною кореня 2,5–3,5 см переносили на модифіковане середовище Hoagland [18] та вирощували в лабораторних умовах при

температурі 26°C за умов 16-годинного освітлення інтенсивністю 6300 люкс. Далі листки (1 г) 10-денних проростків кукурудзи зрізали та переносили у круглодонні колби об'ємом 250 мл, які містили 150 мл водного розчину з різними концентраціями (0,1, 0,5 та 1,0 мМ) нітропрусида натрію (НПН, $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$). Листки інкубувалися протягом 24 год на орбітальному шейкері Skyline (Литва) з постійним помішуванням 150 об/хв і цілодобовим освітленням флуоресцентними лампами (18 Вт) при інтенсивності освітлення 800 люкс. Фериціанід калію (ФЦК, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) використовували як додатковий контроль [13].

Вивільнення оксиду Нітрогену з нітропрусида натрію. Кількість оксиду Нітрогену, утвореного нітропрусидом натрію протягом 24 год, оцінювали непрямим методом з реактивом Гріса (розчин сульфанілової кислоти й α -нафтиламіну в розведений оцтовій кислоті) [28]. Для побудови калібрувального графіка використовували розчин NaNO_2 (0,25 мг $\text{NO}_2^-/\text{л}$). Поглинання світла одержаними пробами визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 536 нм.

Визначення концентрації пігментів. Для екстракції пігментів листки гомогенізували в охолоджену 96% етанолі у співвідношенні 1:10 (маса : об'єм) із додаванням CaCO_3 (для нейтралізації середовища). Гомогенати центрифугували 10 хв при 8000 г (4°C) на центрифугі ОПН-8 (СРСР). З отриманих осадів тричі екстрагували пігменти і центрифугували в попередньому режимі. Екстракти об'єднували і в кінцевому сумарному екстракті спектрофотометрично визначали вміст хлорофілу *a*, хлорофілу *b*, загального хлорофілу, каротиноїдів і антоціанів, як описано нами раніше [30].

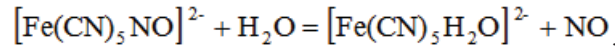
Для визначення вмісту карбонільних груп білків листки проростків кукурудзи гомогенізували в середовищі, яке містило 50 мМ калій-фосфатний буфер (КФБ), рН 7,0, 0,5 мМ етилендіамінтетраацетат (ЕДТА) і 1,0 мМ фенілметилсульфонілфторид. Співвідношення тканини до середовища гомогенізації становило 1:10 (маса : об'єм). Гомогенати центрифугували (10 хв, 13200 г, 4°C) на центрифугі Епендорф 5415 R (Німеччина). Після центрифугування осади відкидали і в подальших експериментах використовували супернатанти. У супернатанті визначали концентрацію карбонільних груп білків з використанням динітрофенілгідрозину [1]. Концентрацію білка у пробах визначали за методом Бредфорд із барвником Кумасі яскраво-голубим G-250 [8]. Як стандарт використовували бичачий сироватковий альбумін.

Загальний антиоксидантний потенціал. Визначення тролокс-еквівалентного антиоксидантного потенціалу (ТЕАП) проводили спектрофотометричним методом за допомогою повнопланшетного фотометра (Labsystems Multiskan MCC/340, Фінляндія) при 414 нм. Метод базується на спектрофотометричному визначенні генерації АБТС катіон-радикала [2,29-азинобіс-(3-етилбензотіазолін-6-сульфонова кислота)], описаною Ре та колегами [29]. Використовували два типи екстрактів – водний і спиртовий. Для отримання екстрактів листки гомогенізували у фарфоровій ступці з 50 мМ КФБ (рН 7.0) або 96% спиртом у співвідношенні 1:10 (маса : об'єм). Екстракти центрифугували 15 хв (16 000 г, центрифуга Епендорф 5415 R (Німеччина)). Тролокс (6-гідрокси-2,5,7,8-тетраметихроман-2-карбоксіильна кислота) використовували як антиоксидантний стандарт.

Статистична обробка результатів. Досліди проводили у трьох біологічних і трьох аналітичних повторях. Експериментальні дані подані як середнє \pm похибка середнього ($M \pm m$). Визначення достовірної різниці між даними проводили за допомогою критерію Даннета, який дає змогу порівнювати множинні групи з однією контрольною групою. Значення $P < 0,05$ розглядали як критерій достовірної різниці порівняно з відповідними контрольними значеннями.

Результати і їхнє обговорення

Вивільнення оксиду Нітрогену з нітропрусиду натрію. Загальновідомо, що у водному розчині нітропрурид натрію вивільняє оксид Нітрогену за таким рівнянням [29]:



У зв'язку з цим нітропрурид натрію широко використовують для дослідження впливу NO на рослини [24, 27, 37].

Були визначені часова динаміка і концентраційна залежність вивільнення NO протягом розпаду НПН для визначення інтенсивності обробки рослин. Утворення оксиду Нітрогену в середовищі з листками проростків кукурудзи опосередковано вимірювали за концентрацією нітриту, який утворюється в результаті спонтанного перетворення NO до NO₂⁻.

З рис. 1 видно часову та концентраційну залежність вивільнення NO. Найнижчу концентрацію нітриту (NO₂⁻) спостерігали при концентрації нітропрусиду натрію 0,1 мМ, в той час як максимальну його концентрацію реєстрували при 1,0 мМ концентрації НПН. Дві використані концентрації (0,5 та 1,0 мМ НПН) показали S-подібну залежність утворення NO₂⁻, з виходом на плато на 16 год інкубації.

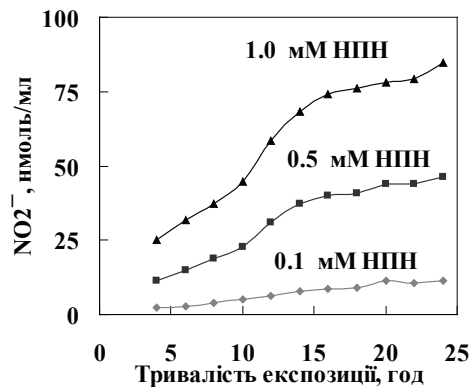


Рис. 1. Утворення нітриту в дистильованій воді, в якій проводилася інкубація листків проростків кукурудзи з донором оксиду Нітрогену нітропруридом натрію (НПН) протягом 24 год експозиції.

Нітропрурид натрію, крім оксиду Нітрогену, може вивільняти й інші продукти розпаду, зокрема ціанід. З огляду на це, фериціанід калію використовували як додатковий контроль для виявлення впливу ймовірних продуктів розпаду НПН протягом інкубації рослин [13]. За експериментальних умов утворення NO₂⁻ не було виявлене за всіх використаних концентрацій ФЦК протягом 24 год (дані не наведені).

Отже, у використаній в цій роботі системі розпад нітропрусиду натрію відбувається зі швидким спонтанним перетворенням оксиду Нітрогену в нітрит, і кількість утвореного продукту прямо пропорційна концентрації вихідного реагенту.

Концентрація пігментів у листках кукурудзи. Відомо, що зміни в навколишньому середовищі впливають на концентрацію пігментів [16].

Спочатку ми дослідили вплив різних концентрацій фериціаніду калію та нітропрусиду натрію на рівень загального хлорофілу в пагонах проростків кукурудзи (табл. 1). Обидві речовини за всіх використаних концентрацій зумовлювали зростання концентрації загального хлорофілу на 10–12%. Виняток становив 1,0 мМ ФЦК, який не впливав на даний показник.

Таблиця 1

Концентрація хлорофілу, каротиноїдів і антоціанів (мкмоль на грам сирової ваги (мкмоль/г св)) у листках проростків кукурудзи під час експозиції з фериціанідом калію та нітропрусидом натрію протягом 24, 48 та 72 год

mM		Хл а	Хл b	Заг. хл	Каротиноїди	Антоціани
0	H ₂ O	1,47±0,06	0,41±0,01	1,87±0,08	0,46±0,03	0,56±0,02
0,1	ФЦК	1,63±0,03*	0,45±0,01*	2,07±0,04*	0,51±0,01*	0,66±0,01*
	НПН	1,74±0,03**	0,47±0,01*	2,20±0,04**	0,55±0,01**	0,67±0,01*
0,5	ФЦК	1,66±0,03*	0,45±0,01*	2,09±0,04*	0,52±0,01*	0,65±0,02*
	НПН	1,61±0,03*	0,46±0,01*	2,05±0,04*	0,50±0,01	0,64±0,01*
1,0	ФЦК	1,50±0,06	0,45±0,01*	1,91±0,07	0,47±0,02	0,59±0,01
	НПН	1,59±0,03	0,47±0,02*	2,08±0,04**	0,48±0,02	0,66±0,02**

Примітка. *Вірогідно відмінне від відповідних значень контрольної групи (H₂O) та **ФЦК груп з P<0,05 (n=7-9).

Концентрація окремих хлорофілів, таких як хлорофіл а та b (Хл а та Хл b), була досліджена для виявлення пігменту, на який впливає обробка нітропрусидом натрію (табл. 1). Подібно до загального хлорофілу, концентрація Хл а зростала при експозиції до 0,1 та 0,5 мМ ФЦК і НПН на 10–18%. Однак обробка 1,0 мМ ФЦК та НПН не призводила до зміни даного показника. Водночас концентрація Хл b зростала на 9 і 14% при експозиції до 1,0 мМ ФЦК та НПН. Нижчі концентрації ФЦК та НПН також призводили до зростання даного показника на 9–13%.

Отримані дані свідчать про те, що обидві використані речовини підвищують вміст пігментів у листках проростків кукурудзи подібним чином. Однак при найвищій концентрації НПН і ФЦК показники значно не відрізнялися між собою. Отримані результати узгоджуються з попередніми дослідженнями, де обробка НПН в умовах дефіциту заліза повністю запобігала хлорозові листків [16].

У наших дослідженнях подібний вплив ФЦК і НПН може бути, принаймні частково, пов'язаний із наявністю заліза в обох речовинах. Попередні дослідження показали, що обробка оксидом Нітрогену підвищувала концентрацію хлорофілів у різних рослинах, таких як картопля, салат-латук і арабідопсис [6, 12]. Концентрація хлорофілів за дії оксиду Нітрогену зростала також у рослин шпинату (*Spinacia oleracea* L.) [9]. Обробка проростків люфи (*Luffa acutangula* L.) 0,1 мМ НПН нівелювала токсичний вплив Арсену, який знижував рівень хлорофілів [32].

Такий ефект може бути пов'язаний з активацією біосинтезу хлорофілу або з його сповільненою деградацією [12] чи участю NO у метаболізмі заліза в рослин [22]. Зокрема, вважають, що NO може підтримувати гомеостаз заліза і покращувати його внутрішньоклітинний транспорт, забезпечуючи таким чином активний біосинтез хлорофілу та розвиток хлоропластів [17].

Каротиноїди є важливими складовими фотосинтетичного апарату в рослинах. Їх вміст відображає фізіологічний статус рослин [35]. Подібно до хлорофілів, концентрація каротиноїдів була вищою на 12 і 14% при інкубуванні листків проростків кукурудзи з 0,1 та 0,5 мМ ФЦК (табл. 1). Нітропрусид натрію підвищував концентрацію каротиноїдів лише при найнижчій із використаних концентрації 0,1 мМ. Проте варто зазначити, що достовірну різницю спостерігали щодо контрольної та інкубованої з ФЦК груп на 20 і 7% відповідно. Зростання концентрації каротиноїдів може бути пов'язане з їх захисною функцією у фотосинтетичному апараті [7].

Концентрація антоціанів була вищою на 14–19% у листках проростків кукурудзи, які інкубувались з 0,1 та 0,5 мМ ФЦК та НПН (табл. 1). Найвища використана концен-

трація 1,0 мМ НПН призводила до зростання даного показника на 16 і 10% порівняно з контрольною та інкубованою з ФЦК групами відповідно. Антоціани добре відомі як природні антиоксиданти, тому зростання їх концентрації характерне для відповіді й адаптації рослин до стресових умов [15].

Отримані результати свідчать, що обидві використані солі підвищують концентрацію пігментів у листках проростків кукурудзи.

Вміст карбонільних груп білків. Зростання концентрації карбонільних груп білків (КБ) часто використовують як маркер окисних процесів, спричинених активними формами кисню [21, 25].

Було виявлено, що обидві використані речовини, фериціанід калію та нітропрурид натрію, за всіх використаних концентрацій призводили до достовірного зниження концентрації КБ у листках проростків кукурудзи (рис. 2). Проте якщо при 0,1 мМ концентрації вміст КБ знижувався лише на 6–7%, то вищі концентрації призводили до зниження на 16–31%. Отримані дані свідчать про те, що за низьких концентрацій $\cdot\text{NO}$ проявляє антиоксидантні властивості та діє як сигнальна молекула, сповільнюючи процеси окислення білків або прискорюючи їх деградацію [2].

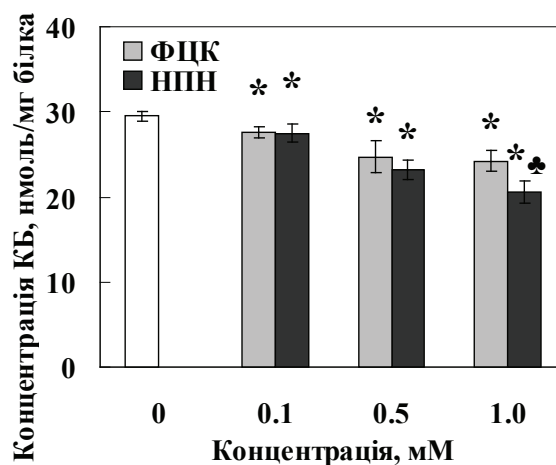


Рис. 2. Концентрація карбонільних груп білків у листках проростків кукурудзи після 24 год експозиції з фериціанідом калію та нітропруридом натрію (0,1, 0,5 та 1,0 мМ). *Вірогідно відмінне від відповідних значень контрольної та *ФЦК груп з $P < 0,05$ ($n=7-9$).

Також слід зазначити, що нітропрурид натрію в концентрації 1,0 мМ достовірно знижував концентрацію карбонільних груп білків не тільки порівняно з контрольною групою на 31%, а й також щодо групи рослин, обробленої фериціанідом калію, на 18%. Подібні результати захисної ролі оксиду Нітрогену проти окисних пошкоджень, спричинених ультрафіолетовим випромінюванням, були показані на листках бобів [31]. Зниження окисних пошкоджень білків також було показано при дії 1 мМ НПН на проростки сорго [20].

Отримані результати показують, що обидві використані речовини можуть зменшувати окисні пошкодження білків у листках проростків кукурудзи, проте 1 мМ НПН більше знижував даний показник.

Антиоксидантний потенціал. Вплив обробки листків проростків кукурудзи фериціанідом калію та нітропруридом натрію на антиоксидантний потенціал, який визначали в еквівалентах тролоксу (ТЕАП), був досліджений в жиророзчинній (при спиртовій екстракції) та гідрофільній (при водній екстракції) фракціях (табл. 2).

Інкубація з фериціанідом калію та нітропрусидом натрію за всіх використаних концентрацій практично не впливала на даний показник. Майже удвічі вищий (80%) антиоксидантний потенціал був отриманий лише у водному екстракті листків проростків кукурудзи, експонованих до 1,0 мМ НПН.

Дані результати дають підстави стверджувати, що нітропрусид натрію може підвищувати загальний антиоксидантний потенціал проростків кукурудзи за рахунок водорозчинних антиоксидантів. Подібний ефект спостерігали за дії стресу, спричиненого кадмієм, у коренях проростків *Medicago truncatula* [36] та за дії осмотичного стресу в проростках пшениці [34].

Таблиця 2

Антиоксидантний потенціал (мкмоль тролокс/г свіжої ваги) у листках проростків кукурудзи після 24 год експозиції з фериціанідом калію та нітропрусидом натрію (0,1, 0,5 та 1,0 мМ)

	Контроль	0,1 мМ	0,5 мМ	1,0 мМ
Водна екстракція				
ФЦК		2,08±0,23	2,02±0,21	2,18±0,19
НПН	2,46±0,29	3,76±0,47*	2,70±0,48	2,90±0,42
Спиртова екстракція				
ФЦК		3,42±0,32	4,37±0,29	3,92±0,25
НПН	3,83±0,38	4,20±0,30	3,73±0,22	3,59±0,29

Примітка. *Вірогідно відмінне від відповідних значень контрольної групи (H₂O), $P < 0,05$.

Підсумовуючи отримані результати, можна стверджувати, що інкубація листків проростків кукурудзи з 0,1 мМ нітропрусидом натрію протягом 24 год призводить до збільшення концентрації хлорофілів, каротиноїдів і антоціанів порівняно з контролями. НПН за концентрації 0,5 мМ підвищує вміст хлорофілів і антоціанів, а 1,0 мМ НПН – лише хлорофілу *b* і антоціанів. Концентрація карбонільних груп білків знижується за дії всіх використаних концентрацій ФЦК або НПН. Також нітропрусид натрію може підвищувати загальний антиоксидантний потенціал за рахунок збільшення вмісту водорозчинних антиоксидантів.

Отже, одержані результати вказують на те, що нітропрусид натрію за низьких концентрацій може частково запобігати інтенсифікації вільнорадикальних процесів. Це може бути використане для розробки методів підвищення стійкості рослин до різних стресових факторів з метою збільшення продуктивності сільськогосподарських культур.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Луцак В. І., Багнюкова Т. В., Луцак О. В. Показники оксидативного стресу. 1. Тіобарбітуратактивні продукти і карбонільні групи білків // Укр. біохім. журнал. 2004. Т. 76. № 3. С. 136–141.
2. Arasimowicz M., Floryszak-Wieczorek J. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses // Plant Science. 2007. Vol. 172. P. 876–887.
3. Beligni M. V., Fath A., Bethke P. C. et al. Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers // Plant Physiol. 2002. Vol. 129. N 4. P. 1642–1650.
4. Beligni M. V., Lamattina L. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues // Planta. 1999. Vol. 208. P. 337–344.
5. Beligni M. V., Lamattina L. Nitric oxide in plants: the history is just beginning // Plant. Cell Environ. 2001. Vol. 24. P. 267–278.
6. Beligni M. V., Lamattina L. Nitric oxide induces seed germination and deetiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants // Planta. 2000. Vol. 210. P. 215–221.

7. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review // *Ann. Bot.* 2003. Vol. 91. P. 179–194.
8. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254.
9. Du S.-T., Liu Y., Zhang P. et al. Atmospheric application of trace amounts of nitric oxide enhances tolerance to salt stress and improves nutritional quality in spinach (*Spinacia oleracea* L.) // *Food Chemistry*. 2015. Vol. 173. P. 905–911.
10. Durner J., Klessig D. F. Nitric oxide as a signal in plants // *Curr. Opin. Plant.* 1999. Vol. 2. P. 369–374.
11. Ederli L., Reale L., Madeo L. et al. NO release by nitric oxide donors in vitro and in planta // *Plant Physiol. Biochem.* 2009. Vol. 47. N 1. P. 42–48.
12. Fan H., Guo S., Jiao Y. et al. Effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen species metabolism, and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress // *Front. Agric. China*. 2007. Vol. 1. P. 308–314.
13. Floryszak-Wieczorek J., Milczarek G., Arasimowicz M., Ciszewski A. Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants? // *Planta*. 2006. Vol. 224. P. 1363–1372.
14. Giba Z., Grubisic D., Todorovic S. et al. Effect of nitric oxide releasing compounds on phytochrome-controlled germination of empress tree seeds // *Plant Growth. Regul.* 1998. Vol. 26. P. 175–181.
15. Gitelson A., Merzlyak M., Chivkunova O. Optical properties and nondestructive estimation of anthocyanin content in plant leaves // *Photochem. Photobiol.* 2001. Vol. 74. N 1. P. 38–45.
16. Graziano M., a Vero M., Beligni M., Lamattina L. Nitric oxide improves internal iron availability in plants // *Plant Physiol.* 2002. Vol. 130. N 4. P. 1852–1859.
17. Graziano M., Lamattina L. Nitric oxide and iron in plants: an emerging and converging story // *Trends in Plant Science*. 2005. Vol. 10. P. 4–8.
18. Hoagland D. R., Arnon D. I. The water-culture method for growing plants without soil // *California Agricultural Experimental Station Circular*. Berkeley: CA University California, 1950.
19. Hogg N. Biological chemistry and clinical potential of S-nitrosothiols // *Free Radical Biol. Med.* 2000. Vol. 28. P. 1478–1486.
20. Jasid S., Simontacchi M., Puntarulo S. Exposure to nitric oxide protects against oxidative damage but increases the labile iron pool in sorghum embryonic axes // *J. Exp. Bot.* 2008. Vol. 59. P. 3953–3962.
21. Johansson E., Olsson O., Nyström T. Progression and specificity of protein oxidation in the life cycle of *Arabidopsis thaliana* // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 22204–22208.
22. Kumar P., Tewari R. K., Sharma P. N. Sodium nitroprusside-mediated alleviation of iron deficiency and modulation of antioxidant responses in maize plants // *AoB Plants*. 2010. plq002.
23. Leshem Y. Y., Wills R. B. H., Ku V. V. Evidence for the function of the free reduced gas – nitric oxide (NO[•]) as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants // *Plant Physiol. Biochem.* 1998. Vol. 36. P. 825–826.
24. Lum H. K., Lee C. H., Butt Y. K. C., Lo S. C. L. Sodium nitroprusside affects the level of photosynthetic enzymes and glucose metabolism in *Phaseolus aureus* (mung bean) // *Nitric oxide*. 2005. Vol. 12. P. 220–230.
25. Lushchak V. I. Free radical oxidation of proteins and its relationship with functional state of organisms // *Biochemistry (Mosc)*. 2007. Vol. 72. N 8. P. 809–827.
26. Lyn D., Williams H. A chemist's view of the nitric oxide story // *Org. Biomol. Chem.* 2003. Vol. 1. P. 141–449.

27. *Nasabi M., Mitchell A., Kalantar-Zadeh K., Nesbitt W.S.* Microstamp patterning of protein arrays // *Nanosci. Nanotechnol.* 2009. P. 117–120.
28. *Privat C., Lantoine F., Bedioui F.* et al. Nitric oxide production by endothelial cells: comparison of three methods of quantification // *Life Sci.* 1997. Vol. 61. № 12. P. 1195–1202.
29. *Re R., Pellegrini N., Proteggente A.* et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay // *Free Rad. Biol. Med.* 1999. Vol. 26. N 9–10. P. 1231–1237.
30. *Semchuk N. M., Lushchak O. V., Falk J.* et al. Effect of *vte1* and *vte4* gene inactivation on salt stress response in *Arabidopsis thaliana* // *Укр. біохім. журнал.* 2008. Vol. 80. N 3. С. 48–54.
31. *Shi S., Wang G., Wang Y.* et al. Protective effect of nitric oxide against oxidative stress under ultraviolet-B radiation. // *Nitric Oxide.* 2005. Vol. 13. P. 1–9.
32. *Singh V. P., Srivastava P. K., Prasad S. M.* Nitric oxide alleviates arsenic-induced toxic effects in ridged *Luffa* seedlings // *Plant Physiol Biochem.* 2013. Vol. 71. P. 155–163.
33. *Stamler J. S., Singel D. J., Loscalzo J.* Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms // *Sci.* 1992. Vol. 258. P. 1898–1902.
34. *Tan J., Zhao H., Hong J.* et al. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress // *World J. Agr. Sci.* Vol. 2008. Vol. 4. N 3. P. 307–313.
35. *Vallabhaneni R., Bradbury L. M., Wurtzel E. T.* The carotenoid dioxygenase gene family in maize, sorghum, and rice // *Arch. Biochem. Biophys.* 2010. Vol. 504. N 1. P. 104–111.
36. *Xu J., Wang W., Yin H.* et al. Exogenous nitric oxide improves antioxidative capacity and reduces auxin degradation in roots of *Medicago truncatula* seedlings under cadmium stress // *Plant Soil.* 2010. Vol. 326. P. 321–330.
37. *Zhang C. P., He P., Du D. D.* et al. Effect of exogenous nitric oxide donor SNP on seed germination and antioxidase activities of *Perilla frutescens* seedlings under NaCl stress // *Zhong. Yao. Cai.* 2011. Vol. 34. N 5. P. 665–669.

Стаття: надійшла до редакції 16.02.15

доопрацьована 01.04.15

прийнята до друку 23.04.15

EFFECT OF SODIUM NITROPRUSSIDE ON PIGMENT CONCENTRATION, CARBONYL PROTEIN GROUPS AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN LEAVES OF MAIZE SEEDLINGS *IN VITRO*

Y. Vasylyk, N. Mosiichuk

*Precarpathian National University named after Vassyl Stefanyk
57, Shevchenko St., Ivano-Frankivsk 76025, Ukraine
e-mail: juliavasylyk@ukr.net*

Sodium nitroprusside (SNP) was used as a donor of nitric oxide (NO) to investigate effects of NO on levels of pigments and protein carbonyl groups, and antioxidant capacity in leaves of maize seedlings. Treatment of leaves with potassium hexacyanoferrate (II) (PCF, used as an additional control) and SNP at concentrations 0.1 and 0.5 mM and SNP lead to a similar increase in the concentration of chlorophylls, carotenoids and anthocyanins. Exposure of leaves to PCF and SNP decreased the concentration of carbonyl protein groups by 16–31%. SNP increased the total antioxidant capacity in maize seedlings affecting

water-soluble antioxidants. These results suggest that sodium nitroprusside may increase the concentration of pigments, reduce the amount of protein carbonyl groups and enhance total antioxidant capacity.

Keywords: *Zea mays*, pigments, carbonyl groups, antioxidant capacity, nitric oxide.

**ВЛИЯНИЕ НИТРОПРУССИДА НАТРИЯ В СИСТЕМЕ *IN VITRO*
НА ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ, КОНЦЕНТРАЦИЮ КАРБОНИЛЬНЫХ ГРУПП
БЕЛКОВ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ В ЛИСТЯХ
ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ**

Ю. Василик, Н. Мосійчук

Прикарпатский национальный университет имени Васыля Стефанька

ул. Шевченко, 57, Ивано-Франковск 76025, Украина

e-mail: juliavasylyk@ukr.net

Исследовано влияние оксида Нитрогена ($\cdot\text{NO}$), донором которого был нитропруссид натрия (НПН), на содержание пигментов, концентрацию карбонильных групп белков и антиоксидантный потенциал в листьях проростков кукурузы. Экспозиция к 0,1 и 0,5 мМ феррицианиду калия (ФЦК), который использовался как дополнительный контроль, и НПН приводила к росту концентрации хлорофиллов, каротиноидов и антоцианов. Оба реагента при всех использованных концентрациях снижали концентрацию карбонильных групп белков на 16-31%, но только НПН повышал общий антиоксидантный потенциал за счет водорастворимых антиоксидантов. Следовательно, нитропруссид натрия может повышать концентрацию пигментов, снижать количество карбонильных групп белков и повышать общий антиоксидантный потенциал.

Ключевые слова: *Zea mays*, пигменты, карбонильные группы белков, антиоксидантный потенциал, оксид Нитрогена.