

УДК 577.218 +577.151.042

## ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У *ARABIDOPSIS THALIANA* ДИКОГО ТИПУ ТА МУТАНТНОЇ ЛІНІЇ КО-CAT2 ЗА УМОВ ТЕПЛОВОГО СТРЕСУ

І.М. ДОЛІБА, Т.О. РУСНАК, Р.А.ВОЛКОВ, І.І. ПАНЧУК

Кафедра молекулярної генетики та біотехнології,  
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
e-mail: irina.panchuk@gmail.com

**Мета.** В умовах теплового стресу в рослинній клітині виникають пошкодження внаслідок денатурації білків і підсилення утворення активних форм кисню (АФК). Метою дослідження було з'ясування функціональної ролі різних ізоформ каталази (CAT) у захисті рослин від підвищених температур. **Методи.** Листя рослин арабідопсису дикого типу та КО-Cat2 нокаут-мутанта піддавали термічній обробці. За розвитком відповіді на тепловий стрес спостерігали, порівнюючи інтенсивність перекисного окислення ліпідів мембран, що було індуковане АФК. **Результати.** Встановлено, що помірна (37 °C) і ще більш жорстка (44 °C) термічна обробка спричиняла активацію перекисного окислення ліпідів у листках арабідопсису. Підсилення рівня перекисного окислення ліпідів у КО-Cat2 нокаут-мутанта порівняно з диким типом було виявлено на ранній стадії (1 год) помірно теплової обробки і у фазі відновлення після жорсткого теплового стресу, тоді як за інших режимів стресової обробки відмінностей виявлено не було. **Висновки.** Отримані дані вказують на те, що CAT2 бере участь у захисті рослинної клітини від термоокисдативного стресу; втрата цієї ізоформи в мутанта може бути хоча б частково компенсована активізацією альтернативних захисних механізмів.

**Ключові слова:** *Arabidopsis thaliana*, тепловий стрес, перекисне окислення ліпідів, каталаза, нокаутні мутанти.

**Вступ.** Зростання температури навколишнього середовища на 5–10 °C вище оптимальної призводить до пошкоджень, а за подальшого зростання температури та часу дії – до загибелі рослин. Основними порушеннями, які виникають на клітинному рівні за умов теплового стресу, є денатурація білків та збільшення продукції активних форм кисню (АФК), зокрема пероксиду водню ( $H_2O_2$ ) [1–3]. Зростання рівня АФК призводить до окислення білків, нуклеїнових кислот та до підсилення перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) клітинних мембран [4]. Активація цього процесу у рослинних організмів спостерігається за дії різних несприятливих чинників біотичної та абіотичної природи, в тому числі підвищених температур [5].

Рівень АФК у рослинній клітині контролює захисна антиоксидантна система, до якої належать низькомолекулярні антиоксиданти та ряд ферментів [6, 7]. Зокрема, до ферментів, що безпосередньо залучені до розщеплення пероксиду водню, належать каталаза (CAT), аскорбат (APX) та гваякол (POD) пероксидази [6]. У рослин кожен із цих трьох ферментів представлений декількома ізоформами, які кодуються членами відповідних мультигенних родин та відповіда-

ють за знешкодження пероксиду водню у різних клітинних компартментах [6, 8, 9]. Так, мультигенна родина, що кодує CAT у *Arabidopsis thaliana*, налічує три гени – *Cat1*, *Cat2* та *Cat3* [10]. Всі три ізоформи CAT знаходяться у пероксисомах і забезпечують розщеплення пероксиду водню, який утворюється у цій органелі, в першу чергу – внаслідок фотодихання. При цьому найбільш експресованою у листках арабідопсису є ізоформа CAT2, на яку припадає приблизно 70% від загальної активності [10, 11]. У межах однієї рослини активність каталази може суттєво відрізнятися у різних органах та залежати від віку або стадії розвитку. Зокрема, ізоформа CAT1 у листках арабідопсису активується лише під час старіння, а активність CAT3 спостерігається переважно у провідних клітинах [11, 12]. Відомо, що CAT виконує важливу роль у захисті рослинної клітини за дії багатьох стресових чинників абіотичної природи [13–15]. У рослин арабідопсису зміни активності CAT виявлено за дії різних стресорів, у тому числі – за дії підвищених температур [16]. Проте захисна роль окремих ізоформ вивчена все ще недостатньо.

Зручною моделлю для з'ясування фізіологічної ролі окремих ізоформ CAT є мутантні форми, у яких втрачено активність певної ізоформи. Тому для вивчення участі CAT2 у захисті рослин арабідопсису за дії підвищених температур ми порівняли реакцію на стрес рослин дикого типу та нокаутної лінії з порушеною експресією ізоформи CAT2. Як інтегративний показник, який відображає зміни фізіологічного стану рослин за умов теплового стресу, було обрано вміст у клітині тіобарбітуратактивних продуктів (ТБКАП), які виникають внаслідок ПОЛ.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на 7-тижневих рослинах *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. екотипу *Columbia 0* (дикий тип, ДТ) та но-

каутної мутантної лінії, *KO-Cat2* (SALK 057998), яку отримано з колекції NASC (Nottingham Arabidopsis Stock Centre, University of Nottingham, Велика Британія). Ця нокаутна лінія містить інсерцію Т-ДНК у кодуючій ділянці гена каталази *Cat2*, що призводить до повної втрати його експресії.

Рослини вирощували у ґрунті в культивацийній кімнаті при сталій температурі 20 °С, освітленні 2,5 кЛк в умовах 16-годинного світлового дня. Після 6,5 тижнів температуру вирощування збільшували до 28 °С та продовжували культивування рослин ще 48 год. У наших попередніх дослідженнях встановлено, що такий режим культивування підсилює клітинну відповідь арабідопсису на тепловий стрес [9].

Для стресової обробки відбирали лише по 5–6 добре розвинутих листків із середньої частини розетки; наймолодші та найстарші листки не використовували. Теплову обробку проводили на термостатованій водяній бані в конічних скляних колбах об'ємом 100 мл, в які вносили по 25 мл інкубаційного буфера (1 мМ калій-фосфатний буфер, рН 6,0) та по 10–15 листків. Обробку здійснювали в темряві протягом 1, 2 та 4 год за 20, 37 та 44 °С.

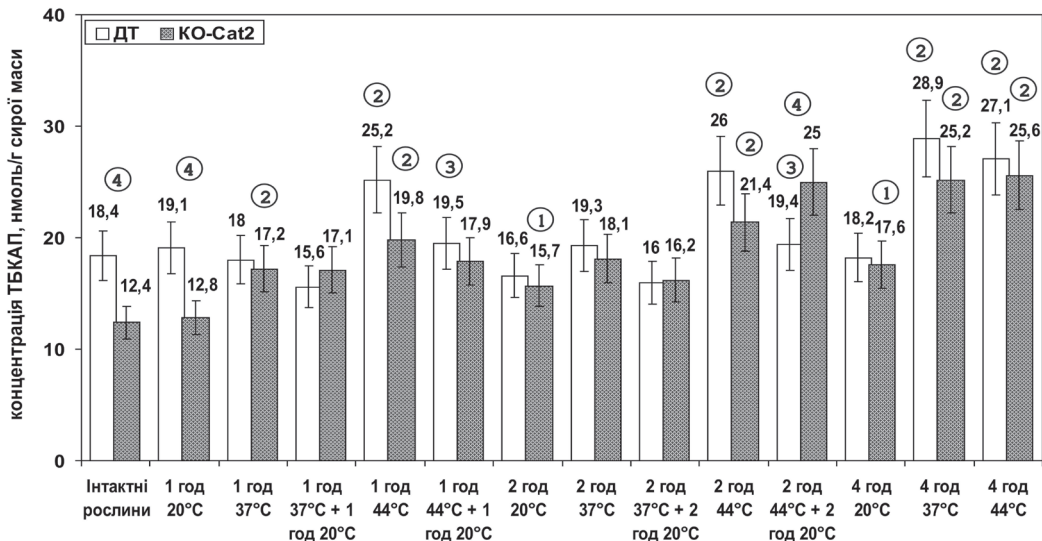
Для вивчення процесів, що відбуваються у фазі постстресової репарації, через 1 або 2 год після початку теплової обробки зразки переносили в камеру, де підтримували температуру 20 °С, і продовжували інкубацію протягом 1 або 2 год, відповідно. Контролем були зразки, які інкубувались протягом зазначеного часу у темряві за температури 20 °С. Після завершення обробки рослини заморожували в рідкому азоті та зберігали в морозильній камері за температури –70 °С для подальших досліджень. Як додатковий контроль використовували інтактні листки, які заморожували безпосередньо після відокремлення від рослини.

Визначення вмісту ТБКАП проводили за методом, описаним в літературі [17]. Для екстрагування ТБКАП до 1 мл 96% ацетону додавали 100 мг рослинного матеріалу, розтертого в рідкому азоті, та центрифугували при 4 °С за 14000 г протягом 15 хв. Після центрифугування супернатант переносили у чисту центрифужну пробірку, додавали 500 мкл дистильованої води та 1,5 мл 0,5% розчину тіобарбітурової кислоти (ТБК) в 20% трихлороцтовій кислоті (ТХО). Проби інкубували на киплячій водняній бані протягом 30 хв, доводили 96% ацетоном до 3 мл та охолоджували на льоду 10 хв. Після цього проби центрифугували 10 хв при 3000 г та перенесли надосадову рідину в чисті пробірки. Паралельно готували холосту контрольну пробу без додавання рослинного матеріалу. Оптичну щільність отриманих проб визначали на спектрофотометрі СФ-46 за довжин хвиль 440, 532 та 600 нм і розраховували вміст ТБКАП, як описано в роботі Du and Bramlage [17].

Всі експерименти було повторено для п'яти незалежно вирощених партій рослин. Кожне вимірювання вмісту ТБКАП проводили у 3–4 паралельних пробах. Статистичну достовірність отриманих даних оцінювали з використанням двовибірково-го t-критерію для залежних вибірок [18].

### Результати та обговорення

Отримані нами результати показують, що у листках 7-тижневих інтактних рослин нокаутної лінії KO-Cat2, які зростали за оптимальних умов культивування, концентрація ТБКАП була на 33% нижчою, ніж у інтактних рослин ДТ (рисунок). У наших попередніх дослідженнях встановлено, що у лінії KO-Cat2 дійсно повністю відсутня активність ізоформи CAT2, але ця втрата частково компенсується додатковою активацією ізоформи CAT3 [19]. Тим не менш, загальна каталазна активність у листках 7-тижневих нокаутних рослин знижена майже в 3 рази порівняно із рослинами ДТ. Порівняння наших нових та попередніх ре-



**Рисунок.** Вміст ТБКАП (нмоль/г сирової маси) у листках рослин *A. thaliana* дикого типу (ДТ) та нокаутної лінії KO-Cat2 в умовах теплового стресу. Різниця достовірна ( $p < 0,05$ ) між контрольними та інтактними рослинами (1), між стресованими та контрольними рослинами (2), між рослинами за умов стресу та постстресового відновлення (3), між рослинами ДТ та KO-Cat2 (4)

зультатів дозволяє стверджувати, що відсутність ізоформи CAT2 не тільки не призводить до підсилення ПОЛ, а навпаки – супроводжується його зменшенням, що може бути пов'язано із зниженням рівня АФК. Складається враження, що у рослинній клітині існують метаболічні механізми, які за оптимальних умов культивування здатні компенсувати відсутність ізоформи CAT2 у мутантних рослин. Раніше нами показано, що 5-тижневі інтактні рослини обох ліній не відрізняються за вмістом ТБКАП [20]. Отже, компенсаторні механізми у мутантної лінії по-різному працюють у рослин різного віку.

Результати аналізу наслідків теплової обробки показали, що у рослин КО-Cat2 вже за дії 1-годинного помірного теплового стресу (37 °С) рівень ТБКАП зростає на 34% порівняно з контролем, у той час як у ДТ він залишається незмінним. Це може бути свідченням того, що на початковому етапі стресової відповіді у рослин з відсутньою ізоформою CAT2 відбувається підсилене зростання рівня АФК, що призводить до активації ПОЛ. Отже, захисні механізми, які успішно компенсують втрату CAT2 у інтактних рослин, є недостатньо ефективними в умовах теплового стресу. В той же час отримані дані свідчать, що CAT2 бере участь у захисті рослинної клітини від пошкодження на ранній фазі (1 год) теплового стресу, адже активація ПОЛ за цих умов спостерігається лише за відсутності цієї ізоформи.

За дії 2-годинної теплової обробки за 37 °С порівняно з контролем рівень ТБКАП зростав лише на 16% у рослин ДТ та на 15% у КО-Cat2, і це зростання було статистично невірогідним. На противагу цьому, суттєве достовірне зростання рівня ТБКАП – на 59% у рослин ДТ та на 43% у КО-Cat2 – спостерігали за дії 4-годинної помірної стресової обробки. При цьому різниця між двома лініями за вмістом ТБКАП у стресових умовах виявилася неві-

рогідною. Отже, CAT2 не бере участі у контролі ПОЛ за дії 2–4-годинного помірного теплового стресу. Альтернативним поясненням відсутності різниці між мутантними рослинами та ДТ може бути активація в умовах стресу механізмів, які компенсують відсутність CAT2. У такому випадку збільшення рівня ТБКАП, зафіксоване нами у КО-Cat2 за 1-годинної обробки, може вказувати на те, що для активації компенсаторних механізмів в умовах стресу (напр., синтез антистресових білків) необхідно як мінімум 2 год. Остання пропозиція добре узгоджується з нашими попередніми даними про динаміку транскрипції та трансляції мРНК в умовах теплового стресу [1, 9, 21].

Зазначимо, що у попередніх дослідженнях нашої лабораторії встановлено тимчасове підвищення рівня пероксиду водню у клітинах *A. thaliana* в умовах теплового стресу. При цьому максимальний рівень спостерігали протягом першої години обробки за 37 °С, тоді як протягом четвертої години рівень пероксиду водню практично знижувався до контрольного рівня [1]. Порівняння цих результатів із новими даними свідчить, що за умов теплового стресу рівень ПОЛ продовжує зростати і після зниження рівня пероксиду водню. Це зниження ймовірно є наслідком зменшення продукції пероксиду водню, а не підсилення його розщеплення, оскільки активність таких ферментів, як APX та POD за дії 4-годинного помірного стресу не зростала, а жорсткого (44 °С) – навіть знижувалася [9, 22].

Жорстка тепла обробка (44 °С) протягом 1, 2 або 4 год призводила до зростання вмісту ТБКАП на 32–57% у ДТ та на 36–55% у нокаутних рослин КО-Cat2 (рисунок). При цьому за 1- та 2-годинної обробки вміст ТБКАП за дії жорсткого стресу виявився вищим, ніж за дії помірного. Це спостереження добре узгоджується із попередніми даними про те, що рівень пе-

роксида водню в умовах жорсткого теплового стресу зростає швидше та сильніше, ніж за дії помірною [1]. Після 4-годинної обробки різниці у вмісті ТБКАП між помірним та жорстким стресом не спостерігали. Також за дії жорсткого стресу не виявлено достовірної різниці між ДТ та KO-Cat2.

В обох досліджуваних лініях рослин у фазі відновлення (інкубація при 20 °С) після помірною теплового стресу суттєвих змін рівня ТБКАП не виявлено. Проте у фазі відновлення після 1- та 2-годинного жорсткого теплового стресу для рослин ДТ виявлено статистично вірогідне зниження вмісту ТБКАП, відповідно, на 23% та 25%. Це свідчить про те, що у фазі відновлення репараційні процеси, зокрема, забезпечують зменшення рівня ПОЛ, а отже – відновлення клітинних мембран.

На відміну від рослин ДТ, у KO-Cat2 у фазі відновлення після 1-годинної інкубації за 44 °С спостерігали лише незначне статистичне невірогідне зниження вмісту ТБКАП, тоді як після 2-годинного жорсткого теплового стресу 2-годинне відновлення за 20 °С не тільки не призводило до зниження концентрації ТБКАП, а навпаки – супроводжувалося зростанням цього показника на 17%. Внаслідок цього концентрація ТБКАП у рослин мутантної лінії ставала на 29% вищою, ніж у ДТ. Отже, за відсутності ізоформи CAT2 у клітинах арабідопсису репаративні процеси у нокаутних рослин KO-Cat2 є менш ефективними та повільнішими, ніж у рослин ДТ.

Варто також зазначити, що між інтактними рослинами ДТ та контрольними зразками, що інкубувалися протягом 1, 2 та 4 год за 20 °С, не виявлено достовірної різниці у рівні ТБКАП. У той же час у контрольних зразках KO-Cat2 вміст ТБКАП зростав, починаючи з другої години інкубування. Максимальне зростання рівня ТБКАП на 42% порівняно з інтактними рослинами виявили у KO-Cat2 за 4-годинного інкубування за 20 °С.

Аналіз усіх отриманих даних свідчить, що у рослин ДТ порівняно з KO-Cat2 найбільш підвищеним – на 49% – рівень ПОЛ виявився у інтактних та контрольних зразках, які піддавалися інкубуванню за 20 °С протягом 1 год. У той же час у фазі пост-стресового відновлення різниці між обома лініями була відсутня або навіть спостерігалось перевищення рівня ПОЛ у KO-Cat2 на 17%. Для всіх інших зразків рівень ПОЛ у KO-Cat2 та ДТ був однаковим, або ж різниці виявилася статистично невірогідною. Отже, метаболічні механізми, що компенсують відсутність ізоформи CAT2 та підтримують процеси ПОЛ на низькому рівні у інтактних 7-тижневих рослин мутантів, які зростають за оптимальних умов культивування, стають менш ефективними при інкубуванні рослин в умовах дослідження. Але найменш ефективними вони є у фазі пост-стресового відновлення, коли рівень ПОЛ у нокаутного мутанта KO-Cat2 стає вищим, ніж у рослин ДТ.

### **Висновки**

В цілому отримані нами результати показують, що помірний тепловий стрес спричиняє у листках *A. thaliana* зростання процесів ПОЛ, яке досягає максимуму за дії 4-годинної стресової обробки. Жорсткі температурні умови призводять до більшого зростання концентрації ТБКАП в обох досліджуваних лініях арабідопсису, починаючи з першої години стресового впливу. У нокаутних рослин у зв'язку з відсутністю ізоформи CAT2 порівняно з рослинами ДТ активація ПОЛ на ранніх етапах стресової обробки відбувається сильніше, а пост-стресові репаративні процеси проходять гірше.

### **Перелік літератури**

1. Volkov R.A., Panchuk I.I., Schoeffl F. Heat stress-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is required for effective expression of heat shock genes in *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. – 2006 – Vol. 61 – P. 733–746.



2. Fedoroff N. Redox regulatory mechanisms in cellular stress responses // *Annals Bot.* – 2006. – Vol. 61. – P. 289–300.
3. Locato V., Concetta de Pinto M., De Gara L. Different involvement of the mitochondrial, plastidial and cytosolic ascorbate-glutathione redox enzymes in heat shock responses // *Physiol. Plantarum.* – 2009. – Vol. 135. – P. 296–306.
4. Bagnyukova T.V., Lushchak O.V., Storey K.B., Lushchak V.I. Oxidative stress and antioxidant defense responses by goldfish tissues to acute change of temperature from 3 to 23 °C // *J. Thermal Biol.* – 2007. – Vol. 32. – P. 227–234.
5. Yamauchi Y., Furutera A., Seki K., Toyoda Y., Tanaka K., Sugimoto Y. Malondialdehyde generated from peroxidized linolenic acid causes protein modification in heat-stressed plants // *Plant Physiol. Biochem.* – 2008. – Vol. 46. – P. 786–793.
6. Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants // *Trends Plant Sci.* – 2004. – Vol. 9. – P. 490–498.
7. Milla A.M., Whelan J. Stress, oxidative stress and mitochondria // *Australian Biochemist.* – 2000. – Vol. 31, № 4. – P. 4–8.
8. Газарян И.Г., Хушпульян Д.М., Тишков В.И. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений // *Успехи биол. химии.* – 2006. – Т. 46. – С. 303–322.
9. Panchuk I.I., Volkov R.A., Schoeffl F. Heat stress and heat shock transcription factor-dependent expression and activity of APX in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2002. – Vol. 129. – P. 838–853.
10. Frugoli J.A., Zhong H.H., Nuccio M.L., McCourt P.M., McPeck A., Thomas T.L., McClung C.R. Catalase is encoded by a multigene family in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh // *Plant Physiol.* – 1996. – Vol. 112. – P. 327–336.
11. Scandalios J.G., Guan L., Polidoros A.N. Catalases in plants: gene structure, properties, regulation, and expression / Scandalios J.G. (ed.) *Oxidative stress and molecular biology of antioxidant defenses.* – Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997. – P. 343–406.
12. Orendi G. Expression von Katalasen waehrend der Blattseneszens und unter verschiedenen Stressbedingungen in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // *Dissertation Verlag Grauer.* – 2001. – 135 s.
13. Scandalios J.G., Acededo A., Ruzsa S. Catalase gene expression in response to chronic high temperature stress in maize // *Plant Sci.* – 2000. – Vol. 156. – P. 103–110.
14. Luna C.M., Pastori G.M., Driscoll S., Groten K. Drought control on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat // *J. Exp. Botany.* – 2005. – Vol. 56, № 411. – P. 417–423.
15. Sofo A., Dichio B., Xiloyannis C., Masia A. Antioxidant defenses in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes // *Funct. Plant Biol.* – 2005. – Vol. 32. – P. 45–53.
16. Долиба I.M., Волков Р.А., Панчук I.I. Зміни активності каталази у *Arabidopsis thaliana* дикого типу та у нокаутного мутанта по гену *Arx2* за дії теплового шоку // *Вісник УТГіС.* – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 211–217.
17. Du Z., Bramlage W. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts // *J. Agricult. Food Chemistry.* – 1992. – Vol. 40. – P. 1566–1570.
18. Лакін Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. узов. – М.: Высш. школа, 1990. – 352 с.
19. Долиба I.M., Волков Р.А., Панчук I.I. Активність каталази та аскорбат пероксидази у *Cat2* нокаутного мутанта *Arabidopsis thaliana* за дії іонів кадмію // *Вісник УТГіС.* – 2011. – Т. 9, № 2. – С. 200–208.
20. Долиба I.M., Волков Р.А., Панчук I.I. Вплив іонів міді на перекисне окислення ліпідів у *Cat2* нокаутного мутанта *Arabidopsis thaliana* // *Вісник УТГіС.* – 2012. – Т. 10, № 1. – С. 13–19.
21. Volkov R.A., Panchuk I.I., Schoeffl F. Heat-stress dependent and developmental modulation of gene expression: the potential of house-keeping genes as internal standards in mRNA expression profiling using real-time RT-PCR // *J. Experimental Botany.* – 2003 – Vol. 54 – P. 2343–2349.
22. Долиба I.M. Участь ізоферментів каталази та пероксидаз у стресовій відповіді рослин. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Чернівці, 2011. – 20 с.

Представлено В.А. Кунахом  
Надійшла 01.11.2012

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ  
У *ARABIDOPSIS THALIANA* ДИКОГО ТИПА  
И МУТАНТНОЙ ЛИНИИ *KO-CAT2* В УСЛОВИЯХ  
ТЕПЛООВОГО СТРЕССА

I.N. Doliba, T.A. Rusnak, R.A. Volkov,  
I.I. Panchuk

Кафедра молекулярной генетики  
и биотехнологии  
Черновицкий национальный университет имени  
Юрия Федьковича  
ул. Коцюбинского 2, Черновцы, 58012, Украина  
e-mail: irina.panchuk@gmail.com

**Цель.** Под воздействием теплового стресса в растительной клетке возникают повреждения в результате денатурации белков и усиления

образования активных форм кислорода (АФК). Целью исследования было выяснение функциональной роли различных изоформ каталазы (CAT) в защите растений от повышенных температур. **Методы.** Листья растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа и KO-Cat2 нокаут-мутанта подвергали термической обработке и наблюдали за развитием ответа на тепловой стресс, сравнивая интенсивность индуцированного АФК перекисного окисления липидов мембран. **Результаты.** Установлено, что умеренная (37 °C) и в большей степени жесткая (44 °C) термическая обработка вызывала активацию перекисного окисления липидов в листьях арабидопсиса. Повышение уровня перекисного окисления липидов у KO-Cat2 нокаут-мутанта по сравнению с диким типом было обнаружено на ранней стадии (1 час) умеренной тепловой обработки и в фазе восстановления после жесткого теплового стресса, тогда как при других режимах стрессовой обработки различий не наблюдалось. **Выводы.** Полученные данные показывают, что CAT2 принимает участие в защите растительной клетки от термоокислительного стресса; потеря этой изоформы у мутанта может быть хотя бы частично компенсирована активацией альтернативных защитных механизмов.

**Ключевые слова:** *Arabidopsis thaliana*, тепловой стресс, перекисное окисление липидов, каталаза, нокаутные мутанты.

LIPID PEROXIDATION IN *ARABIDOPSIS THALIANA* WILD TYPE AND KO-CAT2 KNOCK-OUT MUTANT UPON HEAT STRESS

*I.M. Doliba, T.O. Rusnak, R.A. Volkov, I.I. Panchuk*

Department of Molecular Genetics and Biotechnology  
Yuri Fedkovych National University of Chernivtsi  
Kotsubynski str. 2, 58012 Chernivtsi, Ukraine  
e-mail: irina.panchuk@gmail.com

**Aim.** Denaturation of proteins and increased generation of reactive oxygen species (ROS) results in plant cell injury upon heat stress. The aim of the study was to elucidate the functional role of different catalase (CAT) isoforms in plant protection upon increased temperatures. **Methods.** Leaves of *Arabidopsis thaliana* of wild type and KO-Cat2 knock-out mutant plants were subjected to heat treatment. Development of heat stress response was monitored comparing the intensities of membrane lipid peroxidation induced by ROS. **Results.** It was demonstrated that moderate (37°C) and, especially, severe (44°C) heat treatment activates lipid peroxidation in *Arabidopsis* leaves. Increased level of lipid peroxidation in KO-Cat2 knock-out mutant compared to wild type plants was revealed at early stage (1 hour) of moderate heat treatment and in the recovery phase after severe heat stress. However, no difference was found upon other stress regimes tested. **Conclusions.** The data indicate that CAT2 is involved in plant cell protection against thermooxidative stress; the loss of this isoform in the mutant can be at least partially compensated by activation of alternative protective mechanisms.

**Key words:** *Arabidopsis thaliana*, heat stress, lipid peroxidation, catalase, knock-out mutants.