ISSN 1992-4917. ВІСНИК ХАРКІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО АГРАРНОГО УНІВЕРСИТЕТУ. СЕРІЯ БІОЛОГІЯ
THE BULLETIN OF KHARKIV NATIONAL AGRARIAN UNIVERSITY. SERIES BIOLOGY. 2021. 3 (54): 37-48

ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ РОСЛИН

УДК 581.1

ВИДОВІ ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ОСМОПРОТЕКТОРНОЇ І АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПРОРОСТКІВ ЗЛАКІВ ПРИ ДЕГІДРАТАЦІЇ

© 2021 р. С. М. Приходько[1], М. А. Шкляревський[1], О. І. Кокорев[1], Н. І. Рябчун[2], Ю. Є. Колупаєв[1, 3]

[1]Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва (Харків, Україна)
[2]Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України (Харків, Україна)
[3]Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна (Харків, Україна)

Ключову роль в адаптації рослин до зневоднення відіграють осмопротекторна і антиоксидантна захисні системи. Функціонування цих систем у рослин з різною таксономічною приналежністю може істотно відрізнятися. Порівнювали стан осмопротекторної і антиоксидантної систем етіольованих проростків озимих жита (*Secale cereale* L., сорт Пам'ять Худоєрка), тритикале (× *Triticosecale* Wittm., сорт Раритет) і пшениці (*Triticum aestivum* L., сорт Досконала) за нормального зволоження і дії агента осмотичного стресу 12% ПЕГ 6000. Встановлено, що пророщування насіння в присутності ПЕГ 6000 зменшувало порівняно з контролем масу пагонів у жита, тритикале і пшениці на 39, 40 і 52%, відповідно. При цьому маса коренів у жита зменшувалася на 15, у тритикале – на 32, а у пшениці на 22%. Зниження оводненості проростків жита за стресових умов було менш істотним ніж у тритикале і пшениці. Посилення накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів було найбільш значним у пшениці, а найменш помітним у жита. Таким чином, стійкість етіольованих проростків жита була вищою ніж тритикале, але резистентність тритикале перевершувала стійкість пшениці. Активність супероксиддисмутази (СОД) за стресових умов знижувалася в проростках жита і пшениці, але підвищувалася у тритикале. Активність каталази у відповідь на осмотичний стрес знижувалася у тритикале і пшениці і залишалася стабільною у жита. Активність гваяколпероксидази за стресових умов зростала в проростках усіх трьох видів злаків, але найбільш помітно у жита. Проростки *S. cereale* відрізнялися від злаків інших видів значно вищим вмістом проліну. При цьому у жита у відповідь на осмотичний стрес він зростав більш істотно, ніж у пшениці і особливо тритикале. Вміст цукрів за дії осмотичного стресу дещо збільшувався лише у жита. Проростки жита також відрізнялися більшим вмістом антоціанів, який зростав у відповідь на зневоднення. Зроблено висновок про відмінності стратегій адаптації у злаків різних видів. У жита, ймовірно, найбільший внесок в захисну систему мають пролін, флавоноїдні сполуки і пероксидаза. Водночас особливістю тритикале за стресових умов є підвищені активність СОД і вміст безбарвних флавоноїдів. Вищі показники функціонування антиоксидантної і осмопротекторної систем у проростків жита і тритикале, ймовірно, зумовлюють їх вищу порівняно з пшеницею стійкість до дегідратації.

Ключові слова: *Secale cereale, × Triticosecale, Triticum aestivum, зневоднення, окиснювальний стрес, антиоксидантні ферменти, пролін, цукри, антоціани, флавоноїди*

DOI: https://doi.org/10.35550/vbio2021.03.037

В останні десятиліття посуха у світі стає одним з найбільш шкодочинних абіотичних стресорів. Спричинювані нею втрати врожаю різних культур можуть становити від 30 до 90% (Dietz et al., 2021). Згідно з прогнозними кліматичними моделями, до 2050 року істотна посуха спостерігатиметься майже на половині орних земель світу (Marthandan et al., 2020). Зважаючи

Адреса для кореспонденції: Колупаєв Юрій Євгенович, Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва, п/в Докучаєвське 2, Харків, 62483, Україна; e-mail: plant_biology@ukr.net

на це, дослідження стратегій адаптації культурних рослин до посухи набуває особливої актуальності. Повною мірою це стосується і зернових озимих злаків. Ці рослини зазнають негативного впливу посухи на різних фазах розвитку. Нині помітно зростає частота осінніх посух, які негативно впливають на проростання насіння і розвиток злаків на ранніх стадіях (Al-Tawaha et al., 2017; Marthandan et al., 2020).

Поряд з прямим впливом нестачі вологи на перебіг фізіолого-біохімічних процесів у рослин за умов посухи зазвичай виникає ефект окиснювального стресу – порушення просторово-часового балансу між генерацією і видаленням активних форм кисню (АФК). У зв'язку з цим антиоксидантну систему розглядають як одну з ключових протекторних систем, задіяних в адаптації рослин до посухи (Колупаев, Кокорев, 2019). Незважаючи на те, що її активація є універсальною адаптивною реакцією рослин, за умов посухи вона має відмінні риси, пов'язані, зокрема, із значним внеском в антиоксидантний захист великої кількості сполук, які не прийнято вважати канонічними антиоксидантами – проліну, цукрів, поліамінів та ін. Зазначені сполуки виступають не тільки у ролі скавенджерів АФК, а й перебувають у складній функціональній взаємодії з іншими антиоксидантами (Liang et al., 2013; Soshinkova et al., 2013). Феноменологія і механізми таких ефектів активно досліджуються лише останніми роками (Carvalho et al., 2014; Szalai et al., 2017). Водночас такі низькомолекулярні сполуки, як пролін і цукри, є не лише сумісними осмолітами, а й здатні утворювати водневі зв'язки з біомакромолекулами і мембранними структурами, що сприяє їх стабілізації за умов дегідратації (Zouari et al., 2019). Отже, функціонально пов'язані осмопротекторна і антиоксидантна системи розглядаються як ключові захисні системи при адаптації рослин до дії стресових чинників, що зумовлюють зневоднення клітин: посухи, засолення і від'ємних температур (Riasat et al., 2019; Marthandan et al., 2020).

Відомо, що жито, тритикале і пшениця досить істотно відрізняються особливостями функціонування осмопротекторної і антиоксидантної систем. Зокрема, особливістю жита є високий вміст низькомолекулярних сполук з антиоксидантною активністю – антоціанів та інших флавоноїдних сполук, а також проліну (Kolupaev et al., 2016; Bahrani et al., 2019). Принаймні частково цим пояснюють феномен вищої порівняно з пшеницею стійкості жита до прямих агентів окиснювального стресу (Kolupaev et al., 2016). Серед недостатньо досліджених злаків певний інтерес становить і тритикале – вперше цілеспрямовано і успішно створений людиною міжродовий гібрид. Його сучасні озимі сорти перевершують сорти пшениці не тільки за морозостійкістю, а й за посухостійкістю (Saed-Moucheshi et al., 2019) та продуктивністю (Рибалка та ін., 2015). В окремих роботах відносно високу стійкість тритикале до дії стресорів пов'язують з високою активністю супероксиддисмутази (СОД) та вмістом окремих вторинних метаболітів (Riasat et al., 2019; Ostrowska et al., 2021).

Отже, з особливостями функціонування антиоксидантної і осмопротекторної систем можуть бути пов'язані відмінності у стійкості різних видів злаків до стресових чинників, у тому числі посухи. Варто зауважити, що попри наявність видової і сортової специфіки антиоксидантної системи, окремі її інгредієнти можуть не відображати зв'язків зі стійкістю виду або сорту злаків до дії стресорів (Kolupaev et al., 2020; Горєлова та ін., 2020). У зв'язку з цим, доцільні комплексні дослідження змін стану ферментативної антиоксидантної системи та вмісту низькомолекулярних протекторів (у тому числі антиоксидантів) при адаптації злаків до посухи. Незважаючи на активне вивчення механізмів посухостійкості жита, тритикале і пшениці, порівняльних досліджень стану цих систем у вказаних видів за дії посухи на ранніх фазах розвитку дотепер не проводилося. Це і визначило мету роботи – порівняння стану осмопротекторної і антиоксидантної систем етіольованих проростків озимих жита, тритикале і пшениці за нормального зволоження та дії непроникного агента осмотичного стресу – ПЕГ 6000.

МЕТОДИКА

Для досліджень використовували 4-добові етіольовані проростки озимих жита (*Secale cereale* L., сорт Пам'ять Худоєрка – посухостійкий (https://yuriev.com.ua/ua/katalog-produkcii/katalog/zhito-ozime/pamyat-hudoerka/), тритикале (× *Triticosecale* Wittm., сорт Раритет – посухостійкий (http://www.semagro.com.ua/info/ ozime-tritikale-raritet-338.html) і пшениці (*Triticum aestivum* L., сорт Досконала, лісостепового екотипу, помірно посухостійкий (Карпец и др., 2016). Всі сорти селекції Інституту рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України.

Зернівки знезаражували протягом 40 хв 6% розчином пероксиду водню та ретельно

промивали дистильованою водою. Насіння контрольного варіанта пророщували на водопровідній воді, очищеній з використанням системи водопідготовки, що включає в себе фільтр механічного очищення, вугільний фільтр та напівпроникну зворотноосмотичну мембрану з розміром комірок 1 нм. Осмотичний стрес створювали додаванням в середовище непроникного осмотика ПЕГ (PEG) 6000 у кінцевій концентрації 12% (Kolupaev et al., 2017).

Через 4 доби пророщування насіння при 22°С вимірювали масу пагонів і коренів. Також визначали оводненість проростків. Вміст сухої речовини визначали, висушуючи зразки до сталої маси за температури 103°С.

Біохімічні показники аналізували в пагонах.

Для визначення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) рослинний матеріал гомогенізували в реакційному середовищі, що містило 0,25% 2-тіобарбітурову кислоту в 10% трихлороцтовій кислоті (Fazlieva et al., 2012). Після цього проби кип'ятили протягом 30 хв, різко охолоджували і центрифугували 15 хв при 10000 g. У супернатанті визначали продукти ПОЛ, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (переважно малоновий діальдегід – МДА), вимірюючи оптичну густину при довжині хвилі 532 нм (максимум світлопоглинання МДА) і 600 нм (для поправки на неспецифічне поглинання).

Активність антиоксидантних ферментів визначали за методиками, докладно описаними раніше (Kolupaev et al., 2016). Наважки пагонів гомогенізували за температури 2-4°С в 0,15 М K, Na-фосфатному буфері (pH 7,6) з додаванням ЕДТА (0,1 мМ) і дитіотрейтолу (1 мМ). Для аналізу використовували супернатант після центрифугування гомогенату при 8000 g протягом 15 хв за температури 2-4°С.

Загальну активність СОД (КФ 1.15.1.1) визначали при pH реакційної суміші 7,6, використовуючи метод, в основі якого здатність ферменту конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніони, що утворюються внаслідок аеробної взаємодії НАДН і феназинметосульфату. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) аналізували при pH реакційної суміші 7,0 за кількістю H_2O_2, розкладеного за одиницю часу. Активність гваяколпероксидази (КФ 1.11.1.7) визначали, використовуючи як донор водню гваякол, а як субстрат – пероксид водню. За допомогою K, Na-фосфатного буферу pH реакційної суміші доводили до 6,2. Активність СОД і гваяколпероксидази виражали в умов. од./(г сухої маси • хв), активність каталази – в ммоль H_2O_2/(г сухої маси • хв).

Вміст проліну аналізували з використанням нінгідринового реактиву і виражали в мкмоль/г сухої маси (Bates et al., 1973). Сумарний вміст цукрів в проростках визначали методом Морріса-Рое з використанням антронового реактиву (Zhao et al., 2003) з модифікаціями, описаними нами раніше (Kolupaev et al., 2015).

Для визначення вмісту антоціанів і флавоноїдів, що поглинають в області УФ-В, наважки пагонів гомогенізували в 1% розчині HCl в метанолі. Після центрифугування гомогенату при 8000 g протягом 15 хв визначали оптичну густину супернатанту при довжинах хвиль 530 нм і 300 нм (Nogues, Baker, 2000).

Визначення біохімічних показників проводили не менше ніж в трьох біологічних і трьох аналітичних повтореннях. При визначенні маси органів проростків кожне повторення складалося з 30 проростків. На рисунках і в таблиці наведено середні величини та їх стандартні похибки. Обговорюються відмінності, вірогідні при $P \leq 0{,}05$.

РЕЗУЛЬТАТИ

Ростові показники, вміст води і МДА у проростках злаків за умов осмотичного стресу

Під впливом осмотичного стресу істотно знижувалася маса пагонів проростків усіх трьох видів злаків, найбільше пригнічення їх росту спостерігали у пшениці (таблиця). Істотне інгібування росту коренів відзначали у проростків тритикале і пшениці. Загальна маса проростків під впливом інкубації у присутності ПЕГ 6000 істотно зменшувалася у пшениці і тритикале і менш помітно у жита. Посуха також спричинювала зміни співвідношення між масою пагонів і коренів у проростків трьох видів. Найменшим цей показник був у проростків пшениці (таблиця).

За умов осмотичного стресу знижувалася і оводненість тканин проростків злаків трьох видів (рис. 1). При цьому зниження вмісту води у проростках жита за стресових умов було менш істотним порівняно з проростками тритикале та пшениці.

Зневоднення проростків спричинювало виникнення у них ефекту окиснювального стресу. Так, у пагонах пшениці вміст продукту ПОЛ МДА зростав більш ніж у 1,5 раза (рис. 2). Водночас у проростків тритикале і особливо жита такий ефект був значно менш помітним.

Вплив осмотичного стресу на масу пагонів і коренів проростків злаків
[The effect of osmotic stress on the mass of shoots and roots of cereals seedlings]

Варіант [Variant]	Маса пагона [Shoot weight]		Маса кореня [Root weight]		Маса проростка [Seedling weight]		Співвідношення маса пагона/маса кореня [The ratio of shoot weight/root weight]
	мг [mg]	% до контролю [% to control]	мг [mg]	% до контролю [% to control]	мг [mg]	% до контролю [% to control]	
Secale cereale							
Контроль [Control]	42,4±1,6	100	53,7±2,3	100	96,1±2,8	100	0,79
PEG 6000, 12%	25,8±1,2	60,8	45,8±2,2	85,2	71,6±2,5	74,5	0,56
× *Triticosecale*							
Контроль [Control]	63,2±2,4	100	56,6±2,2	100	119±3,3	100	1,12
PEG 6000, 12%	37,7±1,9	59,7	38,7±2,3	68,4	76,4±3,0	63,8	0,97
Triticum aestivum							
Контроль [Control]	39,1±2,1	100	45,0±2,0	100	84,1±2,9	100	0,87
PEG 6000, 12%	18,7±1,3	47,8	34,9±2,6	77,6	53,6±2,9	63,7	0,54

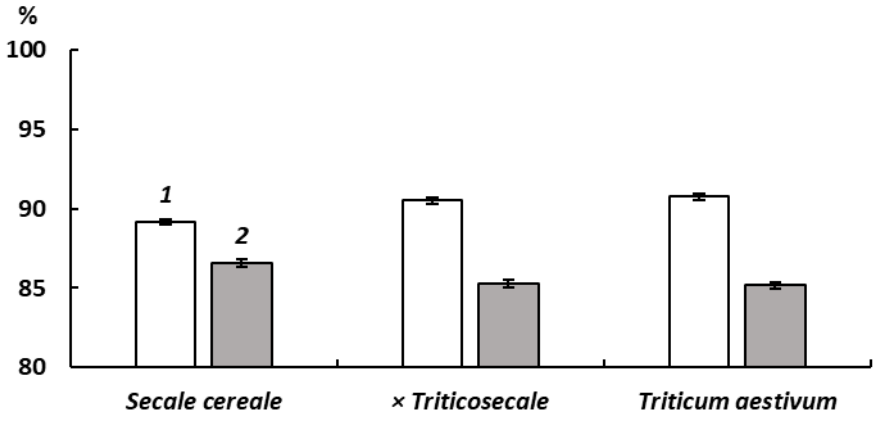

Рис. 1. Оводненість (%) пагонів проростків злаків
[Fig. 1. Water content (%) in shoots of cereals seedlings].

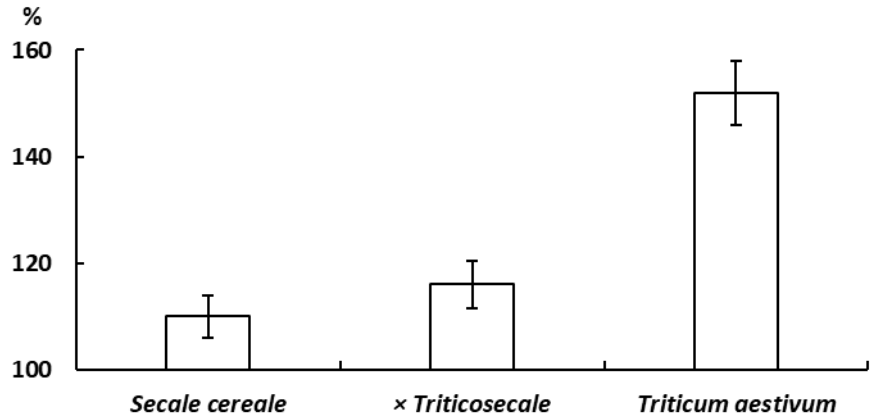

Рис. 2. Вміст МДА (% до контролю) в пагонах проростків злаків за дії осмотичного стресу (12% ПЕГ 6000)
[Fig. 2. The content of MDA (% to control) in shoots of cereals seedlings under the action of osmotic stress (12% PEG 6000)].

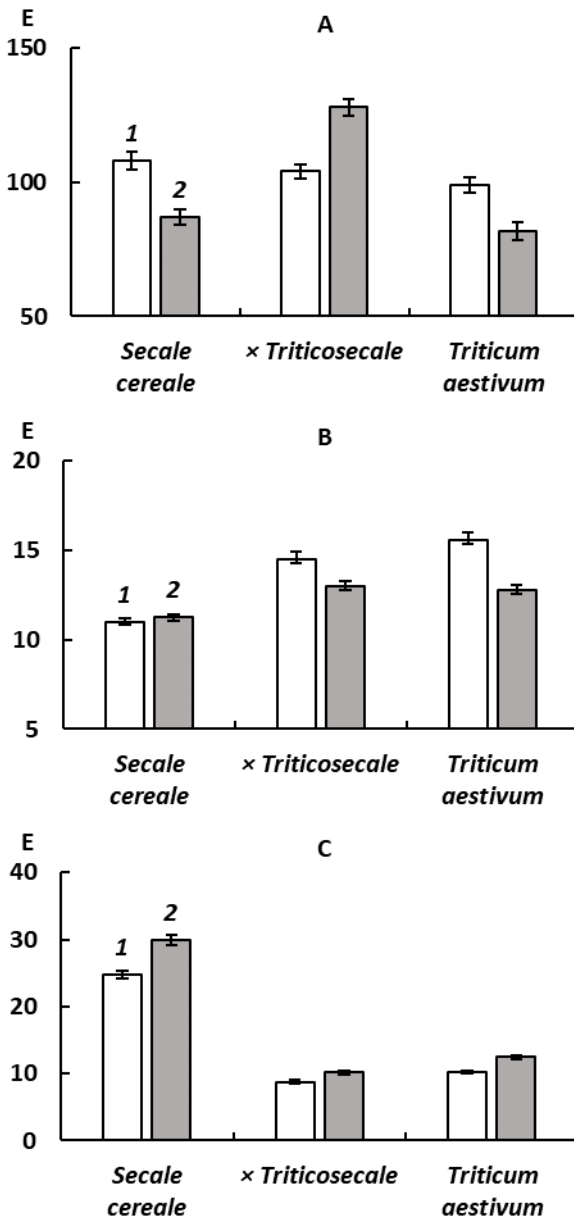

Рис. 3. Активність СОД (А – умов. од./г сухої маси хв), каталази (Б – мкмоль H_2O_2/г сухої маси хв) і гваяколпероксидази (В – умов. од./г сухої маси хв) у пагонах проростків злаків. *1* – контроль; *2* – ПЕГ 6000, 12%
[Fig. 3. The activity of SOD (A – con. u./g of dry weight min), catalase (B - μmol H_2O_2/g of dry mass min), and guaiacol peroxidase (B – con. u./g of dry weight min) in shoots of cereal seedlings. *1* - control; *2* - PEG 6000, 12%**].**

Таким чином, в цілому можна констатувати, що під впливом осмотичного стресу показники росту, вмісту води і розвитку ПОЛ найменшою мірою змінювалися у жита, що свідчить про вищу порівняно з тритикале і пшеницею їх стійкість до зневоднення. Проростки тритикале, у свою чергу, мали дещо вищу стійкість порівняно з проростками пшениці, що виявлялося у менш істотному інгібуванні росту пагонів та меншому накопиченні продукту ПОЛ МДА за умов осмотичного стресу (рис. 2).

Активність антиоксидантних ферментів у проростках злаків за умов осмотичного стресу

Базова активність СОД у проростках трьох видів злаків істотно не відрізнялася (рис. 3, А). Осмотичний стрес спричиняв тенденцію до зниження активності ферменту у пагонах проростків жита і пшениці, у тритикале, навпаки, спостерігалося вірогідне підвищення активності СОД за стресових умов.

Активність каталази за звичайних умов найвищою була у пагонах проростків пшениці, дещо нижчою у тритикале і ще нижчою у жита (рис. 3, В). За дії осмотичного стресу активність ферменту у пшениці і тритикале знижувалася, а у жита зберігалася на рівні контролю.

Активність гваяколпероксидази у пагонах проростків жита за фізіологічно нормальних умов в 2,5-3 рази перевищувала відповідні показники тритикале і пшениці (рис. 3, С). За дії ПЕГ 6000 в пагонах проростків усіх трьох видів відзначалося підвищення активності ферменту, проте найбільш помітним воно було у жита.

Вміст низькомолекулярних протекторних сполук у проростках злаків за умов осмотичного стресу

Конститутивний вміст проліну у проростків жита істотно перевищував такий у тритикале і пшениці (рис. 4, А). У відповідь на осмотичний стрес цей показник у пагонах жита зростав майже у 2,5 раза. У тритикале і пшениці відзначалося приблизно дворазове підвищення вмісту проліну за дії агента осмотичного стресу. При цьому абсолютні значення вмісту проліну за стресових умов найбільшими були у пагонах проростків жита, а найменшими – у тритикале.

Вміст цукрів за звичайних умов у проростків досліджуваних видів злаків відрізнявся неістотно (рис. 4, В). Осмотичний стрес спричиняв відносно невелике підвищення вмісту цукрів лише у проростків жита, у інших видів злаків вірогідних змін цього показника не спостерігали.

Конститутивний вміст антоціанів у пагонах проростків жита втричі перевищував відповідний показник пшениці і вдвічі тритикале

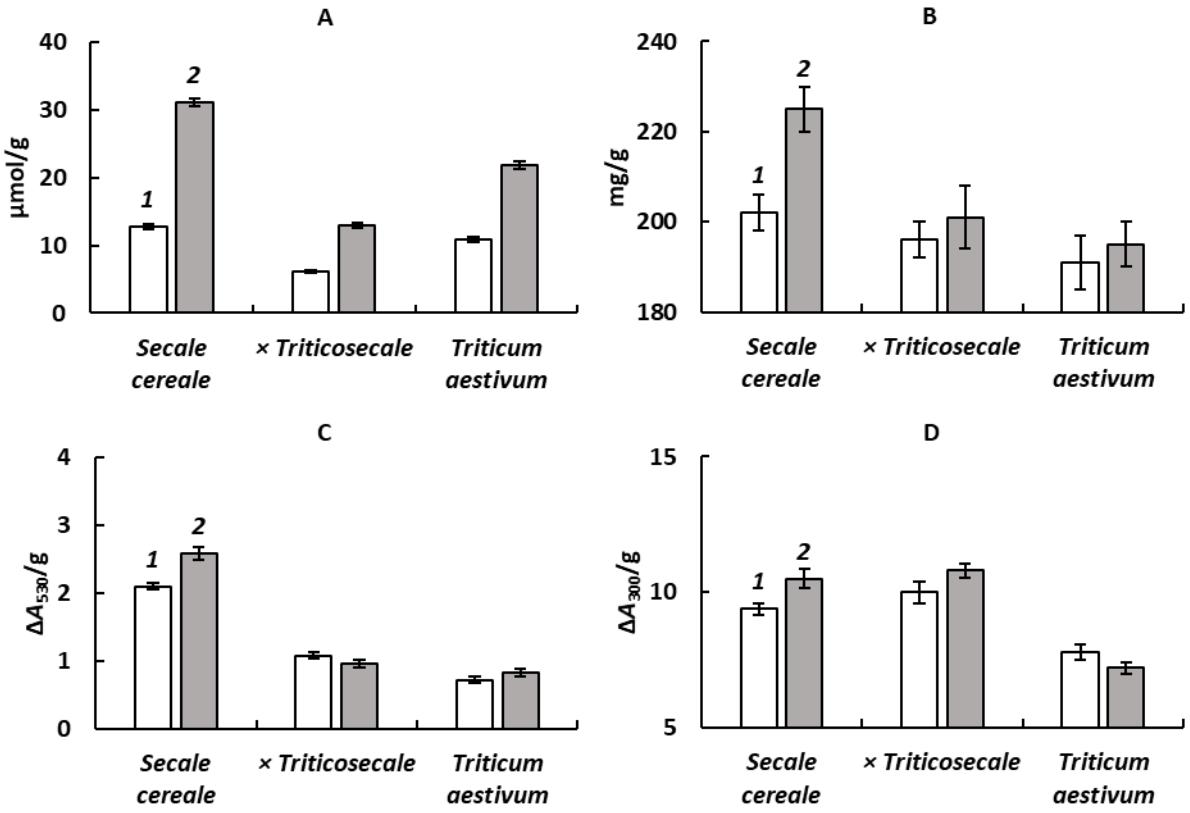

Рис. 4. Вміст проліну (A – мкмоль/г сухої маси), цукрів (B – мг/г сухої маси), антоціанів (C – ΔA_{530}/г сухої маси) і флавоноїдів (D – ΔA_{300}/г сухої маси) у пагонах проростків злаків. *1* – контроль; *2* – ПЕГ 6000, 12%.

[Fig. 4. The content of proline (A – µmol/g of dry weight), sugars (B – mg/g of dry weight), anthocyanins (C – ΔA_{530}/g of dry weight), and flavonoids (D - ΔA_{300}/g of dry weight) in shoots of cereals seedlings. *1* – control; *2* – PEG 6000, 12%**].**

(рис. 4, C). У відповідь на дію осмотичного стресу у жита кількість антоціанів зростала, а у інших злаків її зміни були незначними.

Базовий вміст флавоноїдів, що поглинають в УФ-В, був високим у тритикале і жита і помітно нижчим у пшениці (рис. 4, D). Істотних його змін за дії осмотичного стресу у досліджуваних злаків не спостерігалося.

ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати свідчать, що негативний вплив осмотичного стресу найменшою мірою виявлявся у проростків жита. Інгібування накопичення біомаси під впливом ПЕГ 6000 у жита було менш істотним порівняно з тритикале і пшеницею (таблиця). Також проростки жита за стресових умов зберігали більшу оводненість тканин порівняно з проростками двох інших видів злаків (рис. 1). Нарешті, у проростків жита зафіксовано найменш помітні прояви активації ПОЛ за дії осмотичного стресу (рис. 2).

Проростки тритикале мали меншу стійкість до зневоднення, ніж жито, що виявлялося у помітних ефектах інгібування росту (таблиця) і зменшення вмісту води в присутності ПЕГ 6000 (рис. 1). Водночас у проростків тритикале ріст пагонів за стресових умов пригнічувався менше, ніж у проростків пшениці. Також для тритикале було характерним менше зростання інтенсивності ПОЛ за умов зневоднення порівняно з пшеницею. Це дозволяє говорити про вищу стійкість до зневоднення проростків тритикале сорту Раритет порівняно з проростками пшениці сорту Досконала.

Проведені порівняльні дослідження дають підстави констатувати відмінності у функціонуванні протекторних систем за умов зневоднення у трьох видів злаків. Так, проростки жита вирізнялися значно вищим вмістом проліну і антоціанів, а також активністю гваяколпероксидази порівняно з проростками двох інших видів злаків (рис. 3, 4). Причому, ці відмінності проявлялися і за відсутності дії стресового чинника, а на фоні зневоднення ставали більш

помітними. Подібні відмінності жита відзначалися у ряді досліджень за дії інших стресових чинників. Проростки жита, на відміну від інших озимих злаків, виявляють певний рівень конститутивної морозостійкості, тобто здатні виживати після впливу помірних від'ємних температур за відсутності попереднього загартування (Kolupaev et al., 2015; Горелова и др., 2018). Як уже зазначалося, для жита, на відміну від пшениці, також була характерною висока стійкість до прямих агентів окиснювального стресу – пероксиду водню і сульфату заліза (II) (Kolupaev et al., 2016). У недавньому дослідженні Skrypnik і співавт. (2021) показана вища стійкість жита порівняно з пшеницею і тритикале до абіотичних стресорів, зокрема до дії нафти.

Підвищена стресостійкість жита у вказаних роботах пояснюється саме значно вищим, ніж в інших злаків, вмістом в його органах проліну, антоціанів та інших вторинних метаболітів. У роботі de Sousa та ін. (2020) показано, що сорт жита, який виявляв високу стійкість до токсичної дії алюмінію, відрізнявся від нестійкого сорту цього ж виду значно вищими активністю піролін-5-карбоксилатредуктази і вмістом проліну. У дослідженні Bahrani і співавт. (2019), виконаному з використанням 96 генотипів жита, показаний зв'язок кількісного вмісту і якісного різноманіття антоціанів з морозостійкістю.

Висока активність гваяколпероксидази, характерна для проростків жита (рис. 3), також, ймовірно, має внесок в їх стійкість до зневоднення. Показано, що для алоцитоплазматичних гібридів пшениці з цитоплазмою жита була характерною висока посухостійкість і висока активність різних форм гваяколпероксидази за дії посухи (Kholodova et al., 2007). Примітно, що у загартованих проростків жита, на відміну від пшениці, було характерним значне підвищення активності цього ферменту після проморожування, яке спричинювало осмотичний стрес (Kolupaev et al., 2015).

Певні особливості функціонування протекторних систем виявлені у нашому дослідженні і у проростків тритикале. Цей вид виявився єдиним з досліджуваних, що відповідав на дію осмотичного стресу підвищенням активності СОД (рис. 3). СОД вважається «першим рубежем» в антиоксидантному захисті, оскільки є єдиним ферментом, що знешкоджує супероксидний аніон-радикал, який дає початок утворенню інших АФК (Kolupaev et al., 2019). У кількох роботах показаний зв'язок між експресією генів Cu/Zn-СОД і Mn-СОД, активністю цих форм ферменту і посухостійкістю тритикале (Saed-Moucheshi et al., 2019, 2021). В інших дослідженнях повідомляється про зв'язок між показниками інтенсивності вторинного метаболізму і посухостійкістю сортів тритикале (Osmolowska et al., 2021). В умовах наших експериментів у проростках тритикале відзначався високий вміст флавоноїдів, які поглинають в УФ-В (рис. 4, D), що також може бути внеском у функціонування антиоксидантної та інших протекторних систем.

Проростки пшениці сорту Досконала, що виявляли найнижчу серед досліджуваних злаків стійкість до зневоднення, мали високу базову активність каталази (рис. 3, В). Ймовірно, це до певної міри компенсувало нижчу порівняно з житом активність гваяколпероксидази і менший вміст низькомолекулярних протекторів.

Отже, в цілому отримані результати вказують на зв'язок між функціонуванням антиоксидантної і осмопротекторної систем і стійкістю проростків злаків. Напевно більший внесок у стійкість мають низькомолекулярні компоненти протекторних систем. Зокрема, лише для проростків найбільш стійкого жита характерне значне накопичення проліну, антоціанів та інших стресових метаболітів. Показово, що з морозостійкістю проростків і дорослих рослин злаків найтісніше корелював інтегральний показник вмісту низькомолекулярних протекторів (проліну, цукрів, вторинних метаболітів), а не відповідний показник активності антиоксидантних ферментів (Горєлова та ін., 2020).

Таким чином, можна констатувати відмінності у стратегіях адаптації до стресів, пов'язаних зі зневодненням, у злаків різних видів, принаймні на ранніх фазах розвитку. Адаптація жита до окиснювального стресу і частково зневоднення пов'язана з накопиченням проліну і антоціанів, а також з активацією пероксидази, у той час як для тритикале характерна висока активність СОД. Це узгоджується з уявленням, згідно з яким між активністю СОД і вмістом низькомолекулярних протекторних існують зворотні реципрокні зв'язки (Soshinkova et al., 2013; Kolupaev et al., 2019). Урахування відмінностей в стратегіях адаптації злаків різних видів до зневоднення може бути цінним для удосконалення біохімічних методів оцінки селекційного матеріалу при створенні сортів, стійких до впливу несприятливих абіотичних чинників.

ЛІТЕРАТУРА

Горелова Е.И., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Швиденко Н.В., Попов Ю.В., Шкляревский М.А., Рябчун Н.И. 2018. Конститутивная и индуцированная холодовым закаливанием антиоксидантная активность проростков озимых злаков. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 2 (44) : 59-68.

Горєлова О.І., Рябчун Н.І., Шкляревський М.А., Рєзнік А.М., Колупаєв Ю.Є. 2020. Морозостійкість злаків корелює з інтегральними показниками вмісту низькомолекулярних протекторних сполук і активності антиоксидантних ферментів. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 3 (51) : 71-86.

Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Луговая А.А., Заярная Е.Ю. 2016. Влияние фунгицида седаксан на устойчивость растений пшеницы (Triticum aestivum L.) различных экотипов к почвенной засухе. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 3 (39) : 39-47.

Колупаев Ю.Е., Кокорев А.И. 2019. Антиоксидантная система и устойчивость растений к недостатку влаги. Физиология растений и генетика. 51 (1) : 28-54.

Рибалка О.І., Моргун В.В., Моргун Б.В., Починок В.М. 2015. Агрономічний потенціал і перспективи тритикале. Физиология растений и генетика. 47 (2) : 95-111.

Al-Tawaha A.R., Turk M.A., Abu-Zaitoon Y.M., Aladaileh H.S., Al-Rawashdeh I.M., Alnaimat S., Razzaq A., Al-Tawaha M., Alu'datt M.H., Wedyan M. 2017. Plants adaptation to drought environment. Bulg. J. Agricult. Sci. 23 (3) : 381-388.

Bahrani H., Thoms K., Baga M., Larsen J., Graf R., Laroche A., Sammynaiken R., Chibbar R.N. 2019. Preferential accumulation of glycosylated cyanidins in winter-hardy rye (Secale cereale L.) genotypes during cold acclimation. Environ. Exp. Bot. 164 : 203-212.

Bates L.S., Walden R.P., Tear G.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39 : 205-210.

Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G. 2013. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic Swingle citrumelo. Mol. Biol. Rep. 40 : 3269-3279.

de Sousa A., AbdElgawad H., Fidalgo F., Teixeira J., Matos M., Hamed B.A., Selim S., Hozzein W.N., Beemster G.T.S., Asard H. 2020. Al exposure increases proline levels by different pathways in an Al-sensitive and an Al-tolerant rye genotype. Sci. Rep. 10 (1) : 16401. https://doi.org/10.1038/s41598-020-73358-9

Dietz K.-J., Zorb C., Geilfus C.-M. 2021. Drought and crop yield. Plant Biol. https://doi.org/10.1111/plb.13304

Fazlieva E.R., Kiseleva I.S., Zhuikova T.V. 2012. Antioxidant activity in the leaves of Melilotus albus and Trifolium medium from man-made disturbed habitats in the Middle Urals under the influence of copper. Russ. J. Plant Physiol. 59 (3) : 333-338.

Kholodova V.P., Bormotova T.S., Semenov O.G., Dmitrieva G. A., Kuznetsov Vl. V. 2007. Physiological mechanisms of adaptation of alloplasmic wheat hybrids to soil drought. Russ. J. Plant Physiol. 54 : 480-486.

Kolupaev Y.E., Ryabchun N.I., Vayner A.A., Yastreb T.O. Oboznyi A.I. 2015. Antioxidant enzyme activity and osmolyte content in winter cereal seedlings under hardening and cryostress. Russ. J. Plant Physiol. 62 (4) : 499-506.

Kolupaev Y.E., Yastreb T.O., Oboznyi A.I. Ryabchun N.I., Kirichenko V.V. 2016. Constitutive and cold-induced resistance of rye and wheat seedlings to oxidative stress. Russ. J. Plant Physiol. 63 (4) : 326-337.

Kolupaev Y.E., Karpets Y.V., Yastreb T.O., Firsova E.N. 2017. Protective effect of inhibitors of succinate dehydrogenase on wheat seedlings during osmotic stress. Appl. Biochem. Microbiol. 53 (5) : 353-358.

Kolupaev Y.E., Karpets Y.V., Kabashnikova L.F. 2019. Antioxidative system of plants: cellular compartmentalization, protective and signaling functions, mechanisms of regulation (Review). Appl. Biochem. Microbiol. 55 (5) : 441-459.

Kolupaev Yu.E., Horielova E.I., Yastreb T.O., Ryabchun N. I. 2020. State of antioxidant system in triticale seedlings at cold hardening of varieties of different frost resistance. Cereal Res. Commun. 48 (2): 165-171.

Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. 2013. Proline mechanisms of stress survival. Antioxid. Redox Signal. 19. 998-1011.

Marthandan V., Geetha R., Kumutha K., Renganathan V. G., Karthikeyan A., Ramalingam J. 2020. Seed priming: A feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants. Int. J. Mol. Sci. 21 (21) : 8258. https://doi.org/10.3390/ijms21218258

Nogues S., Baker N.R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under UV-B radiation. J. Exp. Bot. 51 : 1309-1317.

Ostrowska A., Tyrka M., Dziurka M., Hura K., Hura T. 2019. Participation of wheat and rye genome in drought induced senescence in winter triticale (X Triticosecale Wittm.). Agronomy. 9 : 195; https://doi.org/10.3390/agronomy9040195

Riasat M., Kiani S., Saed-Mouchehsi A., Pessarakli M. 2019. Oxidant related biochemical traits are signifi-

cant indices in triticale grain yield under drought stress condition. J. Plant Nutr. 42 (2) : 111-126.

Saed-Moucheshi A., Razi H., Dadkhodaie A., Ghodsi M., Dastfal M. 2019. Association of biochemical traits with grain yield in triticale genotypes under normal irrigation and drought stress conditions. Austral. J. Crop Sci. 13 (2) : 272-281.

Saed-Moucheshi A., Sohrabi F., Fasihfar E., Baniasadi F., Riasat M., Mozafari A.A. 2021. Superoxide dismutase (SOD) as a selection criterion for triticale grain yield under drought stress: a comprehensive study on genomics and expression profiling, bioinformatics, heritability, and phenotypic variability. BMC Plant Biol. 21 (1) : 148. https://doi.org/10.1186/s12870-021-02919-5

Skrypnik L., Maslennikov P., Novikova A., Kozhikin M. 2021. Effect of crude oil on growth, oxidative stress and response of antioxidative system of two rye (Secale cereale L.) varieties. Plants. 10 : 157. https://doi.org/10.3390/plants10010157

Soshinkova T.N., Radyukina N.L., Korolkova D.V., Nosov, A.V. 2013. Proline and functioning of the antioxidant system in Thellungiella salsuginea plants and cultured cells subjected to oxidative stress. Russ. J. Plant Physiol. 60 (1) : 41-54.

Szalai G., Janda K., Darkó E., Janda T., Peeva V., Pál M. 2017. Comparative analysis of polyamine metabolism in wheat and maize plants. Plant Physiol. Biochem. 112 : 239-250.

Zhao K, Fan H, Zhou S, Song J. 2003. Study on the salt and drought tolerance of Suaeda salsa and Kalanchoe claigremontiana under iso-osmotic salt and water stress. Plant Sci. 165 : 837-844.

Zouari M., Hassena A.B., Trabelsi L., Rouina B.B., Decou R., Labrousse P. 2019. Exogenous proline-mediated abiotic stress tolerance in plants: possible mechanisms. In: Osmoprotectant-Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants. Springer. Eds.: Hossain M., Kumar V., Burritt D., Fujita M., Mäkelä P. Cham., pp. 99-121.

REFERENCES

Gorelova E.I., Kolupaev Yu.E., Yastreb T.O., Shvidenko N.V., Popov Yu., Shklyarevskiy M.A., Ryabchun N.I. 2018. Constitutive and induced by cold hardening antioxidant activity in seedlings of winter cereals. Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol. 2 (44) : 59-68.

Horielova E.I., Ryabchun N.I., Shkliarevskyi M.A., Reznik A.M., Kolupaev Yu.E. 2020. Cereals frost resistance correlates with an integral indicators of content of low-molecular-weight protective compounds and activity of antioxidant enzymes. Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol. 3 (51) : 71-86.

Karpets Yu. V., Kolupaev Yu. E., Yastreb T. O., Lugovaya G. A., Zayarnaya E. Yu. 2016. Influence of fungicide Sedaxane on resistance of wheat (Triticum aestivum L.) plants of various ecotypes to soil drought. Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol. 3 (39) : 39-47.

Kolupaev Yu.E., Kokorev A.I. 2019. Antioxidant system and plant resistance to water deficit. Fiziol. rast. genet. 51 (1) : 28-54.

Rybalka O.I., Morgun V.V., Morgun B.V., Pochynok V.M. 2015. Agronomic potential and perspectives of triticale. Fiziol. rast. genet. 47 (2) : 95-111.

Al-Tawaha A.R., Turk M.A., Abu-Zaitoon Y.M., Aladaileh H.S., Al-Rawashdeh I.M., Alnaimat S., Razzaq A., Al-Tawaha M., Alu'datt M.H., Wedyan M. 2017. Plants adaptation to drought environment. Bulg. J. Agricult. Sci. 23 (3) : 381-388.

Bahrani H., Thoms K., Baga M., Larsen J., Graf R., Laroche A., Sammynaiken R., Chibbar R.N. 2019. Preferential accumulation of glycosylated cyanidins in winter-hardy rye (Secale cereale L.) genotypes during cold acclimation. Environ. Exp. Bot. 164 : 203-212.

Bates L.S., Walden R.P., Tear G.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39 : 205-210.

Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G. 2013. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic Swingle citrumelo. Mol. Biol. Rep. 40 : 3269-3279.

de Sousa A., AbdElgawad H., Fidalgo F., Teixeira J., Matos M., Hamed B.A., Selim S., Hozzein W.N., Beemster G.T.S., Asard H. 2020. Al exposure increases proline levels by different pathways in an Al-sensitive and an Al-tolerant rye genotype. Sci. Rep. 10 (1) : 16401. https://doi.org/10.1038/s41598-020-73358-9

Dietz K.-J., Zorb C., Geilfus C.-M. 2021. Drought and crop yield. Plant Biol. https://doi.org/10.1111/plb.13304

Fazlieva E.R., Kiseleva I.S., Zhuikova T.V. 2012. Antioxidant activity in the leaves of Melilotus albus and Trifolium medium from man-made disturbed habitats in the Middle Urals under the influence of copper. Russ. J. Plant Physiol. 59 (3) : 333-338.

Kholodova V.P., Bormotova T.S., Semenov O.G., Dmitrieva G. A., Kuznetsov Vl. V. 2007. Physiological mechanisms of adaptation of alloplasmic wheat hybrids to soil drought. Russ. J. Plant Physiol. 54 : 480-486.

Kolupaev Y.E., Ryabchun N.I., Vayner A.A., Yastreb T.O. Oboznyi A.I. 2015. Antioxidant enzyme activity and osmolyte content in winter cereal seedlings under hardening and cryostress. Russ. J. Plant Physiol. 62 (4) : 499-506.

Kolupaev Y.E., Yastreb T.O., Oboznyi A.I. Ryabchun N.I., Kirichenko V.V. 2016. Constitutive and cold-induced resistance of rye and wheat seedlings

to oxidative stress. Russ. J. Plant Physiol. 63 (4) : 326-337.

Kolupaev Y.E., Karpets Y.V., Yastreb T.O., Firsova E.N. 2017. Protective effect of inhibitors of succinate dehydrogenase on wheat seedlings during osmotic stress. Appl. Biochem. Microbiol. 53 (5) : 353-358.

Kolupaev Y.E., Karpets Y.V., Kabashnikova L.F. 2019. Antioxidative system of plants: cellular compartmentalization, protective and signaling functions, mechanisms of regulation (Review). Appl. Biochem. Microbiol. 55 (5) : 441-459.

Kolupaev Yu.E., Horielova E.I., Yastreb T.O., Ryabchun N. I. 2020. State of antioxidant system in triticale seedlings at cold hardening of varieties of different frost resistance. Cereal Res. Commun. 48 (2): 165-171.

Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. 2013. Proline mechanisms of stress survival. Antioxid. Redox Signal. 19. 998-1011.

Marthandan V., Geetha R., Kumutha K., Renganathan V. G., Karthikeyan A., Ramalingam J. 2020. Seed priming: A feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants. Int. J. Mol. Sci. 21 (21) : 8258. https://doi.org/10.3390/ijms21218258

Nogues S., Baker N.R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under UV-B radiation. J. Exp. Bot. 51 : 1309-1317.

Ostrowska A., Tyrka M., Dziurka M., Hura K., Hura T. 2019. Participation of wheat and rye genome in drought induced senescence in winter triticale (X Triticosecale Wittm.). Agronomy. 9 : 195; https://doi.org/10.3390/agronomy9040195

Riasat M., Kiani S., Saed-Mouchehsi A., Pessarakli M. 2019. Oxidant related biochemical traits are significant indices in triticale grain yield under drought stress condition. J. Plant Nutr. 42 (2) : 111-126.

Saed-Moucheshi A., Razi H., Dadkhodaie A., Ghodsi M., Dastfal M. 2019. Association of biochemical traits with grain yield in triticale genotypes under normal irrigation and drought stress conditions. Austral. J. Crop Sci. 13 (2) : 272-281.

Saed-Moucheshi A., Sohrabi F., Fasihfar E., Baniasadi F., Riasat M., Mozafari A.A. 2021. Superoxide dismutase (SOD) as a selection criterion for triticale grain yield under drought stress: a comprehensive study on genomics and expression profiling, bioinformatics, heritability, and phenotypic variability. BMC Plant Biol. 21 (1) : 148. https://doi.org/10.1186/s12870-021-02919-5

Skrypnik L., Maslennikov P., Novikova A., Kozhikin M. 2021. Effect of crude oil on growth, oxidative stress and response of antioxidative system of two rye (Secale cereale L.) varieties. Plants. 10 : 157. https://doi.org/10.3390/plants10010157

Soshinkova T.N., Radyukina N.L., Korolkova D.V., Nosov, A.V. 2013. Proline and functioning of the antioxidant system in Thellungiella salsuginea plants and cultured cells subjected to oxidative stress. Russ. J. Plant Physiol. 60 (1) : 41-54.

Szalai G., Janda K., Darkó E., Janda T., Peeva V., Pál M. 2017. Comparative analysis of polyamine metabolism in wheat and maize plants. Plant Physiol. Biochem. 112 : 239-250.

Zhao K, Fan H, Zhou S, Song J. 2003. Study on the salt and drought tolerance of Suaeda salsa and Kalanchoe claigremontiana under iso-osmotic salt and water stress. Plant Sci. 165 : 837-844.

Zouari M., Hassena A.B., Trabelsi L., Rouina B.B., Decou R., Labrousse P. 2019. Exogenous proline-mediated abiotic stress tolerance in plants: possible mechanisms. In: Osmoprotectant-Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants. Springer. Eds.: Hossain M., Kumar V., Burritt D., Fujita M., Mäkelä P. Cham., pp. 99-121.

Надійшла до редакції
21.05.2021 р.

SPECIFIC FEATURES OF THE FUNCTIONING OF OSMOPROTECTIVE AND ANTIOXIDANT SYSTEMS OF CEREAL SEEDLINGS UNDER DEHYDRATION

S. M. Prykhod'ko[1], M. A. Shkliarevskyi[1], A. I. Kokorev[1],
N. I. Ryabchun[2], Yu. E. Kolupaev[1, 3]

[1]Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)
E-mail: plant_biology@ukr.net
[2]Yurjev Plant Production Institute
of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
(Kharkiv, Ukraine)
[3]Karazin Kharkiv National University
(Kharkiv, Ukraine)

Osmoprotective and antioxidant defense systems play a key role in the adaptation of plants to dehydration. The functioning of these systems in plants with different taxonomic affiliations can differ

significantly. We compared the state of the osmoprotective and antioxidant systems of etiolated seedlings of winter rye (*Secale cereale* L., cultivar Pamyat Khudoerko), triticale (× *Triticosecale* Wittm., cultivar Raritet), and wheat (*Triticum aestivum* L., cultivar Doskonala) both under normal moisture and the action of an osmotic stress agent 12% PEG 6000. It was found that seeds germination in the presence of PEG 6000 reduced the mass of shoots in rye, triticale, and wheat by 39, 40, and 52%, respectively, compared with the control. At the same time, the mass of roots in rye decreased by 15, in triticale by 32, and in wheat by 22%. The decrease in water content in rye seedlings under stress conditions was less significant than in triticale and wheat. The increase in the accumulation of lipid peroxidation products was the most significant in wheat and the least noticeable in rye. Thus, the resistance of etiolated rye seedlings was higher than that of triticale, but the resistance of triticale was superior to that of wheat. Superoxide dismutase (SOD) activity under stress conditions decreased in rye and wheat seedlings but increased in triticale. Catalase activity in response to osmotic action decreased in triticale and wheat and remained stable in rye. The activity of guaiacol peroxidase under stress conditions increased in seedlings of all three types of cereals, but most noticeably in rye. Seedlings of *S. cereale* differed from cereals of other species by a significantly higher content of proline. At the same time, in rye, in response to osmotic stress, it increased more significantly than in wheat and especially triticale. The sugar content slightly increased under the action of osmotic stress only in rye. Rye seedlings were also rich in anthocyanins, which increased in response to dehydration. The conclusion is made about the differences in the adaptation strategies of different types of cereals. In rye, proline, flavonoid compounds, and peroxidase are probably the largest contributors to the defense system. At the same time, triticale features under stress conditions are the increased both SOD activity and the content of colorless flavonoids. The high indicators of the functioning of the antioxidant and osmoprotective systems in rye and triticale seedlings probably determine their higher resistance to dehydration compared to wheat.

Key words: *Secale cereale, × Triticosecale, Triticum aestivum, dehydration, oxidative stress, antioxidant enzymes, proline, sugars, anthocyanins, flavonoids*

ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ОСМОПРОТЕКТОРНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ ПРОРОСТКОВ ЗЛАКОВ ПРИ ДЕГИДРАТАЦИИ

С. М. Приходько[1], М. А. Шкляревский[1], А. И. Кокорев[1], Н. И. Рябчун[2], Ю. Е. Колупаев[1, 3]

[1]Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева (Харьков, Украина)
E-mail: plant_biology@ukr.net
[2]Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева Национальной академии аграрных наук Украины (Харьков, Украина)
[3]Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина (Харьков, Украина)

Ключевую роль в адаптации растений к обезвоживанию играют осмопротекторная и антиоксидантная защитные системы. Функционирование этих систем у растений с разной таксономической принадлежностью может существенно отличаться. Сравнивали состояние осмопротекторной и антиоксидантной систем этиолированных проростков озимых ржи (*Secale cereale* L., сорт Память Худоерко), тритикале (× T*riticosecale* Wittm., сорт Раритет) и пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Досконала) при нормальном увлажнении и действии агента осмотического стресса 12% ПЭГ 6000. Установлено, что проращивание семян в присутствии ПЭГ 6000 уменьшало массу побегов у ржи, тритикале и пшеницы на 39, 40 и 52%, соответственно, по сравнению с контролем. При этом масса корней у ржи уменьшалась на 15 в тритикале – на 32, а у пшеницы на 22%. Снижение оводненности проростков ржи в стрессовых условиях было менее существенным, чем в тритикале и пшеницы. Усиление накопления продуктов пероксидного окисления липидов было наиболее значительным у пшеницы, а наименее заметным у ржи. Таким образом, устойчивость этиолированных проростков ржи была выше, чем тритикале, но резистентность тритикале превосходила устойчивость пшеницы. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в стрессовых условиях снижалась у проростков ржи и пшеницы, но повышалась у тритикале. Активность каталазы в ответ на осмотическое воздействие сни-

жалась у тритикале и пшеницы и оставалась стабильной у ржи. Активность гваяколпероксидазы в стрессовых условиях повышалась у проростков всех трех видов злаков, но наиболее заметно у ржи. Проростки *S. cereale* отличались от злаков других видов значительно большим содержанием пролина. При этом у ржи в ответ на осмотический стресс оно повышалось более существенно, чем у пшеницы и особенно тритикале. Содержание сахаров при действии осмотического стресса несколько увеличивалось только у ржи. Проростки ржи также отличались большим содержанием антоцианов, которое увеличивалось в ответ на обезвоживание. Сделан вывод о различиях стратегий адаптации злаков разных видов. У ржи, вероятно, наибольший вклад в защитную систему вносят пролин, флавоноидные соединения и пероксидаза. В то же время особенностью тритикале в стрессовых условиях являются повышенные активность СОД и содержание бесцветных флавоноидов. Высокие показатели функционирования антиоксидантной и осмопротекторной систем у проростков ржи и тритикале, вероятно, обусловливают их более высокую по сравнению с пшеницей устойчивость к дегидратации.

Ключевые слова: *Secale cereale, × Triticosecale, Triticum aestivum, обезвоживание, окислительный стресс, антиоксидантные ферменты, пролин, сахара, антоцианы, флавоноиды*