

УДК 581.1:577.13

## МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ЗЛАКІВ КОРЕЛЮЄ З ІНТЕГРАЛЬНИМИ ПОКАЗНИКАМИ ВМІСТУ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ПРОТЕКТОРНИХ СПОЛУК І АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ

© 2020 р. О. І. Горслова<sup>1</sup>, Н. І. Рябчун<sup>2</sup>, М. А. Шкляревський<sup>1</sup>,  
А. М. Рєзнік<sup>2</sup>, Ю. Є. Колупаєв<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва  
(Харків, Україна)

<sup>2</sup>Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва  
Національної академії аграрних наук України  
(Харків, Україна)

Поряд зі специфічними адаптивними реакціями, важливе значення для виживання рослин в умовах дії холоду мають універсальні захисні реакції, зокрема, активація антиоксидантної системи. Досліджували зв'язок між вмістом низькомолекулярних протекторних сполук з антиоксидантними властивостями (проліну, розчинних вуглеводів, флавоноїдів), активністю антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази і гваяколпероксидази) у проростках озимих пшениці, жита і тритикале та морозостійкістю етіолованих проростків і дорослих рослин у фазі кушіння. Встановлено, що між морозостійкістю проростків і дорослих рослин злаків існує достатньо тісна кореляція ( $r = 0,78$ ). Показано, що виразний зв'язок між окремо взятими показниками функціонування антиоксидантної системи у незагартованих проростків та їх морозостійкістю не виявляється. Проте після 6-добового загартування проростків при 2-4°C відзначалася висока кореляція сумарного показника ферментативної антиоксидантної системи (сума нормованих показників активності супероксиддисмутази, пероксидази і каталази) з їх морозостійкістю ( $r = 0,86$ ), однак коефіцієнт кореляції цього показника з морозостійкістю рослин у фазі кушіння був значно меншим ( $r = 0,47$ ). Водночас виявлено високу кореляцію між вмістом низькомолекулярних протекторів у загартованих проростках і морозостійкістю дорослих рослин у фазі кушіння ( $r = 0,89$ ). Найбільш тісна кореляція відзначалася між інтегральним нормованим показником, що складався з суми нормованих величин активності антиоксидантних ферментів та вмісту низькомолекулярних протекторів у загартованих проростках, і морозостійкістю проростків ( $r = 0,94$ ) та рослин у фазі кушіння ( $r = 0,89$ ). Встановлено наявність видових особливостей функціонування антиоксидантної системи за холодової адаптації проростків злаків. Для жита характерний високий вміст низькомолекулярних протекторних сполук, у той же час у проростків пшениці вищі активності антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази і каталази. У тритикале, залежно від генотипу, варіювали величини як ферментативної антиоксидантної активності, так і вмісту низькомолекулярних протекторів.

**Ключові слова:** *Secale cereale*, × *Triticosecale*, *Triticum aestivum*, холодове загартування, морозостійкість, окислювальний стрес, антиоксидантні ферменти, низькомолекулярні протекторні сполуки

**DOI:** <https://doi.org/10.35550/vbio2020.03.071>

Згубний вплив низьких температур на рослини можливий на 64% суші Землі (Chen et

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

al., 2014). Заморозки і морози спричиняють значні збитки у рослинництві. У першу чергу це стосується озимих зернових культур, зокрема, пшениці, однієї з основних продовольчих культур. У роки з несприятливими умовами зимового періоду може спостерігатися масова

загибель посівів озимих зернових культур (Моргун, Майор, 2009). Зважаючи на це, дослідження механізмів морозостійкості мають не лише фундаментальне, а й прикладне значення, зокрема, для скринінгу морозостійких генотипів для потреб селекції (Дьяченко и др., 2007).

Стійкість рослин до гіпотермії – мультигенна ознака (Ruelland et al., 2009). Дослідженнями останніх десятиліть ідентифіковано багато змін експресії генів і перебігу фізіолого-біохімічних процесів при адаптації рослин до низьких температур (Трунова, 2007). Серед ефектів, що мають найбільш важливе адаптивне значення, – синтез білків холодового шоку (COR- (cold-regulated) білків, дегідринів та ін.), зміни складу ліпідів мембран на користь залишків ненасичених жирних кислот (Нарайкіна, 2017), накопичення кріопротекторів, до яких належать переважно сумісні осмоліти (Theocharis et al., 2012), активація альтернативного дихання, яка може бути причиною термогенезу у рослин (Grabelnych et al., 2004).

Поряд зі специфічними адаптивними реакціями, важливе значення для виживання рослин в умовах дії холоду мають універсальні захисні реакції. Відомо, що однією з причин пошкодження рослин при дії низьких температур є вторинний окислювальний стрес, зумовлений в першу чергу зміною стану мембран (Penfield, 2008). У деяких роботах встановлено підвищення активності антиоксидантних (АО) ферментів в процесі холодового загартування рослин (Нарайкіна и др., 2014; Колупаев и др., 2015). Також є відомості про зв'язок між активністю АО ферментів і стійкістю рослин різних генотипів. Наприклад, показана досить висока позитивна кореляція між активністю гваякопероксидази і конститутивною морозостійкістю ряду генотипів озимої пшениці, при цьому більш виразно подібна залежність виявлялася після загартування (Janda et al., 2003). Холодостійкі генотипи рису відповідали на дію низьких позитивних температур підвищенням активності супероксиддисмутази (СОД), каталази і аскорбатпероксидази (Guo et al., 2006). З іншого боку, у чутливих до холоду сортів рису активність спостерігалася зниження активності АО ферментів і виснаження пулу низькомолекулярних антиоксидантів.

Як відомо, адаптація злаків до низьких температур супроводжується накопиченням різноманітних низькомолекулярних протекторних сполук (НМПС), серед яких відомі сумісні осмоліти – цукри, пролін та інші вільні амінокислоти, а також вторинні метаболіти, зокрема,

флавоноїди (Khlestkina, 2013). Для флавоноїдних сполук характерна висока антиоксидантна активність (Тараховский и др., 2014). Водночас АО властивості мають і пролін та цукри, вміст яких в тканинах злаків може бути високим (Синькевич и др., 2010; Liang et al., 2013).

Робилися спроби встановити зв'язки між вмістом окремих НМПС та морозостійкістю рослин. Так, у роботі, виконаній з використанням великої кількості сортрозразків пшениці, відзначається висока кореляція між вмістом проліну у листках після холодового загартування і морозостійкістю (Иванисов, Ионова, 2016). У дослідженні Tantau et al. (2004) показаний досить тісний зв'язок між накопиченням проліну і морозостійкістю ліній ячменю, вирощуваних *in vitro*. Також встановлений зв'язок між вмістом проліну і холодостійкістю сортів рису (Sarker et al., 2015). З іншого боку, показано, що у холодостійкого генотипу рису за нормальної і зниженої температури вміст проліну в листках і пагонах був нижчим порівняно з нестійким (Aghaee et al., 2011). Встановлено збільшення вмісту проліну при холодовому загартуванні рослин арабидопсису, проте зв'язку між динамікою накопичення проліну і розвитком морозостійкості не виявлено (Wanner et al., 1999).

Накопичення цукрів уже протягом багатьох десятиліть вважається одним із «класичних» механізмів низькотемпературної адаптації рослин (Туманов, 1979). В останні десятиліття протекторні властивості розчинних вуглеводів принаймні частково пов'язують з їх високою антиоксидантною активністю (Синькевич и др., 2009). У роботі Kamata і Uemura (2004) показано зв'язок між сумарним вмістом цукрів і морозостійкістю трьох загартованих сортів пшениці. При цьому відзначалися зміни вмісту окремих розчинних вуглеводів на різних стадіях низькотемпературної адаптації. У ліній арабидопсису, відмінних за стійкістю до низьких температур, кореляція між вмістом цукрів і холодорезистентністю була помірною, проте відзначалася надзвичайно сильна кореляція між вмістом однієї з груп флавоноїдних сполук (флавонолів) і морозостійкістю (Kornet al., 2008).

Неоднозначність зав'язків між вмістом або активністю окремих антиоксидантів і морозостійкістю рослин ймовірно зумовлена насамперед складною функціональною взаємодією між окремими групами антиоксидантів (Колупаев, 2016). Зокрема, у деяких роботах зафіксовані реципрокні зв'язки між вмістом цукрів і активністю СОД у рослин (Синькевич и др., 2009), між вмістом інших низькомолекулярних сполук (проліну, флавоноїдів) і активністю антиоксидантних ферментів (Радюкіна и др., 2012). Зважаючи на це, пошук

## МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ЗЛАКІВ

маркерів стійкості, у тому числі для практичних цілей (скринінгу стійких генотипів), повинен включати оцінку щонайменше кількох показників стану АО системи (Kolupaev et al., 2020). При цьому комплекс таких показників, ймовірно, може застосовуватися лише для оцінки таксономічно близьких груп рослин.

Вважається, що морозостійкість етіологованих проростків культурних злаків досить тісно корелює з морозостійкістю дорослих рослин (Самыгин, 1968). При цьому етіологовані проростки набувають властивості морозостійкості в ході загартування за низьких позитивних температур. Цей процес супроводжується як накопиченням мультифункціональних низькомолекулярних протекторів (цукрів, проліну, вторинних метаболітів), так і модифікаціями ферментативної складової АО системи (Колупаєв і др., 2015). Водночас спеціальних порівняльних досліджень можливого зв'язку між показниками функціонування АО системи за низькотемпературної адаптації проростків і морозостійкістю культурних злаків різних видів у фазі куцїння, у тому числі в умовах, наближених до природних, дотепер не проводилося. Раніше нами були встановлені істотні відмінності в функціонуванні АО системи проростків пшениці і жита за низькотемпературної адаптації (Колупаєв і др., 2015; 2016). Зокрема, було показано, що висока морозостійкість проростків жита асоціюється з підвищеними величинами вмісту проліну і антоціанів та активності гваяколпероксидази. Становило інтерес порівняння особливостей функціонування АО системи у цих злаків з відповідними показниками у тритикале – міжродового гібрида жита і пшениці. Зважаючи на дуже слабку вивченість стану АО системи тритикале при адаптації до низьких температур та істотні відмінності у морозостійкості різних його сортів (від високої, що близька до морозостійкості жита, до низької, що поступається пшениці) в експерименті поряд з морозостійкими сортами жита і пшениці використовували чотири сорти тритикале з різною морозостійкістю.

Отже, метою роботи було дослідити зв'язки між окремими та інтегрованими показниками стану АО системи жита, пшениці і різних генотипів тритикале та морозостійкістю етіологованих проростків і зелених рослин у фазі куцїння.

### МЕТОДИКА

Для досліджень використовували 3-9-денні етіологовані проростки озимих жита (*Secale cereal* L., сорт Память Худоерко), пшениці (*Triticum aestivum* L., сорт Досконала) та тритикале (*× Triticosecale* Wittm., озимі морозостійкі сорти Букет і Паритет та неморозостійкі

Александра і Підзимок харківський, що належить до так званих «дворучок»).

Насіння після 30-хвилинного знезараження в 6% розчині пероксиду водню пророщували на очищеній водопровідній воді за температури 20°C протягом 3 діб. Надалі проростки поміщали на 6 діб у холодильну камеру Danfoss (Нідерланди) для загартування за температури 2-4°C (Колупаєв і др., 2015).

Після завершення загартування температуру в камері знижували зі швидкістю 1 градус/год і піддавали проростки проморожуванню при температурі -6°C протягом 5 год. Далі температуру підвищували із швидкістю 1 градус/год до 2°C, після чого проростки протягом 3 діб відрощували на світлі (6000 клк, фотоперіод 14 год) за температури 20°C і визначали відносну виживаність рослин за їх здатністю до росту.

Як контроль для біохімічних аналізів використовували 4-денні проростки, які не піддавалися загартуванню. Оскільки за низької температури розвиток проростків уповільнювався, 9-денні загартовані рослини відповідали 4-денним, вирощеним при 20°C. Пагони загартованих та незагартованих проростків використовували для аналізів.

Активність антиоксидантних ферментів визначають за методиками, детально описаним раніше (Колупаєв і др., 2015). Наважки пагонів гомогенізували на холоді в 0,15 М К, Na-фосфатному буфері (рН 7,6) з додаванням ЕДТА (0,1 мМ) і дитіотрейтолу (1 мМ). Для аналізу використовували супернатант після центрифугування гомогенату при 8000 g протягом 10 хв за температури 4°C. Активність цитозольної СОД (КФ 1.15.1.1) визначали при рН реакційної суміші 7,6 за допомогою методу, в основі якого здатність ферменту конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніони, що формуються внаслідок аеробної взаємодії НАДН та феназинметосульфата. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) аналізували при рН реакційної суміші 7,0 за кількістю розкладеного за одиницю часу пероксиду водороду. Активність гваяколпероксидази (КФ 1.11.1.7) визначали, використовуючи як донора водню гваякол, а як субстрат – пероксид водню. За допомогою К, Na-фосфатного буфера рН реакційної суміші доводили до 6,2.

Сумарний вміст цукрів у рослинному матеріалі визначали з використанням антронового реактиву (Zhao et al., 2003).

Вміст проліну у проростках аналізували за методом Bates і співавт. (1973) з модифікаці-

ями. Пролін екстрагували з рослинного матеріалу дистильованою водою з подальшим 10-хвилинним кип'ятінням, екстракт фільтрували і до порцій фільтрату додавали однакові об'єми нінгідринного реактиву та льодяної оцтової кислоти і кип'ятили проби протягом 1 год на водяній бані. Світлопоглинання забарвленого продукту визначали при довжині хвилі 520 нм, як стандарт використовували L-пролін.

Для визначення вмісту флавоноїдів, що мають максимальне поглинання в області УФ-В, та антоціанів, рослинний матеріал гомогенізували в 1% розчині HCl у метанолі. Після центрифугування гомогенату при 8000 г протягом 15 хв визначали оптичну густину супернатанту при 300 і 530 нм (Nogues, Baker, 2000).

Для оцінки зв'язку між станом АО системи в цілому і морозостійкістю досліджуваних проростків злаків проводили нормування до діапазону від 0 до 1 показників виживаності проростків і морозостійкості рослин та всіх семи досліджуваних показників стану антиоксидантної системи: активності СОД, каталази і гваяколпероксидази, вмісту цукрів, проліну, антоціанів і флавоноїдів. Для цього середні величини кожного показника досліджуваного сорту перетворювали за формулою (Суринов и др., 2018):

$$y(x) = (x - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min}),$$

де  $y(x)$  – нормований показник  $x$ ,  $x_{\min}$  і  $x_{\max}$  – мінімальні і максимальні значення перетворюваних показників. Для розрахунку інтегрованого показника антиоксидантного статусу використовували нормовані величини семи показників для кожного сорту. Таким же способом обчислювали інтегровані величини для низькомолекулярних протекторних сполук (сума нормованих показників вмісту цукрів, проліну, антоціанів і флавоноїдів) та ферментативної складової АОС (сума нормованих показників активності СОД, каталази і гваяколпероксидази). Надалі ці сумарні величини так само нормували за формулою, наведеною вище.

Оцінку морозостійкості рослин у фазі кушіння проводили за ДСТУ 4749:2007 (2008). Насіння висівали у наповнені ґрунтосумішшою ящики в оптимальні для сівби озимих культур строки. Впродовж осінньо-зимового періоду рослини розміщували на вегетаційному майданчику в природних умовах вирощування й загартування.

Проморожування рослин проводили в низькотемпературних камерах Danfoss в січні-лютому, знижуючи температуру зі швидкістю 1

градус/год. Експозиція проморожування – 24 години. Після проморожування рослини в ящиках розморожували впродовж доби за температури не вище 5°C, після чого їх переносили в теплицю, зрізали листки так, щоб залишились листові пластинки довжиною 0,5 см, і відрощували за температури 20-22°C при освітленні 8000 лк. Через 20 діб проводили обліки та враховували відсоток живих рослин у зразку.

До живих відносили тургорні, зелені рослини, приріст листків яких за період відрощування становив не менше 5 см. В інших випадках рослину вважали нежиттєздатною. Отримані результати виражали у відсотках живих рослин до їх загальної кількості рослин в кожному повторенні. Температура, за якої відсоток живих рослин до їх загальної кількості був близьким до 50, вважали критичною температурою вимерзання даного сорту (JT<sub>50</sub>).

Коефіцієнти кореляції між інтегральними показниками АО активності та морозостійкості проростків та рослин у фазі кушіння розраховували з використанням базових статистичних функцій програмного середовища R (вер. 4.0.1) (<https://www.rdocumentation.org/packages/stats/versions/3.6.2/topics/cor.test>).

Експерименти проводили незалежно три рази в триразовому біологічному повторенні.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Як було показано в попередніх дослідженнях, певний рівень конститутивної морозостійкості, що виявлялася без попереднього загартування, мали тільки проростки жита (Колупаев и др., 2015). Незагартовані проростки пшениці і тритикале практично повністю гинули після проморожування при -6°C (Горелова и др., 2018; Kolupaev et al., 2020). Зважаючи на це, у даній роботі оцінювали морозостійкість тільки попередньо загартованих проростків. Найвища виживаність після проморожування відзначалася у проростків жита, незначною мірою поступалися їм за морозостійкістю проростки тритикале сортів Букет і Раритет (табл. 1). Відносно високу стійкість виявляли проростки пшениці сорту Досконала, що характеризується як морозостійкий (табл. 1). Значно нижчою була морозостійкість у проростків тритикале сорту Александра, а виживаність тритикале дворучки сорту Підзимок харківський становила менше 15%.

## МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ЗЛАКІВ

**Таблиця 1. Морозостійкість озимих злаків**

[Table 1. Frost resistance of winter cereals]

Об'єкт [Object]	Вживаність проростків після 5 год проморожування при - 6°C [Survival of seedlings after 5 h freezing at - 6 ° C]		LT <sub>50</sub> при проморожуванні рослин у фазі кушіння [LD50 after freezing of plants in the tillering phase]	
	%	Нормований показник [Normalized indicator]	°C	Нормований показник [Normalized indicator]
Жито озиме Пам'ять Худоєрка [Rye Pamyat' Khudoerka (winter)]	60,5 ± 3,2	1	21,3 ± 0,5	1
Тритикале озиме Букет [Triticale Buket (winter)]	54,3 ± 3,3	0,864	18,1 ± 0,5	0,333
Тритикале озиме Раритет [Triticale Raritet (winter)]	53,2 ± 2,6	0,840	18,4 ± 0,5	0,396
Тритикале озиме Александра [Triticale Alexandra (winter)]	26,6 ± 2,8	0,258	16,5 ± 0,0	0
Тритикале дворучка Підзимок харківський [Triticale Pidzymok kharkovskiy (facultative)]	14,8 ± 2,2	0	16,6 ± 0,5	0,021
Пшениця озима Досконала [Wheat Doskonala (winter)]	49,2 ± 2,8	0,753	17,4 ± 0,5	0,188

В цілому схожа диференціація досліджуваних зразків спостерігалася і при оцінці морозостійкості дорослих зелених рослин. Найнижча температура загибелі 50% рослин відзначалася для жита (-21,5°C). Сорти тритикале Букет і Раритет витримували температуру близько -18°C, дещо вищою була критична температура для рослин пшениці, а 50% рослин тритикале сортів Александра і Підзимок харківський гинули за температури приблизно -16,5°C (табл. 1). В цілому між морозостійкістю проростків і дорослих рослин у фазі кушіння відзначалася досить висока кореляція ( $r = 0,78$ ,  $P \leq 0,05$ ). За морозостійкістю проростків сорти злаків розташовувалися так: Пам'ять Худоєрка > Букет > Раритет > Досконала > Александра > Підзимок харківський. За стійкістю рослин у фазі кушіння послідовність розташування сортів була схожою: Пам'ять Худоєрка > Раритет ≥ Букет > Досконала > Підзимок харківський ≥ Александра. Це опосередковано свідчило на користь припущення про наявність зв'язку між біохімічними показниками проростків і стійкістю дорослих рослин.

Зв'язку між активністю СОД і стійкістю злаків до низьких температур не спостерігалось (табл. 2). Так, висока активність ферменту була характерною для незагартованих проростків пшениці (сорт Досконала) і неморозостійкого

сорту тритикале Підзимок харківський. Водночас у найбільш морозостійкого зразка (жито сорту Пам'ять Худоєрка) активність ферменту була невисокою. У загартованих проростків найвища активність СОД була у пшениці, високими були величини у морозостійких сортів тритикале, проте у жита активність ферменту була низькою, як і у неморозостійких сортів тритикале (табл. 2).

Не виявлялося і прямого зв'язку між активністю каталази та морозостійкістю досліджуваних злаків (табл. 2). У незагартованих проростків найвищою вона була найвищою у неморозостійкого сорту тритикале Підзимок харківський, а найнижчою у жита. Після загартовування картина змінювалася. Найвища активність відзначалася у пшениці, високою вона була і у тритикале сорту Раритет. Водночас у іншого морозостійкого сорту тритикале (Букет) вона була помірною, а у найбільш морозостійкого жита нижчою від величин у пшениці і тритикале (табл. 2).

Незагартовані зразки жита відрізнялися найвищою активністю гваяколпероксидази, у пшениці вона була помітно нижчою порівняно з житом, але значно вищою, ніж в усіх сортів тритикале (табл. 2). Після загартовування найвища активність також відзначалася у жита, відносно великою вона була у пшениці і низькою

Таблиця 2. Нормовані показники активності антиоксидантних ферментів проростків злаків  
 [Table 2. Normalized indicators of antioxidant enzymes activity of cereal seedlings]

Об'єкт [Object]	Активність СОД [SOD activity]		Активність каталази [Catalase activity]		Активність гваяколпероксидази [Guaiacol peroxidase activity]	
	I	II	I	II	I	II
Жито озиме Пам'ять Худоєрка [Rye Pamyat' Khudoerka (winter)]	0,308	0,143	0	0,429	1	1
Тритикале озиме Букет [Triticale Buket (winter)]	0,635	0,871	0,571	0,571	0,160	0,019
Тритикале озиме Раритет [Triticale Raritet (winter)]	0,794	0,771	0,286	0,929	0	0
Тритикале озиме Александра [Triticale Alexandra (winter)]	0	0	0,714	0,357	0,185	0,115
Тритикале дворучка Підзимок харківський [Triticale Pidzymok kharkovskiy (facultative)]	0,952	0,114	1	0	0,050	0,051
Пшениця озима Досконала [Wheat Doskonala (winter)]	1	1	0,429	1	0,395	0,287

**Примітка.** I – незагартовані проростки; II – загартовані проростки.

[Note. I – unhardened seedlings; II – hardened seedlings.]

в усіх сортів тритикале. Примітно, що у морозостійкого сорту тритикале (Раритет) активність ферменту як без загартування, так і після загартування була найнижчою порівняно з усіма іншими зразками.

Між вмістом проліну у незагартованих проростків і морозостійкістю зразків також певних зв'язків не відзначалося, хоча найвищі величини були характерними для найбільш морозостійкого зразка жита (табл. 3). Помірні величини відзначалися у проростків пшениці і морозостійкого тритикале сорту Раритет. У іншого ж морозостійкого сорту тритикале – Букет – вміст проліну був найнижчим відносно інших досліджуваних зразків. Після загартування картина дещо змінилася. Проте і на тлі загартуван-

ня найбільший вміст проліну відзначався у жита, найнижчим він був у пшениці.

Кореляції між вмістом цукрів у незагартованих проростках і морозостійкістю також не відзначалося (табл. 3). Найбільшу кількість цукрів виявлено у тритикале сорту Александра, який відрізняється низькою морозостійкістю. Щоправда, найнижча величина відзначалася у іншого неморозостійкого сорту тритикале – Підзимок харківський. Зв'язок між вмістом цукрів у загартованих проростків і морозостійкістю був невиразним. Високий їх вміст був зареєстрований у жита і тритикале морозостійких сортів Раритет і Букет. Проте у сорту з низькою морозостійкістю Александра вміст цукрів був навіть вищим, ніж у сортів Раритет і Букет, а у

## МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ЗЛАКІВ

**Таблиця 3. Нормовані показники вмісту низькомолекулярних антиоксидантів у проростках злаків**

[Table 3. Normalized indicators of low-molecular-weight antioxidants in cereals seedlings]

Об'єкт [Object]	Пролін [Proline]		Цукри [Sugars]		Флавоноїди [Flavonoids]		Антоціани [Anthocyanins]	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Жито озиме Пам'ять Худо- єрка [Rye Pamyat' Khudoerka (winter)]	1	1	0,625	1	1	1	1	1
Тритикале озиме Букет [Triticale Buket (winter)]	0	0,361	0,437	0,669	0,588	0,480	0,628	0,106
Тритикале озиме Паритет [Triticale Par- itet (winter)]	0,154	0,335	0,505	0,657	0,580	0,564	0,609	0,106
Тритикале озиме Алекса- ндра [Triticale Alex- andra (winter)]	0,077	0,120	1	0,781	0,576	0,313	0,615	0,115
Тритикале дворучка Пі- дзимок харків- ський [Triticale Pi- dzumok khar- kovskiy (facul- tative)]	0,038	0,320	0	0,079	0,059	0,095	0	0,029
Пшениця ози- ма Досконала [Wheat Dos- konala (winter)]	0,115	0	0,189	0	0	0	0,048	0

**Примітка.** I – незагартовані проростки; II – загартовані проростки.

[Note. I – unhardened seedlings; II – hardened seedlings.]

відносно стійкої пшениці значно нижчим порівняно з усіма сортами тритикале (табл. 3).

Між вмістом у проростках флавоноїдів, що поглинають в УФ-В, і морозостійкістю злаків простежувалася певна залежність (табл. 3). Так, як для загартованих, так і незагартованих проростків жита був характерний найбільший вміст флавоноїдів, високим він був у сортів тритикале, за винятком найменш морозостійкого Підзимок харківський. Водночас у пшениці вміст флавоноїдів, що поглинають в УФ-В, був нижчим порівняно з житом і тритикале.

До певної міри схожа картина відзначалася і за вмістом у проростках антоціанів, які репрезентують одну з груп флавоноїдів. Найбільша кількість антоціанів як за відсутності за-

гартування проростків, та і після нього відзначалася у проростків жита (табл. 3). Дещо менший, але відносно високий їх вміст зафіксовано у сортів тритикале за винятком найменш морозостійкого Підзимок харківський. Низький вміст антоціанів був характерним для проростків пшениці.

Отже в цілому, чітких закономірностей між окремими показниками активності АО ферментів, вмісту НМПС та морозостійкістю рослин виявити не вдалося. Певні позитивні кореляції простежувалися лише для окремих НМПС: проліну, антоціанів, флавоноїдів, що поглинають в УФ-В. Зважаючи на це, розраховували інтегровані показники ферментативної АО активності та вмісту низькомолекулярних

**Таблиця 4. Сумарні нормовані показники активності антиоксидантних (АО) ферментів (СОД, каталази і гваколпероксидази) та низькомолекулярних протекторів (проліну, цукрів, флавоноїдів, що поглинають в УФ і антоціанів) у проростках злаків**

[Table 4. Total normalized indicators of antioxidant (AO) enzymes activity (SOD, catalase and guaiacol peroxidase) and low-molecular-weight protectors (proline, sugars, flavonoids absorbed in UV and anthocyanins) in hardened wheat seedlings]

Об'єкт [Object]	Активність АО ферментів (сума нормованих показників) [Activity of AO enzymes (the sum of normalized indicators)]		Вміст низькомолекулярних протекторів (сума нормованих показників) [Content of low-molecular-weight protectors (the sum of normalized indicators)]		Сума нормованих показників активності АО ферментів і вмісту низькомолекулярних протекторів [The sum of normalized indicators of AO enzymes activity and the content of low-molecular-weight protectors]	
	I	II	I	II	I	II
Жито озиме Пам'ять Худоєрка [Rye Pamyat' Khudoerka (winter)]	0,371	0,663	1	1	1	1
Тритикале озиме Букет [Triticale Buket (winter)]	0,423	0,611	0,441	0,404	0,331	0,512
Тритикале озиме Раритет [Triticale Raritet (winter)]	0,164	0,723	0,496	0,416	0,060	0,743
Тритикале озиме Александра [Triticale Alexandra (winter)]	0	0,145	0,615	0,332	0	0,226
Тритикале дворучка Підзимок харківський [Triticale Pidzymok kharkovskiy (facultative)]	1	0	0	0,131	0,509	0
Пшениця озима Досконала [Wheat Doskonala (winter)]	0,839	1	0,072	0	0,393	0,567

**Примітка.** I – незагартовані проростки; II – загартовані проростки.

[Note. I – unhardened seedlings; II – hardened seedlings]

протекторів на основі відповідних нормованих показників. Отримані результати дозволяють говорити про певні зв'язки між сумарною нормованою величиною активності АО ферментів у загартованих проростках і їх морозостійкістю (табл. 4). Найбільші значення були характерні для пшениці, водночас високі величини відзначалися і у жита та морозостійких сортів тритикале. При цьому у сорту тритикале, який є дворучкою з низьким рівнем морозостійкості, відзначалася і найнижча активність антиоксидант-

них ферментів. Необхідно зауважити, що у незагартованих проростків таких закономірностей не виявлено.

Величина інтегрованих показників вмісту низькомолекулярних протекторів також досить тісно асоціювалася з морозостійкістю. Так, навіть у незагартованих проростків жита і трьох сортів тритикале відзначалися відносно високі величини (табл. 4). У загартованих проростків також найбільші величини зафіксовані для жита і тритикале сортів Букет і Раритет.



## МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ЗЛАКІВ

Нарешті, для зразків без загартування найбільшим інтегральним показником нормованих величин як активності АО ферментів, так і вмісту низькомолекулярних протекторів був характерним для жита (табл. 4). Меншим цей інтегрований показник був у проростків неморозостійкого тритикале (Підзимок харківський) і ще меншим у морозостійких сортів тритикале (Букет і особливо Раритет). Відносно невисоким показником інтегральної антиоксидантної активності був у пшениці, а найнижчим у тритикале сорту Александра. Значно чіткішими були закономірності для загартованих проростків. Найбільша інтегрована величина АО активності відзначалася для жита, високою вона була у морозостійких сортів тритикале та пшениці, низькі величини були характерні для неморозостійких сортів тритикале Александра і Підзимок Харківський.

За результатами досліджень були розраховані коефіцієнти кореляції між інтегрованими показниками антиоксидантної активності і морозостійкістю проростків і дорослих злаків (табл. 5). Більшість показників незагартованих проростків слабо корелювала з величинами морозостійкості. Так, інтегрований показник активності антиоксидантних ферментів був навіть у негативній кореляції з морозостійкістю проростків і дорослих рослин. Позитивна, але невірогідна, кореляція була між вмістом низькомолекулярних захисних сполук і морозостійкістю проростків та рослин. Між нормованим показником сумарної антиоксидантної активності у незагартованих проростках і морозостійкістю проростків та дорослих рослин так само не виявлено вірогідної кореляції.

Значно тіснішими такі зв'язки були у загартованих проростків. Так, між інтегрованою величиною активності антиоксидантних ферментів і морозостійкістю проростків відзначався високий коефіцієнт кореляції ( $r = 0,86$ ). Водночас кореляція цього показника з морозостійкістю рослин у фазі кушіння була середньою ( $r = 0,47$ ) і не достовірною при  $P \leq 0,05$ . Інтегрований показник вмісту низькомолекулярних протекторів у проростках вірогідно корелював з морозостійкістю дорослих рослин ( $r = 0,88$ ), хоча його кореляція з виживаністю проростків після кріостресу була значно нижчою ( $r = 0,54$ ). Нарешті, найбільш тісна кореляція з морозостійкістю як проростків, так і дорослих рослин, виявлена для сумарної нормованої величини активності АО ферментів і вмісту низькомолекулярних сполук ( $r = 0,94$  і  $0,89$ , відповідно (табл. 5).

Аналізуючи отримані результати, треба відзначити більш тісний зв'язок з морозостійкістю вмісту у проростках низькомолекулярних антиоксидантів порівняно з активністю антиоксидантних ферментів. Особливо це стосується морозостійкості рослин у фазі кушіння. Відсутність високих кореляцій між активністю АО ферментів і морозостійкістю рослин у фазі кушіння може бути пов'язана з відмінностями функціонування ферментативної системи у етіологованих проростках і цілої рослини з фотосинтетичним апаратом. Не виключено, що холодоіндуковані порушення функціонування АО системи у зимуючих рослин можуть відбуватися іще в період загартування, коли листки рослин життєздатні і здійснюють фотосинтез, необхідний для накопичення цукрів та інших метаболітів з протекторними властивостями. Водночас слід відзначити, що внесок ферментативних і низькомолекулярних АО у забезпечення захисту від редокс-порушень в умовах кріостресу може залежати від видових особливостей рослин. Зокрема, раніше було показано, що у проростках пшениці і ячменю за умов холодого загартування більшою мірою зростала активність АО ферментів, тоді як у жита помітнішим був внесок низькомолекулярних антиоксидантів (Колупаев и др., 2015).

Оцінюючи внесок окремих низькомолекулярних протекторів з АО властивостями у стійкість злаків до кріостресу, варто відзначити зв'язок вмісту проліну з морозостійкістю. Він був дуже високим у загартованих проростків жита і помірно високим у морозостійких тритикале (табл. 3). Можна припустити, що накопичення проліну є однією зі стратегій адаптації жита та його гібридів. У пшениці відзначалося істотно менше накопичення проліну порівняно з житом та його гібридами. Проте при вивченні показників у трьох сортів пшениці зареєстрований прямий зв'язок між вмістом проліну у загартованих проростках та їх морозостійкістю (Рябчун и др., 2015). Про зв'язки між вмістом проліну у різних сортів пшениці на різних стадіях розвитку з їх морозостійкістю у фазі кушіння повідомляється і у роботі (Иванисов, Ионов, 2016). Не виключено, що інтенсивність синтезу і накопичення проліну є ознакою, яка проявляється на різних стадіях онтогенезу рослин, що дозволяє знаходити зв'язки між його вмістом у проростків і стійкістю дорослих рослин. Проте, для підтвердження цього припущення необхідно дослідження відповідних показників на різних стадіях розвитку рослин і в різних температурних умовах.

Таблиця 5. Коефіцієнти кореляції між показниками стану антиоксидантної системи проростків і морозостійкістю проростків та рослин у фазі кушіння

[Table 5. Correlation coefficients between indicators of hardened seedlings antioxidant system, and frost resistance of seedlings and plants in the tillering phase]

Показник [Indicator]	Морозостійкість проростків [Seedlings frost resistance]		Морозостійкість рослин у фазі кушіння [Plants frost resistance in the tillering phase]	
	I	II	I	II
Активність АО ферментів (сума нормованих показників) [Antioxidant enzyme activity (sum of normalized indicators)]	-0,29	0,86*	-0,21	0,47
Вміст низькомолекулярних протекторів (сума нормованих показників) [Content of low molecular weight protectors (sum of normalized indicators)]	-0,53	0,54	0,75	0,88*
Сума нормованих показників активності АО ферментів і вмісту низькомолекулярних протекторів [Sum of normalized indicators of the activity of antioxidant enzymes and the content of low molecular weight protectors]	0,30	0,94**	0,72	0,89*

Примітка. I і II – розрахунки кореляцій на основі показників стану АОС для незагартованих і загартованих проростків, відповідно. \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

[Note. I and II – calculations of correlations based on the indicators of the state of antioxidant system for hardened and unhardened seedlings, respectively. \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ ].

Відомо, що пролін є мультифункціональним стресовим метаболітом, він виступає у ролі антиоксиданту, осмопротектора і навіть низькомолекулярного шаперона (Hayat et al., 2012; Kavi Kishor, Sreenivasulu, 2014; John et al., 2016). Відзначається його участь в холодовій адаптації різних злаків та інших таксономічних груп рослин (Kaplan et al. 2007; Rasheed et al. 2010; John et al., 2016). Примітно, що захисні ефекти накопичення проліну виявляються не лише при адаптації рослин до від'ємних температур, дія яких спричиняє стрес зневоднення, зумовлений утворенням льоду в міжклітинниках, а й за впливу низьких позитивних температур на теплолюбні рослини. Так, надекспресія гена ключового ферменту синтезу проліну -  $\Delta^1$ -піролін-5-карбоксилатсинтази, що спричиняє накопичення проліну, одночасно сприяла здатності томатів витримувати дію холоду (4°C) (Patade et al., 2013).

Безумовно, певний внесок у стійкість рослин до кріостресу і пов'язаного з ним окиснювального стресу мають і цукри, яким також притаманні властивості осмопротекторів, мембранопротекторів і антиоксидантів. З використанням сортів пшениці різного походження показаний зв'язок між накопиченням цукрів і морозостійкістю певних генотипів (Kamata,

Uemura, 2004; Рябчун и др., 2015). У дослідженнях *in vitro* з використанням липосом встановлена здатність сахарози й рафінози захищати мембрани від агрегації при висушуванні (Cacela et al., 2006). Припускають, що таким чином цукри можуть попереджати порушення мембран при зневодненні, зумовленому утворенням льоду в міжклітинниках (Kawamura, Matsuo Uemura, 2014). Трансгенні рослини пелунії, здатні синтезувати більшу кількість рафінози, відрізнялися вищою стійкістю до кріостресу (Taji et al., 2002; Pennycooke et al., 2003). На значення цукрів як антиоксидантів вказують реципрокні зв'язки між їх вмістом та активністю ключового антиоксидантного ферменту СОД (Синькевич и др., 2009). Автори припускають, СОД і цукри є до певної міри взаємозамінними як інактиватори супероксидних радикалів.

У наших експериментах відзначено помітний зв'язок між вмістом флавоноїдних сполук і адаптацією різних генотипів злаків до дії низьких температур. Високий вміст антоціанів та безбарвних флавоноїдів, що поглинають в області УФ-В, характерний не лише для загартованих проростків морозостійких генотипів, а й для незагартованих (табл. 3). Не виключено, що антоціани та інші флавоноїди важливі для кон-

## МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ЗЛАКІВ

ститутивної стійкості рослин. Їх високий вміст характерний насамперед для жита, яке вирізняється конститутивною морозостійкістю і водночас навіть у незагартованому стані резистентністю до прямих агентів окиснювального стресу (Колупаев и др., 2016). Ймовірно, це стосується не лише злаків. На рослинах арабідопсису показано накопичення флавоноїдних сполук у відповідь на зниження температури (Navaux, Kloppstech, 2001). Крім того, встановлена сильна кореляція між вмістом однієї з груп флавоноїдів (флавонолів) і морозостійкістю генотипів арабідопсису, а також ефектом гетерозису за ознакою морозостійкості (Korn et al., 2008).

В цілому ж, ймовірно, морозостійкість рослин залежить як від вмісту низькомолекулярних антиоксидантів з мультифункціональними властивостями, так і від активності АО ферментів (Janda et al., 2003). Хоча остання, без сумніву, є надзвичайно лабільним показником, який швидко змінюється залежно від зовнішніх і внутрішніх (наприклад, від віку рослин) чинників. При цьому між активністю АО ферментів і вмістом низькомолекулярних протекторів можуть бути як прямі, так і зворотні кореляції (Радюкіна и др., 2012), що, безумовно, ускладнює використання активності ферментів як маркерів стійкості.

Отримані результати засвідчують, що все ж найбільш тісний зв'язок з морозостійкістю має інтегральний нормований показник, що обчислюється на основі суми нормованих показників як вмісту низькомолекулярних антиоксидантів, так і активності антиоксидантних ферментів.

У даній роботі для досліджень використані не лише різні сорти, а й різні види хлібних злаків. Напевно у подальшому необхідно провести порівняльні дослідження між стійкістю достатньо великої кількості сортів кожного виду злаків та їх антиоксидантним статусом. Не виключено, що це дозволить зменшити кількість показників АО активності, необхідних для скринінгу морозостійких генотипів у межах певного виду злаків.

## 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 холодным закаливанием антиоксидантная активность проростков озимых злаков. *Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія.* 2 (44) : 59-68.
- Дьяченко Л.Ф., Тоцкий В.Н., Файт В.И., Топтиков В.А. 2007. Экспрессивность некоторых генетических систем в проростках, различающихся по генам Vrd линий озимой мягкой пшеницы в процессе закаливания. *Вісн. Одеськ. нац. ун-ту. Біологія.* 12 (5) : 103-111.
- Иванисов М.М., Ионова Е.В. 2016. Морозостойкость сортов и линий озимой мягкой пшеницы. *Международный научно-исследовательский журнал.* 9-3 (51) : 110-113.
- Кириченко В.В., Петренко В.П., Рябчун Н.И., Ионова В.М., Долгополова В.И., Хірна Г.П. 2008. ДСТУ 4749:2007 (БЗ № 10-2006/654) Пшеница озима. Метод визначення морозостійкості сортів. Київ : 8 с.
- Колупаев Ю.Е. 2016. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений. *Успехи соврем. биологии.* 136 (2) : 181-198.
- Колупаев Ю.Е., Рябчун Н.И., Вайнер А.А., Ястреб Т.О., Обозный А.И. 2015. Активность антиоксидантных ферментов и содержание осмолитов в проростках озимых злаков при закаливании и криострессе. *Физиология растений.* 62 (4) : 533-541.
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И., Рябчун Н.И., Кириченко В.В. 2016. Конститутивная и индуцированная холодом устойчивости проростков ржи и пшеницы к агентам окислительного стресса. *Физиология растений.* 63 (3) : 346-358.
- Моргун В.В., Майор П.С. 2009. Зимо- и морозостійкість озимих злакових культур. *Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку Т. 2.* Київ : 105-165.
- Нарайкина Н.В., Синькевич М.С., Демин И.Н., Селиванов А.А., Мошков И.Е., Трунова Т.И. 2014. Изменения активности изоформ супероксиддисмутазы у растений картофеля дикого типа и трансформированных геном  $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы при низкотемпературной адаптации. *Физиология растений.* 61 : 359-366.
- Нарайкина Н.В. 2017. Особенности закаливания холодостойких растений картофеля к гипотермии и роль  $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы: Автореферат дисс. ... канд. биол. наук. Москва : 20 с.
- Радюкіна Н.Л., Тоайма В.И.М., Зарипова Н.Р. 2012. Участие низкомолекулярных антиоксидантов в кроссадаптации лекарственных растений к последовательному действию UV-B облучения и засоления. *Физиология растений.* 59 (1) : 80-88.
- Рябчун Н.И., Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О., Обозный А.И., Четверик А.Н. 2015. Компоненты антиоксидантной системы генотипов проростков озимой пшеницы, различающихся по морозоустойчивости. *Агробиология.* 1 : 73-81.
- Самыгин Г.А. 1967. Быстрое определение относительной морозостойкости образцов пшеницы путем промораживания проросших семян. В кн.:

- Методы определения морозостойкости растений. Москва : 77-84.
- Синькевич М.С., Дерябин А.Н., Трунова Т.И. 2009. Особенности окислительного стресса у растений картофеля с измененным углеводным метаболизмом. Физиология растений. 56 : 186-192.
- Синькевич М.С., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И. 2010. Участие сахаров в системе антиоксидантной защиты от индуцированного паракватом окислительного стресса у картофеля, трансформированного геном инвертазы дрожжей. Докл. АН. 434 (4) – С. 570-573.
- Суринов А., Мхитарян В., Агапова Г., Миронкина Ю., Луппов А. 2018. Статистика. Ч. 1. Москва : 249 с.
- Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. 2013. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино : 310 с.
- Трунова Т.И. 2007. Растение и низкотемпературный стресс: 64-е Тимиряз. чт. Москва : 54 с.
- Туманов И.И. 1979. Физиология закаливания и морозостойкости растений. Москва : 352 с.
- Aghaee A., Moradi F., Zare-Maivan H., Zarinkamar F., Pour Irandoost H., Sharifi P. 2011. Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage. Afr. J. Biotechnol. 10 : 7617-7621.
- Bates LS., Walden R.P., Tear G.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39 : 205-210.
- Cacela C., Hinch D.K. 2006. Low amounts of sucrose are sufficient to depress the phase transition temperature of dry phosphatidylcholine, but not for lyoprotection of liposomes. Biophys. J. 90 : 2831-2842.
- Chen L.J., Xiang H.Z., Miao Y., Zhang L., Guo Z.F., Zhao X.H., Lin J.W., Li T.L.: 2014. An overview of cold resistance in plants. J. Agron. Crop Sci. 200 : 237-245.
- Gabelnych O.I., Sumina O.N., Funderat S.P., Pobezhimova T.P., Voinikov V.K., Kolesnichenko A.V. 2004. The distribution of electron transport between the main cytochrome and alternative pathways in plant mitochondria during short-term cold stress and cold hardening. J. Therm. Biol. 29 : 165-175.
- Guo Z., Ou W., Lu S., Zhong Q. 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiol. Biochem. 44 : 828-836.
- Havaux M., Kloppstech K. 2001. The protective functions of carotenoid and flavonoids pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis npq* and *tt* mutants. Planta. 213 : 953-966.
- Hayat S., Hayat Q., Ahamd A. 2012. Role of proline under changing environments. Plant Signal. Behav. 7 : 1456-1466.
- Janda T., Szalai G., Rios-Gonzalez K., Veisz O., Páldi E. 2003. Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. Plant Sci. 164 : 301-306.
- John R., Anjum N.A., Sopory S.K., Akram N.A., Ashraf M. 2016. Some key physiological and molecular processes of cold acclimation. Biol. Plant. 60 : 603-618.
- Kamata T., Uemura M. 2004. Solute accumulation in heat seedlings during cold acclimation: Contribution to increased freezing tolerance. Cryo Letters. 25 : 311-322.
- Kaplan F., Kopka J., Sung D.Y., Zhao W., Popp M., Porat R., Guy C.L. 2007. Transcript and metabolite profiling during cold acclimation of *Arabidopsis* reveals an intricate relationship of cold-regulated gene expression with modifications in metabolite content. Plant J. 50 : 967-981.
- Kavi Kishor, P.B., Sreenivasulu, N. 2014. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue?. Plant Cell Environ. 37 : 300-311.
- Khlestkina E.K. 2013. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. Cereal Res. Commun. 41 : 185-198.
- 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.
- Korn M., Peterek S., Mock H.-P., Heyer A.G., Hinch D.K. 2008. Heterosis in the freezing tolerance, and sugar and flavonoid contents of crosses between *Arabidopsis thaliana* accessions of widely varying freezing tolerance. Plant Cell Environ. 31(6) : 813-827.
- Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. 2013. Proline mechanisms of stress survival. Antioxid. Redox Signal. 19 : 998-1011.
- 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.
- Patade V.Y., Khatri D., Ahmed Z. 2013. Cold tolerance in Osmotin transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is associated with modulation in transcript abundance of stress responsive genes. SpringerPlus 2: 117. doi: 10.1186/2193-1801-2-117
- Penfield S. 2008. Temperature perception and signal transduction in plants. New Phytol. 179 : 615-628.
- Pennycooke J.C., Jones M.L., Stushnoff C. 2003. Down-regulating alpha-galactosidase enhances freezing tolerance in transgenic petunia. Plant Physiol 133 : 901-909.

- Rasheed R., Wahid A., Ashraf M., Basra S.M.A. 2010. Role of proline and glycinebetaine in improving chilling stress tolerance in sugarcane buds at sprouting. *Int. J. Agr. Biol.* 12 : 1-8.
- Ruelland E., Vaultier M.-N., Zachowski A., Hurry V. 2009. Cold signalling and cold acclimation in plants. *Advances in Botanical Research.* 49 : 35-150.
- Sarker B.C., Kulchhum M.U., Roy B., Hossain M.F., Haque M.M. 2015. Cold tolerance mechanism of rice cultivars based on physiomorphological characteristics. *Journal of Science and Technology.* 13 : 26-34.
- Taji T., Ohsumi C., Iuchi S., Seki M., Kasuga M., Kobayashi M., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. 2002. Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 29 : 417-426.
- Tantau H., Balko C., Brettschneider B., Melz G., Dorffling K. 2004. Improved frost tolerance and winter survival in winter barley (*Hordeum vulgare* L.) by in vitro selection of proline overaccumulating lines. *Euphytica.* 139 : 19-32.
- Theocharis A., Clement C., Barka E.A. 2012. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta.* 235 : 1091-1105.
- Wanner L., Junttila O. 1999. Cold-induced freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 120 : 391-400.
- Zhao K., Fan H., Zhou S., Song J. 2003. Study on the salt and drought tolerance of *Suaeda salsa* and *Kalanchoe clavigrammontiana* under isoosmotic salt and water stress. *Plant Sci.* 165 : 837-844.
- Kolupaev Yu.E. 2016. Plant cell antioxidants and their role in ROS signaling and plant resistance. *Uspekhi Sovrem. Biologii.* 136(2) : 181-198. (In Russian).
- Kolupaev Yu.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 Yu.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(3) : 326-337.
- Morgun V.V., Major P.S. 2009. Winter and frost resistance of winter cereals. In: *Plant Physiology: Problems and Prospects for Development*, vol. 2. Kyiv : 105-165. (In Ukrainian).
- Naraikina N.V., Sin'kevich M.S., Demin I.N., Selivanov A.A., Moshkov I.E., Trunova, T.I. 2014. Changes in the activity of superoxide dismutase isoforms in the course of low-temperature adaptation in potato plants of wild type and transformed with  $\Delta 12$ -acyl-lipid desaturase gene. *Russ. J. Plant Physiol.* 61 : 332-338.
- Naraikina N.V. 2017. Features of hardening of cold-resistant potato plants to hypothermia and the role of  $\Delta 12$ -acyl-lipid desaturase. PhD Diss. (Biol.). Thesis. Moscow : 20 p. (In Russian).
- Radyukina N.L., Toaima V.I.M., Zaripova N.R. 2012. The involvement of low-molecular antioxidants in cross-adaptation of medicine plants to successive action of UV-B radiation and salinity. *Russ. J. Plant Physiol.* 59 (1): 71-78.
- Ryabchun N.I., Kolupaev Yu.E., Vayner A.A., Yastreb T.O., Oboznyi A.I., Chetverik A.N. Antioxidant system components of winter wheat seedling genotypes varying in resistance to frost. *Agrokhimiya.* 1 : 73-81. (In Russian).
- Samygin G.A. 1967. Rapid determination of the relative hardness of wheat samples by freezing of germinated seeds. In: *Metody opredeleniya morozostoikosti rastenii (Methods for Determination of Frost Resistance)*, Moscow : 77-84. (In Russian).
- Sin'kevich M.S., Deryabin A.N., Trunova T.I. 2009. Characteristics of oxidative stress in potato plants with modified carbohydrate metabolism. *Russ. J. Plant Physiol.* 56 (2) : 168-174.
- Sin'kevich M.S., Naraykina N.V., Trunova T.I. 2010. Involvement of sugars in the antioxidant defense against paraquat-induced oxidative stress in potato transformed with yeast invertase gene. *Doklady Biological Sciences.* 434 (4) : 338-340.
- Surinov A., Mkhitarayan V., Agapova G., Mironkina Yu., Luppov A. 2018. *Statistic. Pt. 1.* Moscow : 249 p. (In Russian).
- Tarakhovkii Yu.S., Kim Yu.A., Abdrasilov B.S., Muzafarov E.N. 2013. *Flavonoids: biochemistry,*

## REFERENCES

- biophysics, medicine. Puschino : 310 p. (In Russian).
- Trunova T.I. 2007. Plant and Low Temperature Stress, the 64th Timiryazev Lecture Moscow: Nauka. 54 p. (In Russian).
- Tumanov I.I. 1979. Fiziologiya zakalivaniya i morozostoykosti rasteniy (Physiology of hardening and frost resistance of plants). Moscow : 352 p. (In Russian).
- Aghaee A., Moradi F., Zare-Maivan H., Zarinkamar F., Aghaee A., Moradi F., Zare-Maivan H., Zarinkamar F., Pour Irandoost H., Sharifi P. 2011. Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage. *Afr. J. Biotechnol.* 10 : 7617-7621.
- Bates LS., Walden R.P., Tear G.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39 : 205-210.
- Cacela C., Hinch D.K. 2006. Low amounts of sucrose are sufficient to depress the phase transition temperature of dry phosphatidylcholine, but not for lyoprotection of liposomes. *Biophys. J.* 90 : 2831-2842.
- Chen L.J., Xiang H.Z., Miao Y., Zhang L., Guo Z.F., Zhao X.H., Lin J.W., Li T.L.: 2014. An overview of cold resistance in plants. *J. Agron. Crop Sci.* 200 : 237-245.
- Grabelnych O.I., Sumina O.N., Funderat S.P., Pobezhimova T.P., Voinikov V.K., Kolesnichenko A.V. 2004. The distribution of electron transport between the main cytochrome and alternative pathways in plant mitochondria during short-term cold stress and cold hardening. *J. Therm. Biol.* 29 : 165-175.
- Guo Z., Ou W., Lu S., Zhong Q. 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiol. Biochem.* 44 : 828-836.
- Havaux M., Kloppstech K. 2001. The protective functions of carotenoid and flavonoids pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis npq* and *tt* mutants. *Planta.* 213 : 953-966.
- Hayat S., Hayat Q., Ahead A. 2012. Role of proline under changing environments. *Plant Signal. Behav.* 7 : 1456-1466.
- Janda T., Szalai G., Rios-Gonzalez K., Veisz O., Páldi E. 2003. Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. *Plant Sci.* 164 : 301-306.
- John R., Anjum N.A., Sopory S.K., Akram N.A., Ashraf M. 2016. Some key physiological and molecular processes of cold acclimation. *Biol. Plant.* 60 : 603-618.
- Kamata T., Uemura M. 2004. Solute accumulation in heat seedlings during cold acclimation: Contribution to increased freezing tolerance. *Cryo Letters.* 25 : 311-322.
- Kaplan F., Kopka J., Sung D.Y., Zhao W., Popp M., Porat R., Guy C.L. 2007. Transcript and metabolite profiling during cold acclimation of *Arabidopsis* reveals an intricate relationship of cold-regulated gene expression with modifications in metabolite content. *Plant J.* 50 : 967-981.
- Kavi Kishor, P.B., Sreenivasulu, N. 2014. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue?. *Plant Cell Environ.* 37 : 300-311.
- Khlestkina E.K. 2013. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. *Cereal Res. Commun.* 41 : 185-198.
- 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.
- Korn M., Peterek S., Mock H.-P., Heyer A.G., Hinch D.K. 2008. Heterosis in the freezing tolerance, and sugar and flavonoid contents of crosses between *Arabidopsis thaliana* accessions of widely varying freezing tolerance. *Plant Cell Environ.* 31(6) : 813-827.
- Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. 2013. Proline mechanisms of stress survival. *Antioxid. Redox Signal.* 19 : 998-1011.
- 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.
- Patade V.Y., Khatri D., Ahmed Z. 2013. Cold tolerance in Osmotin transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is associated with modulation in transcript abundance of stress responsive genes. *SpringerPlus* 2 : 117. doi: 10.1186/2193-1801-2-117
- Penfield S. 2008. Temperature perception and signal transduction in plants. *New Phytol.* 179 : 615-628.
- Pennycooke J.C., Jones M.L., Stushnoff C. 2003. Down-regulating alpha-galactosidase enhances freezing tolerance in transgenic petunia. *Plant Physiol* 133 : 901-909.
- Rasheed R., Wahid A., Ashraf M., Basra S.M.A. 2010. Role of proline and glycinebetaine in improving chilling stress tolerance in sugarcane buds at sprouting. *Int. J. Agr. Biol.* 12 : 1-8.
- Ruelland E., Vaultier M.-N., Zachowski A., Hurry V. 2009. Cold signalling and cold acclimation in plants. *Advances in Botanical Research.* 49 : 35-150.
- Sarker B.C., Kulchhum M.U., Roy B., Hossain M.F., Haque M.M. 2015. Cold tolerance mechanism of rice cultivars based on physiomorphological characteristics. *Journal of Science and Technology.* 13 : 26-34.
- Taji T., Ohsumi C., Iuchi S., Seki M., Kasuga M., Kobayashi M., Yamaguchi-Shinozaki K.,

## МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ЗЛАКІВ

- Shinozaki K. 2002. Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 29 : 417-426.
- Tantau H., Balko C., Brettschneider B., Melz G., Dorffling K. 2004. Improved frost tolerance and winter survival in winter barley (*Hordeum vulgare* L.) by in vitro selection of proline overaccumulating lines. *Euphytica.* 139 : 19-32.
- Theocharis A., Clement C., Barka E.A. 2012. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta.* 235 : 1091-1105.
- Wanner L., Junttila O. 1999. Cold-induced freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 120 : 391-400.
- Zhao K., Fan H., Zhou S., Song J. 2003. Study on the salt and drought tolerance of *Suaeda salsa* and *Kalanchoe claigremontiana* under isoosmotic salt and water stress. *Plant Sci.* 165 : 837-844.

Надійшла до редакції  
31.08.2020 р.

### CEREALS FROST RESISTANCE CORRELATES WITH AN INTEGRAL INDICATORS OF CONTENT OF LOW-MOLECULAR-WEIGHT PROTECTIVE COMPOUNDS AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES

E. I. Horielova<sup>1</sup>, N. I. Ryabchun<sup>2</sup>, M. A. Shkliarevskyi<sup>1</sup>, A. M. Reznik<sup>2</sup>, Yu. E. Kolupaev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University  
(Kharkiv, Ukraine)*

*E-mail: plant\_biology@ukr.net*

<sup>2</sup>*Yuryev Plant Production Institute of the National Academy  
of Agrarian Sciences of Ukraine  
(Kharkiv, Ukraine)*

Along with specific adaptive reactions, universal defense reactions, in particular activation of antioxidant system, are of great importance for plant survival under cold conditions. We have studied a relationship among the content of low-molecular-weight protective compounds with antioxidant properties (proline, soluble carbohydrates, flavonoids), the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, and guaiacol peroxidase) in seedlings of winter wheat, rye and triticale, and frost resistance of etiolated seedlings and adult plants at tillering stage. It was found that there was a fairly close correlation between the frost resistance of seedlings and adult cereal plants ( $r = 0,78$ ) (See Tab. 1). It was shown that a pronounced relationship between individual indicators of antioxidant system functioning in unhardened seedlings and their frost resistance was not found (See Tab 1-3). After 6-day hardening of seedlings at 2-4°C, there was a high correlation between the total indicator of the enzymatic antioxidant system (the sum of normalized indicators of superoxide dismutase, peroxidase, and catalase activity) and their frost resistance ( $r = 0,86$ ), but the correlation coefficient of this index with frost resistance of plants in tillering phase was significantly lower ( $r = 0,47$ ). At the same time, a high correlation was found between the content of low-molecular-weight protectors in hardened seedlings and frost resistance of tillering adult plants ( $r = 0,89$ ) (See Tab. 4, 5). The closest correlation was observed between the integral normalized indicator, comprising the sum of normalized values of antioxidant enzymes activity and the content of low-molecular-weight protectors in hardened seedlings, and frost resistance of seedlings ( $r = 0,94$ ) and plants in tillering phase ( $r = 0,89$ ). A presence of specific features in the functioning of antioxidant system during cold adaptation of cereal seedlings was established. Rye is characterized by a high content of low-molecular-weight protective compounds; at the same time, increased activity of antioxidant enzymes - superoxide dismutase and catalase - was noted in wheat seedlings. In triticale, depending on the genotype, the values of both enzymatic antioxidant activity and the content of low-molecular-weight protectors varied.

**Key words:** *Secale cereale*, × *Triticosecale*, *Triticum aestivum*, cold hardening, frost resistance, oxidative stress, antioxidant enzymes, low-molecular-weight protective compounds

## МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ ЗЛАКОВ КОРРЕЛИРУЕТ С ИНТЕГРАЛЬНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ СОДЕРЖАНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРОТЕКТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Е. И. Горелова<sup>1</sup>, Н. И. Рябчун<sup>2</sup>, М. А. Шкляревский<sup>1</sup>, А. М. Резник<sup>2</sup>, Ю. Е. Колупаев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева  
(Харьков, Украина)

E-mail: plant\_biology@ukr.net

<sup>2</sup>Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева  
Национальной академии аграрных наук Украины  
(Харьков, Украина)

Наряду со специфическими адаптивными реакциями, важное значение для выживания растений в условиях действия холода имеют универсальные защитные реакции, в частности, активация антиоксидантной системы. Исследовали связь между содержанием низкомолекулярных протекторных соединений с антиоксидантными свойствами (пролина, растворимых углеводов, флавоноидов), активностью антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы и гваяколпероксидазы) в проростках озимых пшеницы, ржи и тритикале и морозостойкостью этиолированных проростков и взрослых растений в фазе кущения. Установлено, что между морозостойкостью проростков и взрослых растений злаков существует достаточно тесная корреляция ( $r = 0,78$ ). Показано, что выраженная связь между отдельно взятыми показателями функционирования антиоксидантной системы у незакаленных проростков и их морозостойкостью не обнаруживается. Однако после 6-суточного закаливания проростков при 2–4°C отмечалась высокая корреляция суммарного показателя ферментативной антиоксидантной системы (сумма нормированных показателей активности супероксиддисмутазы, пероксидазы и каталазы) с их морозостойкостью ( $r = 0,86$ ), однако коэффициент корреляции этого показателя с морозостойкостью растений в фазе кущения был значительно меньше ( $r = 0,47$ ). В то же время обнаружена высокая корреляция между содержанием низкомолекулярных протекторов у закаленных проростков и морозостойкостью взрослых растений в фазе кущения ( $r = 0,89$ ). Наиболее тесная корреляция отмечалась между интегральным нормированным показателем, состоящим из суммы нормированных величин активности антиоксидантных ферментов и содержания низкомолекулярных протекторов у закаленных проростков, и морозостойкостью проростков ( $r = 0,94$ ) и растений в фазе кущения ( $r = 0,89$ ). Установлено наличие видовых особенностей функционирования антиоксидантной системы при холодовой адаптации проростков злаков. Для ржи характерно высокое содержание низкомолекулярных протекторных соединений, в то же время у проростков пшеницы отмечалась повышенная активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы. У тритикале в зависимости от генотипа, варьировали величины как ферментативной антиоксидантной активности, так и содержания низкомолекулярных протекторов.

**Ключевые слова:** *Secale cereale*, × *Triticosecale*, *Triticum aestivum*, холодовое закаливание, морозостойкость, окислительный стресс, антиоксидантные ферменты, низкомолекулярные протекторные соединения