

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ГИПОТЕРМИИ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ ПРОРОСТКОВ ЯРОВОЙ И ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

© 2011 г. Н. В. Загоскина¹, Н. А. Олениченко¹, Л. В. Назаренко²

¹*Учреждение Российской академии наук*

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН

(Москва, Россия)

²*Московский городской педагогический университет*

(Москва, Россия)

Изучали влияние кратковременного воздействия низкой отрицательной температуры (-9°C) на антиоксидантную систему листьев проростков яровой (сорт Амир) и озимой (сорт Московская 39) пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Установили, что уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) возрастал только после двухчасового воздействия стрессового фактора и в большей степени у озимой пшеницы. Условия гипотермии повышали скорость генерации супероксидного анион-радикала, величина которой зависела от длительности воздействия стрессового фактора и сортовых характеристик пшеницы (яровая, озимая). Выявлены значительные отличия в активности ферментативных (супероксиддисмутаза, пероксидаза) и содержании низкомолекулярных (фенольные соединения, в том числе флавоноиды) антиоксидантов в листьях яровой и озимой пшеницы, растущих в контрольных условиях. Низкая температура в большинстве случаев снижала их уровень.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, низкотемпературный стресс, антиоксидантная система, супероксиддисмутаза, пероксидаза, фенольные соединения

Высшие растения в течение вегетационного периода достаточно часто подвергаются низкотемпературному воздействию. Это касается как дикорастущих, так и культурных видов, потери которых в результате периодических снижений температуры, критических морозов и заморозков наносят большой экономический ущерб сельскому хозяйству (Дроздов, Курец, 2003; Сандухадзе и др., 2006; Трунова, 2007). Несмотря на глобальное потепление, эта проблема лишь усугубляется, поскольку на фоне нестабильности климатических условий возросли резкие колебания температуры, в том числе и в относительно короткий временной период.

Известно, что гипотермия приводит к изменениям в углеводном, белковом и липидном метаболизме растений (Новицкая, 1983; Туманов, 1979; Трунова, 2007; Титов и др., 2006). В этих условиях увеличивается также образование активных форм кислорода (АФК), которые обладают высокой цитотоксичностью и способствуют развитию окислительного стресса. Именно этот аспект, а точнее участие антиоксидантной системы в защите клеток от стрессовых воздействий, в последнее время является предметом многочисленных исследований и дискуссий (Мерзляк, 1989; Лукаткин, 2002а; Кордюм и др., 2003; Apel, Hirt, 2004; Suzuki, Mittler, 2006; Фролова и др., 2011).

Считается, что окислительный стресс обусловлен не столько продукцией АФК, сколько нарушением баланса между их генерацией и удалением (Колупаев, 2007). Последнее осуществляется системой антиоксидантной

Адрес для корреспонденции: Загоскина Наталья Викторовна, Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, Москва, 127276, Россия; e-mail: phenolic@ippras.ru

(или противоокислительной) защиты, включающей многочисленные антиоксиданты, классификация которых чрезвычайно разнообразна (Прадедова и др., 2011). Наиболее часто их подразделяют на высокомолекулярные и низкомолекулярные компоненты (Кордюм и др., 2003; Blokhina et al., 2003; Фролова и др., 2011). К первым относятся различные ферменты, в том числе супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, пероксидазы и другие, характеризующиеся высокой специфичностью действия по отношению к определенным формам АФК. Ко вторым – низкомолекулярные вещества, такие как аскорбиновая кислота, глутатион, каротиноиды, фенольные соединения и другие, которые взаимодействуют с АФК и «нейтрализуют» их. Все эти антиоксиданты находятся в постоянном взаимодействии и поддержание их баланса важно для сохранения жизнеспособности растений в стрессовых условиях.

Фенольные соединения являются обязательными компонентами клеток высших растений и выполняют в них различные функции (Запрометов, 1993; Bidel et al., 2010). Они участвуют в окислительно-восстановительных процессах (компоненты электрон-транспортных цепей дыхания и фотосинтеза), реакциях иммунитета, используются в качестве запасного энергетического материала, регулируют рост и развитие растений, а также защищают клетки от различных стрессовых воздействий (Запрометов, 1993; Dixon, Paiva, 1995; Winkel-Shirley, 2001; Kovacic, Klejdus, 2008). Будучи весьма реакционноспособными веществами, эти соединения вторичного метаболизма способны инактивировать свободные радикалы, тем самым защищая клетки от действия АФК (Рогожин и др., 2001; Janas et al., 2002). В то же время до сих пор вклад фенольных соединений в общую антиоксидантную систему растительных клеток изучен недостаточно. Имеются лишь единичные данные о повышении их содержания в растительных тканях после воздействия гипотермии (Rivero et al., 2001; Janas et al., 2002; Олениченко, Загоскина, 2005).

Целью нашей работы являлось изучение кратковременного влияния низкой отрицательной температуры (-9°C) на активность антиоксидантных ферментов (СОД, пероксидаза) листьев проростков мягкой пшеницы и содержание низкомолекулярных антиоксидантов (полифенолов).

МЕТОДИКА

Семена пшеницы (*Triticum aestivum* L.) ярового сорта Амир и озимого сорта Московская 39 помещали в рулоны из фильтровальной бумаги, которые размещали в стаканах с дистиллированной водой и выращивали в факторостатной камере при 22°C и 16-часовом фотопериоде. Для инициации окислительного стресса 10-дневные проростки переносили в климатическую камеру MIR-153 (фирма «SANYO», Япония) и выдерживали в течение 2, 4 или 6 ч при -9°C . Данная температура и время ее воздействия подбирались нами ранее с тем условием, чтобы они не оказались летальными для растений. Во всех случаях для исследований использовали первые флаговые листья проростков.

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА), определяемого по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (Лукаткин, Голованова, 1988). Навеску листьев (200 мг) гомогенизировали в 5 мл буфера, содержащего 0,1 М Трис-НСl (рН 7,6) и 0,35 М NaCl. Затем отбирали 3 мл гомогената и добавляли к нему 2 мл 0,5% раствора тиобарбитуровой кислоты в 20% ТХУ. Пробы инкубировали на водяной бане при 100°C в течение 30 мин и измеряли поглощение при 532 нм. Содержание МДА выражали в мкмоль/г сырого вещества (Жиров и др., 1982).

Генерацию супероксидного анион-радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$) определяли по методу, основанному на превращении адреналина в адренехром, оптическую плотность которого измеряли при 480 нм (Purvid et al., 1995; Лукаткин, 2002б). Навеску листьев (300 мг) гомогенизировали в 10 мл дистиллированной воды. Гомогенат центрифугировали 20 мин при 2500 g. По 3 мл супернатанта помещали в две пробирки, в одну из которых добавляли 100 мкл 5,6 мМ адреналина, в другую – 100 мкл дистиллированной воды (контроль). Реакционную смесь инкубировали 30 мин при комнатной температуре и освещенности 50 мкмоль квантов/($\text{m}^2 \cdot \text{c}$). После окончания экспозиции измеряли оптическую плотность раствора, содержавшего адреналин, против раствора с дистиллированной водой. Скорость генерации $\text{O}_2^{\cdot-}$ рассчитывали по формуле: $\Delta D / t$, где ΔD – разница измерения оптической плотности гомогената с адреналином и гомогената с водой; t – время инкубации (мин) и выражали в относительных единицах скоро-

сти (1 отн. ед. = 10^{-3} опт. ед. / мин) (Kumar, Knowles, 1993).

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) осуществляли методом, в основе которого лежит ее способность конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные радикалы (Beauchamp, Fridovich, 1971). Навеску листьев (100 мг) гомогенизировали в 1,5 мл 50 мМ фосфатного буфера (рН 7,6) и центрифугировали при 6500 g. Реакционная смесь состояла из 1,5% L-метионина, 0,14% нитросинего тетразолия и 1% Тритона X-100 в соотношении 3:1:0,75. К 1 мл реакционной смеси добавляли 10 мкл 4,4% раствора рибофлавина и инкубировали 30 мин при освещенности 100 мкмоль квантов/(м²·с). Измерения оптической плотности проводили против среды выделения при длине волны 560 нм. За единицу активности принимали 50% ингибирование образования формазана. Активность СОД выражали в единицах активности на 1 мг белка (Kumar, Knowles, 1993).

Для определения активности пероксидазы навеску листьев (1 г) гомогенизировали в 10 мл 0,005М фосфатного буфера (рН 6,8), центрифугировали 20 мин при 6500 g, отделяли надосадочную фракцию и использовали ее в качестве ферментного препарата. Реакционная смесь для определения активности пероксидазы состояла из 1,3 мл 0,05% раствора гваякола, 1,3 мл 5 мМ раствора перекиси водорода и 0,8 мл ферментного препарата. После инкубации в течение 3 мин при 24°C измеряли интенсивность возникающей окраски по поглощению при 460 нм (Henry, Jordan, 1977). Активность пероксидазы выражали в единицах активности на 1 мг белка за 1 мин.

Содержание белка определяли по методу Бредфорд (Bradford, 1976).

Определение содержания фенольных соединений и флавонолов проводили после их извлечения из свежих листьев 70%-ным этанолом (Олениченко и др., 2006). В экстрактах спектрофотометрическим методом определяли содержание суммы растворимых фенольных соединений с реактивом Фолина–Дениса (поглощение при 725 нм) (Запрометов, 1971) и содержание флавоноидов по реакции с 1%-ным водным раствором хлористого алюминия (поглощение при 415 нм) (Gage, Wendel, 1950). Калибровочные кривые в обоих случаях строили по рутину.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием про-

граммы Statistica for Windows 9.0, применяя *t*-критерий Стьюдента для независимых выборок ($P=0.05$) и графопостроителем Microsoft Office Excel 2007. Все определения проводили в двух биологических и двух аналитических повторностях. На рисунках представлены средние арифметические значения определений и их стандартные отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Физиологический эффект

Основными видимыми признаками повреждения растений при низкотемпературном воздействии являются потеря тургора и хлороз листьев, а также отмирание верхушечной и боковых почек или всей верхушки побега (Туманов, 1979). В нашем случае низкая отрицательная температура (-9°C) приводила к снижению тургора и подвяданию листьев у проростков как озимой, так и яровой пшеницы (в большей степени после 4 и 6 ч воздействия). Однако они сохраняли жизнеспособность, о чем свидетельствовало последующее их отрастание при возврате растений в обычные (контрольные) условия. Следовательно, кратковременное воздействие низкой отрицательной температуры оказывало обратимое негативное влияние и не приводило к гибели проростков обоих сортов пшеницы, что свидетельствует о сохранении их клеточного гомеостаза (Suzuki, Mittler, 2006; Penfield, 2008).

Уровень перекисного окисления липидов

Одной из наиболее распространенных неспецифических реакций на стресс является индукция процессов ПОЛ в растительных клетках, обусловленная действием АФК (Кордюм и др., 2003; Полесская, 2007). Считают, что ПОЛ и его продукты выступают в роли SOS-ответа клеток (Барабой, 1991).

Как следует из полученных нами данных, в листьях проростков яровой и озимой пшеницы, растущих в контрольных условиях, уровень ПОЛ, показателем которого является количество МДА, был практически одинаков (рис. 1). После 2 ч воздействия гипотермии он повышался на 40% и 12% у озимого и ярового сортов, соответственно. В дальнейшем уровень ПОЛ снижался и был даже ниже, чем в контроле. Все это свидетельствует о достаточно быстрой адаптации проростков пшеницы к низкой температуре и «запуске» систем защиты, предотвращающих развитие окислительного стресса и повреждение мембран. Уменьшение ПОЛ отмечалось также в листьях табака при

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ГИПОТЕРМИИ

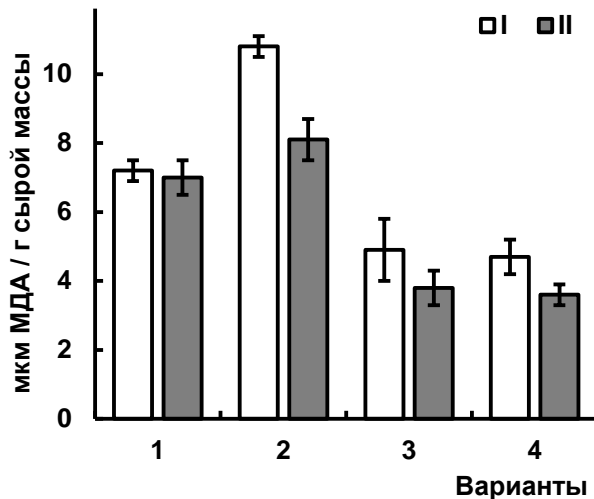


Рис. 1. Изменения интенсивности ПОД в листьях проростков озимого (Московская 39; I) и ярового (Амир; II) сортов пшеницы при кратковременном действии низкой отрицательной температуры (-9°C).

Здесь и на рис. 2-5: 1 – контроль, 2-4 – действие низкой температуры в течение 2, 4 и 6 час, соответственно.

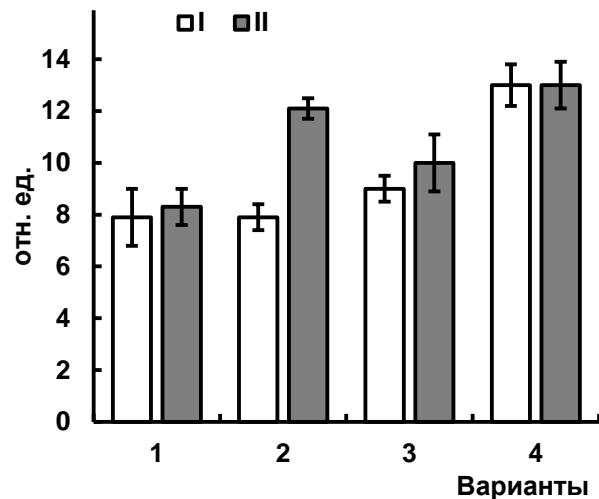


Рис. 2. Изменение скорости генерации супероксидного анион-радикала (отн. ед.) в листьях проростков озимого (Московская 39; I) и ярового (Амир; II) сортов пшеницы при кратковременном действии низкой отрицательной температуры (-9°C).

закаливании (Антипина, 2011) и при охлаждении (2°C) холодоустойчивого вида картофеля (Лукаткин, 2002б).

Генерация супероксид-радикала

Скорость генерации супероксидного анион-радикала (первой АФК в цепи инициации процессов свободного радикального окисления, возникающих в клетках при стрессовых воздействиях) является одним из важных показателей, свидетельствующих о наличии условий для возникновения окислительных повреждений (Полесская, 2007). В листьях проростков обоих сортов пшеницы, растущих в контрольных условиях, она была практически одинакова (рис. 2). В условиях гипотермии скорость генерации супероксидного анион-радикала возрастала: быстро у яровой пшеницы (через 2 ч на 42% по сравнению с контролем) и более медленно у озимой (через 4 ч на 17% по сравнению с контролем). Через 6 ч она достигала максимального уровня, одинакового у обоих сортов.

Следовательно, увеличение скорости генерации $O_2^{\cdot-}$ можно рассматривать как один из чувствительных показателей при оценке воздействия низких температур на проростки пшеницы.

Высокомолекулярные антиоксиданты

Супероксиддисмутаза. Многие авторы указывают на «ключевую» роль СОД в системе антиоксидантной защиты клеток растений, хотя

данные об изменении ее активности при различных стрессовых воздействиях достаточно противоречивы (Scandalios, 1993; Bowler et al., 1992; Дерябин и др., 2007).

Определение активности СОД показало значительно более высокий ее уровень в листьях проростков озимой пшеницы по сравнению с яровой (рис. 3). Эти различия, достигавшие в некоторых случаях 700%, вероятно, обусловлены генетическими характеристиками изучаемых форм пшеницы, онтогенетическое развитие которых происходит при различном температурном режиме. В частности, у озимой пшеницы оно начинается в осенне-зимний период, когда высока вероятность действия низких температур. Вероятно, именно наличие высокой активности СОД в их листьях позволяет молодым формирующимся растениям противостоять стрессовым воздействиям и сохранять жизнеспособность в условиях резких колебаний температуры.

В условиях гипотермии в листьях озимой пшеницы активность СОД после 2 ч воздействия уменьшалась (на 16% по сравнению с контролем), через 4 ч – немного возрастала, а через 6 ч – резко снижалась (почти в 2 раза по сравнению с контролем) (рис. 3). У ярового сорта она все время была ниже, чем в контроле: через 2 ч – на 6%, через 4 ч – на 35%, а через 6 ч – в 2 раза. Таким образом, в листьях как яровой, так и озимой пшеницы в условиях действия низкой

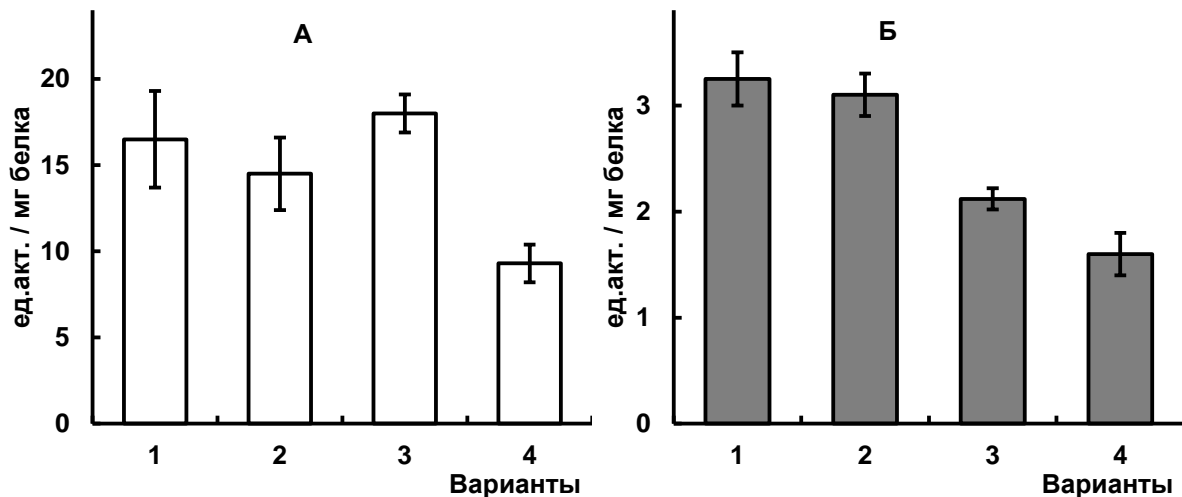


Рис. 3. Изменение активности СОД в листьях проростков озимого (Московская 39; А) и ярового (Амир; Б) сорта пшеницы при кратковременном действии низкой отрицательной температуры (-9°C).

отрицательной температуры не происходило увеличения активности этого важнейшего фермента антиоксидантной защиты, как отмечалось другими авторами (Лукаткин, 2002б; Дерябин и др, 2007). Скорее даже наоборот – ее уровень снижался, что наиболее ярко проявлялось после 6 ч воздействия гипотермии. Об уменьшении активности СОД и изменении ее изоферментного состава при стрессовых воздействиях сообщалось и в литературе (Попов и др., 2006; Коса et al., 2007). Возможно, это обусловлено ингибированием активности Cu,Zn-СОД, присутствующей практически во всех компартментах клетки, под влиянием H_2O_2 (Bowler et al., 1992; Бараненко, 2006; Полеская, 2007).

Пероксидаза. Важная роль в антиоксидантной защите клеток от активных форм кислорода отводится пероксидазам, восстанавливающим образуемую СОД перекись водорода до безопасной воды (Полеская, 2007). Как следует из полученных нами данных, активность этого фермента всегда была выше в листьях яровой пшеницы и эти различия в некоторых случаях достигали 300% (рис. 4).

Условия гипотермии вызывали практически одинаковые изменения в активности пероксидазы в листьях проростков пшеницы. В обоих случаях она снижалась почти в 2 раза после 2-часового воздействия, через 4 часа была близка к контролю, хотя в листьях яровой пшеницы превышала его (на 14 %), а у озимой – была ниже (на 8%). После 6-часового воздействия гипотермии активность пероксидазы уменьшалась, особенно значительно в листьях

озимой пшеницы, составляя всего 12% от контрольного значения.

Следовательно, судя по полученным нами данным, для листьев проростков пшеницы в условиях кратковременного воздействия низкой отрицательной температуры не характерно повышение уровня активности таких высокомолекулярных антиоксидантов как СОД и пероксидаза. Причины этого явления крайне разнообразны: от резкого изменения условий выращивания (с $+24^{\circ}\text{C}$ до -9°C), приводящего к снижению их активности, до истощения пула ферментов в этих условиях (Mittler, 2002; Бараненко, 2006). Нельзя исключать и тот факт, что изменения в активности этих высокомолекулярных антиоксидантах происходят сразу после стрессового воздействия, что будет являться предметом дальнейших исследований.

Низкомолекулярные антиоксиданты

К компонентам антиоксидантной защиты относятся низкомолекулярные соединения фенольной природы. Благодаря своим химическим свойствам они эффективно взаимодействуют с АФК, образуя окисленные соединения в клетках в стрессовых условиях, и таким образом препятствуют развитию окислительного стресса (Зенков и др., 2003; Blokhina et al., 2003).

Определение суммарного содержания фенольных соединений показало, что в контрольных условиях в листьях проростков яровой пшеницы оно было на 30% выше, чем у озимой (рис. 5А). Эта тенденция сохранялась и в условиях гипотермии, хотя и была выражена в значительно меньшей степени.

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ГИПОТЕРМИИ

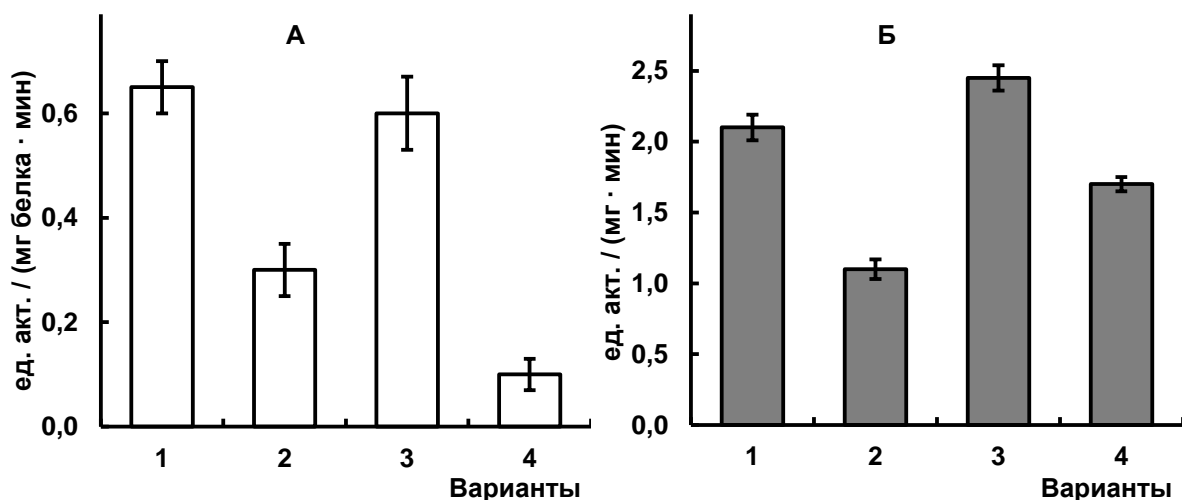


Рис. 4. Изменение активности пероксидазы в листьях проростков озимого (Московская 39; А) и ярового (Амир; Б) сорта пшеницы при кратковременном действии низкой отрицательной температуры (-9°C).

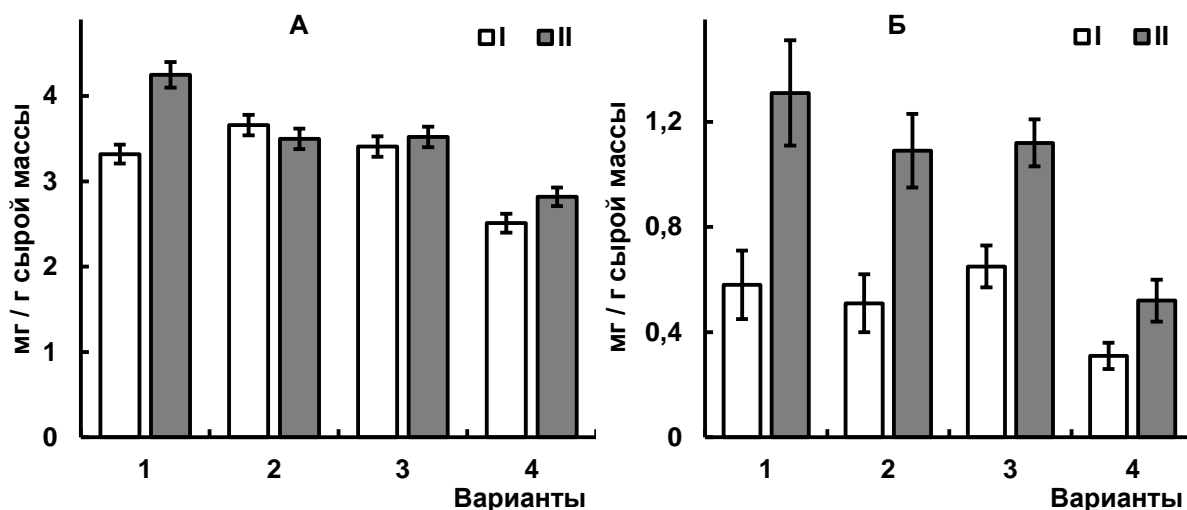


Рис. 5. Изменение содержания суммы растворимых фенольных соединений (А) и флавоноидов (Б) в листьях проростков озимого (Московская 39; I) и ярового (Амир; II) сорта пшеницы при кратковременном действии низкой отрицательной температуры (-9°C).

В листьях озимого сорта содержание фенольных соединений в первые часы воздействия гипотермии мало отличалось от такого контрольного варианта, а после 6 ч снижалось на 29%. У ярового сорта оно всегда было ниже, чем в контроле: после 2 и 4 ч – на 15-16%, а после 6 ч – почти на 40%. Следует также отметить, что в условиях гипотермии суммарное содержание фенольных соединений в листьях обоих сортов пшеницы было практически одинаковым, что может свидетельствовать об одинаковой интенсивности фенольного метабо-

лизма, не зависящей от их сортовых характеристик.

Ранее нами было показано, что основными компонентами фенольного комплекса листьев пшеницы являются флавоноиды (Олениченко и др., 2006). Более высокое их накопление характерно для проростков яровой пшеницы (рис. 5Б). И в этом случае различия между сортами были выражены в значительно большей степени по сравнению с таковыми суммарного накопления фенольных соединений (см. рис. 5А).

В условиях гипотермии содержание флавоноидов в листьях проростков озимой пшеницы через 2 ч снижалось (на 17% по сравнению с контролем), затем увеличивалось, достигая значения контроля, а после 6 ч резко уменьшалось (в 1,9 раза по сравнению с контролем). У ярового сорта оно также снижалось после 2-часового воздействия (на 17% по сравнению с контролем), затем не менялось (4 ч), а через 6 ч – резко уменьшалось (в 2 раза).

Снижение содержания фенольных соединений, в том числе и флавоноидов, может быть следствием их катаболизма в условиях гипотермии, формирования новых структур и изменения внутриклеточной локализации (Запрометов, 1993; Janas et al., 2002; Lahtinen et al., 2005). Кроме того, при низкотемпературном воздействии меняется структура хлоропластов (Астахова, 2008), являющихся одним из основных мест биосинтеза флавоноидов в клетках зеленых растений (Запрометов, Загоскина, 1987; Запрометов, 1993), что не может не отразиться на их биосинтезе.

Таким образом, кратковременное действие низкой отрицательной температуры вызывает быстрое, заметное через 2 ч, развитие стрессовой реакции в листьях проростков яровой и озимой пшеницы, о чем свидетельствует повышение в них уровня ПОЛ. В дальнейшем система «возвращается» к норме и этот показатель снижается даже ниже контрольного значения, то есть в растениях антиоксидантная система защиты предотвращает развитие окислительного стресса и происходит их адаптация к условиям гипотермии. В то же время формирование активных форм кислорода, в частности супероксидного анион-радикала, в листьях проростков в течение всего периода воздействия превышало таковое контроля, что в дальнейшем может вызывать как прямые повреждения клеток, так и способствовать образованию других, в том числе и более токсичных, форм кислорода (Бараненко, 2006). Следует также отметить, что в условиях гипотермии активность СОД и пероксидазы (высокомолекулярные антиоксиданты), а также содержание полифенолов (низкомолекулярные антиоксиданты) снижалось и этот аспект клеточного метаболизма заслуживает дальнейшего изучения.

Авторы выражают искреннюю признательность академику РАСХН, д.б.н. Б. Е. Сандухадзе за предоставление использованных в данном исследовании сортов пшеницы, а также консультации и обсуждение материала.

ЛИТЕРАТУРА

- Антипина О.В.* Способность листьев и корней теплолюбивых растений табака к формированию устойчивости к гипотермии: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. – М., 2011. – 25 с.
- Астахова Н.В.* Особенности ультраструктуры клеток и хлоропластов холодостойких и теплолюбивых растений при действии гипотермии // Матлы VIII Междунар. научно-метод. конф. «Интрадукция нетрадиционных и редких растений». – Мичуринск, 2008 – Т. 3. – С. 20-24.
- Барабой В.А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи соврем. биологии – 1991. – Вып. 111. – С. 923-931.
- Бараненко В.В.* Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. – 2006. – Т. 48. – С. 465-472.
- Дерябин А.Н., Синькевич М.С., Дубинина И.М. и др.* Влияние сахаров на развитие окислительного стресса, вызванного гипотермией (на примере растений картофеля, экспрессирующих ген инвертазы дрожжей) // Физиология растений. – 2007. – Т. 54. – С. 39-46.
- Дроздов С.Н., Курец В.К.* Некоторые аспекты экологической физиологии растений. – Петрозаводск, 2003. – 172 с.
- Жиров В.К., Мерзляк М.Н., Кузнецов Л.В.* Перекисное окисление мембранных липидов холодостойких растений при повреждении отрицательными температурами // Физиология растений. – 1982. – Т. 29. – С. 1045-1052.
- Запрометов М.Н.* Фенольные соединения и методы их определения // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О.А. Павлиновой – М., 1971. – С. 185-197.
- Запрометов М.Н.* Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. – М., 1993. – 272 с.
- Запрометов М.Н., Загоскина Н.В.* Еще одно доказательство участия хлоропластов в биосинтезе фенольных соединений // Физиология растений. – 1987. – Т. 34. – С. 165-172.
- Зенков Н.К., Кандалинцева Н.В., Ланкин В.З. и др.* Фенольные биоантиоксиданты. – Новосибирск, 2003. – 328 с.
- Колупаев Ю.Е.* Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2007. – Вып. 3 (12). – С. 6-26.
- Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В. и др.* Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ГИПОТЕРМИИ

- факторов в естественных условиях. – Киев: Наук. думка, 2003. – 275 с.
- Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. – Саранск, 2002а. – 208 с.
- Лукаткин А.С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений. 1. Образование активированных форм кислорода при охлаждении растений // Физиология растений. – 2002б. – Т. 49. – С. 697-702.
- Лукаткин А.С., Голованова В.С. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений // Физиология растений. – 1988. – Т. 35. – С. 773-780.
- Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки / Итоги науки и техники. Сер. Физиология растений. – М., 1989. – Т. 6. – 167 с.
- Новицкая Г.В. Влияние закаливания растений озимой пшеницы к морозу на липидный состав листьев и узлов кущения // Прикл. биохимия и микробиология. – 1983. – Т. 19. – С. 261-266.
- Олениченко Н.А., Загоскина Н.В. Ответная реакция озимой пшеницы на действие низких температур: образование фенольных соединений и активность фенилаланинаммиак-лиазы // Прикл. биохимия и микробиология. – 2005. – Т. 41. – С. 600-603.
- Олениченко Н.А., Осипов В.И., Загоскина Н.В. Фенольный комплекс листьев озимой пшеницы и его изменение в процессе низкотемпературной адаптации растений // Физиология растений. – 2006. – Т. 53. – С. 554-559.
- Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. – М., 2007. – 140 с.
- Попов В.Н., Кипайкина Н.В., Астахова Н.В., Трунова Т.И. Особенности окислительного стресса растений табака, трансформированных геном *desC* 9-ацил-липидной десатуразы из *Synechococcus vulcanus*, при гипотермии // Физиология растений. – 2006. – Т. 53. – С. 525-529.
- Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Саляев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. – 2011. – Т. 58. – С. 177-185.
- Рогожин В.В., Верхотуров В.В., Курилюк Т.Т. Антиоксидантная система в прорастании семян пшеницы // Известия РАН. Серия биологическая. – 2001. Вып. 2. – С.165-173.
- Сандухадзе Б.И., Кочетыгов Г.В., Бугрова В.В. и др. Методические основы селекции озимой пшеницы на урожайность и качество зерна в Центре Нечерноземья России // С-х. биология. – 2006. – №3. – С. 3-12.
- Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. – М.: Наука, 2006. – 143 с.
- Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс. – М.: Наука, 2007. – 54 с.
- Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. – М.: Наука, 1979. – 352 с.
- Фролова С.А., Титов А.Ф., Таланова В.В. Влияние низкотемпературного закаливания на активность протеолитических ферментов и их ингибиторов в листьях проростков пшеницы и огурца // Физиология растений. – 2011. – Т. 58. – С. 208-212.
- Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annu. Rev. Plant Biol. – 2004. – V. 55. – P. 373-399.
- Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem. – 1971. – №3. – P. 276-287.
- Bidel L. P.R., Coumans M., Baissac Y. et al. Biological activity in plant cells / Recent advances in polyphenol research / Eds. C. Santos-Buelga, M. Escribano-Bailon, V. Lattanzio. – Oxford, United Kindom, 2010. – V. 2. – P. 163-205.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress // Ann. Bot. – 2003. – V. 91. – P. 179-194.
- Bowler C., van Montagu M., Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance // Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol. – 1992. – V. 43. – P. 83-116.
- Bradford M.M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – V. 72. – P. 248-254.
- Dixon R.A., Paiva N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism // Plant Cell. – 1995. – V. 7. – P. 1085-1097.
- Gage T.B., Wendei S.H. Quantitative determination of certain flavonol-3-glycosides // Anal. Chem. – 1950. – V. 22. – P.708-711.
- Henry E., Jordan W. The enzymes response of pea (*Pisum sativum*) stem sections to applied indolacetic acid, gibberellic acid and etrel: catalase, peroxidase and polyphenoloxidase // Z. Pflanzenphysiol. – 1977. – B. 2. – P. 321-325.

- Janas K. M., Cvikrová M., Palagiewicz A. et al.* Constitutive elevated accumulation of phenylpropanoids in soybean roots at low temperature // *Plant Sci.* – 2002. – V. 163. – P. 369-373.
- Koca M., Bor M., Ozdemir F., Turkan I.* The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars // *Environ. Exp. Bot.* – 2007. – V. 60. – P. 344-351.
- Kovacik J., Klejdus B.* Dynamics of phenolic acids and lignin accumulation in metal-treated *Matricaria chamomilla* roots // *Plant Cell Rep.* – 2008. – V. 7. – P. 605-615.
- Kumar G.N., Knowles N.R.* Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum* L.) seed-tubers // *Plant Physiol.* – 1993. – V. 102. – P. 115-124.
- Lahtinen M., Kapari L., Ossipov V. et al.* Biochemical transformation of birch leaf phenolics in larvae of six species of sawflies // *Chemoecology.* – 2005. – V. 15. – P. 153-159.
- Mittler R.* Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends Plant Sci.* – 2002. – V. 7. – P. 405-410.
- Penfield S.* Temperature perception and signal transduction in plants // *New Phytol.* – 2008. – V. 179. – P. 615-628.
- Purvid A.C., Shewfelt R.L., Gegogaine J.W.* Superoxide production in mitochondria isolated from green bell pepper fruit // *Physiol. Plant.* – 1995. – V. 94. – P. 743-749.
- Riverto R.M., Ruiz J.M., Garcia P.C. et al.* Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants // *Plant Sci.* – 2001. – V. 160. – P. 315-321.
- Scandalios J.G.* Oxygen stress and superoxide dismutases // *Plant. Physiol.* – 1993. – V. 101. – P. 7-12.
- Suzuki N., Mittler R.* Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction // *Physiol. Plant.* – 2006. – V. 126. – P. 45-51.
- Winkel-Shirley B.* How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 127. – P. 1399-1404.

Поступила в редакцию
15.09.2011 г.

CHANGES IN ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES AND CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE LEAVES OF SPRING AND WINTER WHEAT SEEDLINGS UNDER SHORT-TERM EFFECT OF LOW TEMPERATURE

N. V. Zagoskina¹, N. A. Olenichenko¹, L. V. Nazarenko²

¹*K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology
Russian Academy of Science
(Moscow, Russia)*

²*Moscow City Pedagogical University
(Moscow, Russia)*

In this study, the influence of short-term low temperature (-9°C) affect on an antioxidant system in leaves of spring (cv. Amir) and winter (Moscowskaya 39) wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings was investigated. It was found that the level of lipid peroxidation (LPO) only increased after 2 hr. exposure under stress factors. It was more characteristic of winter wheat seedlings. The hypothermia conditions increased the rate of superoxide anion radical generation. Its value depended on the duration of the stress influence and the genotypes of wheat seedlings (spring, winter). The significant differences in the content of high-molecular (superoxide dismutase, peroxidase) and low-molecular (phenolics, including flavonoids) antioxidants were found out in the leaves of both spring and winter wheat seedlings growing in the controlled conditions. In most cases a low temperature stress led to the reduction of these antioxidant level.

Key words: *Triticum aestivum*, antioxidant system, superoxide dismutase, peroxidase

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ГИПОТЕРМИИ

ВПЛИВ КОРОТКОЧАСНОЇ ДІЇ ГИПОТЕРМІЇ НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ І ВМІСТ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ЛИСТКАХ ПРОРОСТКІВ ЯРОЇ ТА ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

Н. В. Загоскіна¹, Н. О. Олениченко¹, Л. В. Назаренко²

¹*Установа Російської академії наук Інститут фізіології рослин ім. К. А. Тімірязєва РАН
(Москва, Росія)*

²*Московський міський педагогічний університет
(Москва, Росія)*

Вивчали вплив короткочасної дії низької від'ємної температури (-9°C) на антиоксидантну систему листків проростків ярої (сорт Амір) і озимої (сорт Московська 39) пшениці (*Triticum aestivum* L.). Встановили, що рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) зростав тільки після двогодинної дії стресового чинника і більшою мірою у озимої пшениці. Умови гіпотермії підвищували швидкість генерації супероксидного аніон-радикала, величина якої залежала від тривалості дії стресового чинника і сортових характеристик пшениці (ярова, озима). Виявлені значні відмінності в активності ферментативних (супероксиддисмутаза, пероксидаза) і вмісті низькомолекулярних (фенольні сполуки, зокрема флавоноїди) антиоксидантів в листках ярої та озимої пшениці, що ростуть в контрольних умовах. Низька температура у більшості випадків знижувала їх рівень.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, низькотемпературний стрес, антиоксидантна система, супероксиддисмутаза, пероксидаза, фенольні сполуки