

УДК 581.1

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И ЭКСПРЕССИИ КОДИРУЮЩИХ ЕЕ ГЕНОВ В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ

Н. С. Репкина¹, А. А. Игнатенко¹, К. М. Панфилова²,
А. Ф. Титов¹, В. В. Таланова¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

² Петрозаводский государственный университет

Исследовано влияние низкой закаливающей температуры (4 °С) на динамику активности фермента супероксиддисмутазы (СОД) и накопление транскриптов кодирующих ее генов – *FeSOD* и *MnSOD* – в листьях семидневных проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Показано, что уже через 1 ч от начала действия закаливающей температуры 4 °С происходит достоверное увеличение холодоустойчивости проростков пшеницы, которая затем продолжает монотонно возрастать, достигая максимума на 7-е сутки эксперимента. Процесс холодовой адаптации проростков пшеницы сопровождался повышением активности СОД в листьях, фиксируемым уже через 1 ч от ее начала. С увеличением продолжительности холодового воздействия наблюдалось дальнейшее повышение активности СОД, которая достигала максимума на 7-е сутки эксперимента. Помимо этого установлено, что увеличение общей активности СОД сопровождается накоплением транскриптов генов *FeSOD* и *MnSOD* в листьях проростков. Причем повышение содержания мРНК гена *FeSOD* происходило значительно раньше (через 1 ч от начала воздействия низкой температуры 4 °С), чем гена *MnSOD* (через 1 сутки), и в течение всего периода холодового воздействия уровень содержания мРНК гена *FeSOD* был выше, чем гена *MnSOD*. На основании совокупности полученных данных сделан вывод о том, что возрастание активности СОД и усиление экспрессии генов *FeSOD* и *MnSOD* в условиях действия низкой закаливающей температуры обеспечивает эффективную нейтрализацию супероксид-радикала и является важным элементом процесса адаптации растений озимой пшеницы к холоду.

Ключевые слова: низкая температура; пшеница; экспрессия генов *FeSOD* и *MnSOD*; активность супероксиддисмутазы; устойчивость.

N. S. Repkina, A. A. Ignatenko, K. M. Panfilova, A. F. Titov, V. V. Talanova. THE DYNAMICS OF SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY AND ITS GENE EXPRESSION IN WHEAT LEAVES DURING COLD ADAPTATION

The effect of low hardening temperature (4 °C) on the dynamics of the enzyme superoxide dismutase (SOD) activity and the transcript accumulation of its encoding genes – *FeSOD* and *MnSOD* – in the leaves of 7-day-old seedlings of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) variety Moscovskaya 39 was investigated. It was shown that already in 1 hour from the beginning of the treatment, the hardening temperature of 4 °C causes a significant increase in cold tolerance of the seedlings, which then continues to increase monotonically,

reaching a peak on the 7th day of the experiment. The process of cold adaptation in wheat seedlings was accompanied by an increase in SOD activity in wheat leaves, observed as soon as 1 hour after the beginning of the treatment. As the cold exposure continued, there was a further increase in SOD activity, which peaked on the 7th day of the experiment. In addition, it was determined that the increase in total SOD activity was accompanied by the accumulation of *FeSOD* and *MnSOD* gene transcripts in the seedlings' leaves. The level of *FeSOD* gene mRNA rose significantly earlier (1 hour from the start of exposure to a temperature of 4 °C) than *MnSOD* gene mRNA (after 1 day), and *FeSOD* mRNA level remained higher than *MnSOD* mRNA level throughout the period of cold exposure. Based on our results, we can conclude that the increase of SOD activity and upregulation of *MnSOD* and *FeSOD* genes under low hardening temperature enable effective neutralization of superoxide radicals and represent an important element in the process of cold adaptation in winter wheat plants.

Key words: low temperature; wheat; *FeSOD* and *MnSOD* gene expression; superoxide dismutase activity; tolerance.

Введение

Воздействие на растения неблагоприятных факторов среды, в том числе низких температур, активизирует в их клетках образование активных форм кислорода (АФК) [Колупаев, Карпец, 2010], что может приводить к нарушению структуры макромолекул (белков, нуклеиновых кислот, липидов и др.) и развитию окислительного стресса [Pal et al., 2013; Baxter et al., 2014]. В этой ситуации одной из первых защитных реакций растений, направленных на нейтрализацию АФК и предотвращение окислительного стресса, является активизация антиоксидантной системы [Demidchik, 2015], связанная, в частности, с усилением генерации ряда высоко- и низкомолекулярных протекторных соединений [Szöllösi, 2014]. Среди них особую важную роль в защите растений от окислительного стресса играют антиоксидантные ферменты, к которым относится супероксиддисмутаза (СОД) [Pal et al., 2013]. Данный фермент катализирует реакцию дисмутации супероксидных радикалов [Бараненко, 2006]. В зависимости от металла (марганец, железо, медь/цинк), расположенного в активном центре фермента, различают три типа СОД: Mn-СОД, Fe-СОД и Cu/Zn-СОД [Bowler et al., 1994]. Mn-СОД обнаружена в митохондриях и пероксисомах, Fe-СОД и Cu/Zn-СОД представлены практически во всех компартментах клетки (цитозоле, хлоропластах, митохондриях, пероксисомах) [Szöllösi, 2014]. Одной из особенностей СОД растений является наличие множественных молекулярных форм (изоферментов), количество которых видоспецифично [Бараненко, 2006]. Ядерные гены, кодирующие СОД, высококонсервативны и малокопийны [Scandalios, 1990].

Исследования последних лет показали, что активность СОД у растений повышается

в неблагоприятных условиях: при дефиците воды [Zhang et al., 2007; Sánchez-Rodríguez et al., 2016], засолении [Mandhania et al., 2006; Yan et al., 2016], УФ-облучении [Tang et al., 2010; Inostroza-Blancheteau et al., 2016], действии тяжелых металлов [Goswami, Das, 2016], высоких [Asthir et al., 2012; Chen et al., 2014] и низких температурах [Szöllösi, 2014] и др. Вместе с тем имеются данные и о снижении активности СОД под влиянием таких стрессоров, как тяжелые металлы [Dandan et al., 2011], низкие температуры [Lado et al., 2016], засоление [Oufdou et al., 2014]. Это свидетельствует о неоднозначности ответной реакции СОД на разные стрессовые воздействия, которая, видимо, может различаться в зависимости от их типа, интенсивности и продолжительности, а также от биологических особенностей объекта. Что касается экспрессии генов СОД у растений в стрессовых условиях, то имеющиеся на этот счет сведения весьма немногочисленны и также противоречивы [Baek, Skinner, 2006; Gao et al., 2009; Airaki et al., 2012].

Учитывая вышеизложенное, целью данной работы явилось исследование динамики активности СОД и экспрессии кодирующих ее генов – *FeSOD* и *MnSOD* – в листьях проростков озимой пшеницы в процессе их холодной адаптации.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Их выращивали в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе (рН 6,2–6,4) с добавлением микроэлементов в климатической камере при температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности около

Таблица 1. Праймеры для проведения ПЦР в режиме реального времени

Ген	Прямой и обратный праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера 5'... 3'	Номер доступа в базе данных NCBI
<i>Actin</i>	прямой обратный	GGGACCTCACGGATAATCTAATG AACCTCCACTGAGAACAACATTAC	AJ579382
<i>FeSOD</i>	прямой обратный	GGGTCTGGTTGGGTTTG TCGCCTGTCACTCCTTGTAAATC	JX398977
<i>MnSOD</i>	прямой обратный	ACATAACTGTAAGTCCACG TTGCTCATTTCCCAT	AY963808

10 клк и 14-часовом фотопериоде. По достижении недельного возраста проростки пшеницы подвергали действию низкой закалывающей температуры (4 °С) в течение 7 сут, сохраняя прочие условия неизменными.

Устойчивость растений к действию низких температур оценивали по реакции клеток высечек из листьев на 5-минутное тестирующее промораживание в термоэлектрическом микрохолодильнике ТЖР-02/–20 («Интерм», Россия) при последовательном изменении температуры с интервалом 0,4 °С [Балагурова и др., 1982]. В качестве критерия устойчивости использовали температуру гибели 50 % паренхимных клеток (LT_{50}), определяемую по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Активность супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) определяли по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия [Beauchamp, Fridovich, 1971]. Содержание белка анализировали методом Бредфорда [Bradford, 1976].

Накопление транскриптов генов *FeSOD* и *MnSOD* анализировали методом ПЦР в режиме реального времени. Для этого навеску листьев пшеницы (50 мг) растирали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора ExtractRNA («Евроген», Россия). Для удаления остатков ДНК препарат РНК обрабатывали ДНКазой (10 ед/мл) («Синтол», Россия). кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции с M-MLV обратной транскриптазой и случайными (random) гексапраймерами («Евроген», Россия) (табл. 1). Количество и качество выделенной РНК и синтезированной кДНК проверяли спектрофотометрически (SmartSpecPlus, «Био-Рад»). Амплификацию образцов проводили в приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 («Био-Рад»), используя наборы для амплификации с интеркалирующим красителем SYBR Green («Евроген», Россия). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 1 мкл кДНК (100 нг), 10 мкл реакционной смеси, по 1 мкл прямого и обратного праймеров (10 мкМ) (табл. 1), 1 мкл MgCl₂

и 17 мкл деионизованной воды, свободной от нуклеаз. В качестве референсного гена использовали актин. Протокол ПЦР: 5 мин при 95 °С, далее 45 циклов 15 с при 95 °С, 30 с при 56 °С. Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов: 1 мин при 95 °С, 1 мин при 50 °С, 10 с при 60 °С (80 циклов, повышая в каждом цикле температуру на 0,5 °С). Накопление транскриптов генов вычисляли по формуле:

$$\text{Накопление транскриптов гена} = \frac{2^{-Ct}}{2^{-Ct(\text{контрольный}) - Ct(\text{тестовый образец})}}$$

где Ct – значения пороговых циклов.

В качестве контрольных образцов были выбраны кДНК, выделенные из растений, не подвергнутых воздействию низкой температуры.

Повторность при определении холодоустойчивости проростков в пределах одного варианта опыта 6-кратная, при анализе активности СОД и проведении ПЦР-анализа – 3-кратная. На рисунках приведены средние арифметические значения из нескольких независимых опытов и их стандартные отклонения. Расчет коэффициентов корреляции для малых выборок проводили общепринятым методом [Зайцев, 1984]. В статье обсуждаются величины, достоверные при $p \leq 0,05$.

Исследования выполнены на научном оборудовании ЦКП ИО ИБ КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера».

Результаты

В ходе исследований установлено, что уже через 1 ч от начала действия низкой закалывающей температуры (4 °С) холодоустойчивость листьев проростков пшеницы достоверно увеличивается, затем она продолжает монотонно возрастать и достигает максимума на 7-е сут (рис. 1).

Действие температуры 4 °С вызывало повышение активности фермента СОД в листьях проростков (рис. 2). В частности, уже через

1 ч от начала охлаждения проростков отмечено достоверное увеличение активности СОД, которая в дальнейшем в ходе адаптации постепенно повышалась, достигая максимума на 7-е сутки. При этом коэффициент корреляции между активностью СОД и холодоустойчивостью проростков оказался довольно высоким и составил +0,88 (табл. 2).

Уже через 1 ч от начала действия температуры 4 °С в листьях проростков происходит повышение уровня мРНК гена *FeSOD* (рис. 3). С увеличением продолжительности холодового воздействия накопление транскриптов гена *FeSOD* усиливалось, несколько замедляясь на третьи сутки эксперимента, но и в этом случае уровень экспрессии данного гена оставался высоким. Наибольшее содержание мРНК гена *FeSOD* отмечено на 5–7-е сутки опыта. Накопление мРНК гена *MnSOD* в листьях проростков начиналось значительно позже, чем

Таблица 2. Коэффициенты корреляции* между холодоустойчивостью, активностью СОД и содержанием транскриптов ее генов у проростков пшеницы, подвергнутых действию температуры 4 °С

Показатель и его порядковый номер	1	2	3	4
1. Холодоустойчивость	1	0,88	0,85	0,75
2. Активность СОД		1	0,89	0,88
3. Экспрессия <i>FeSOD</i>			1	0,84
4. Экспрессия <i>MnSOD</i>				1

Примечание. *Все представленные в таблице коэффициенты корреляции достоверны при $p < 0,05$.

FeSOD, – через одни сутки от начала действия температуры 4 °С. Дальнейшее повышение уровня относительной экспрессии гена *MnSOD* происходило в течение 5–7 суток эксперимента. Отметим, что в течение всего периода холодового воздействия содержание транскриптов гена *MnSOD* в листьях было существенно ниже,

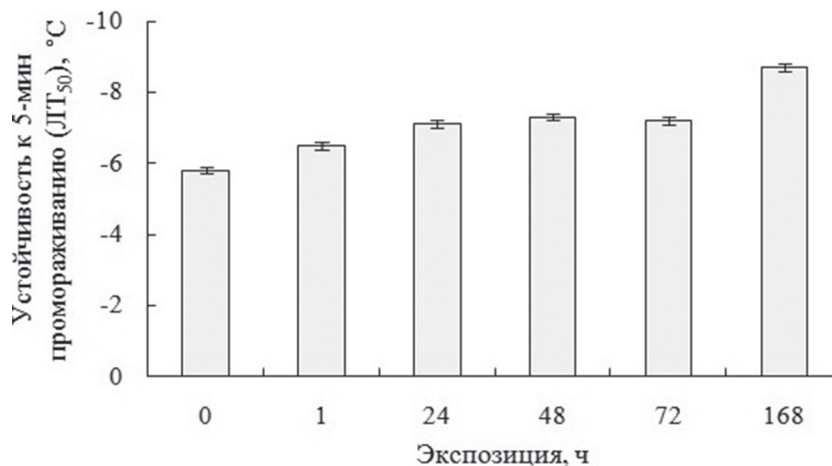


Рис. 1. Влияние температуры 4 °С на холодоустойчивость проростков пшеницы

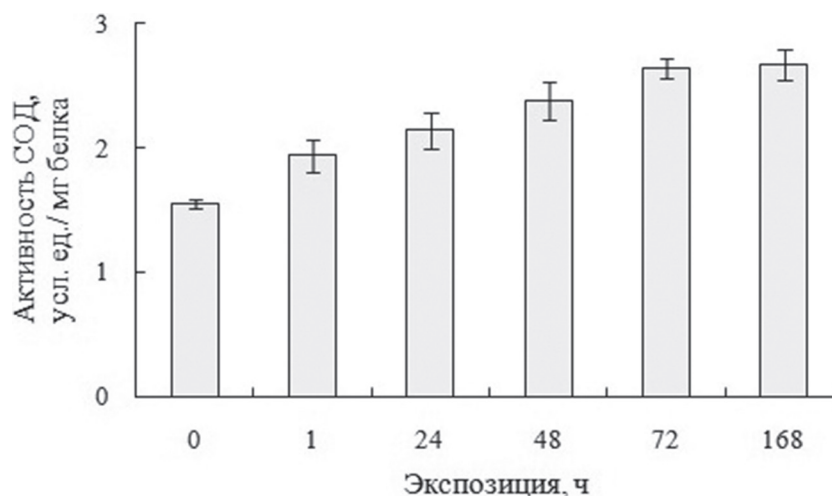


Рис. 2. Влияние температуры 4 °С на активность СОД в листьях проростков пшеницы

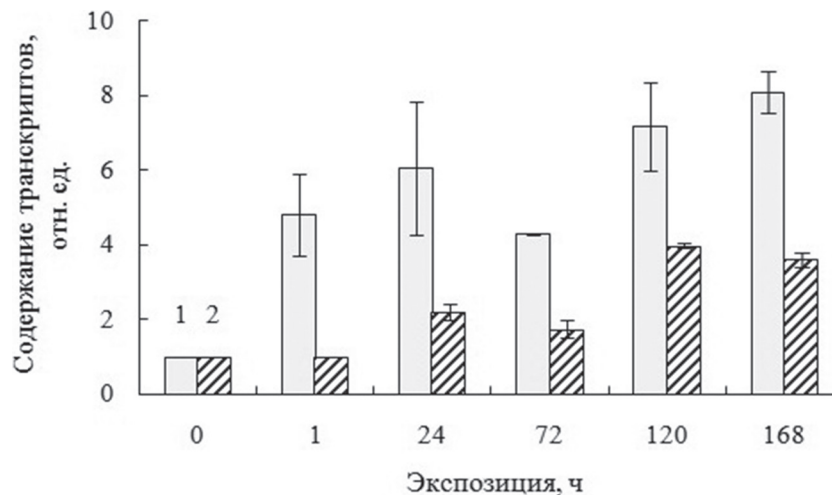


Рис. 3. Влияние температуры 4°C на содержание транскриптов генов *FeSOD* (1) и *MnSOD* (2) в листьях проростков пшеницы

чем мРНК гена *FeSOD* (рис. 3). Коэффициенты корреляции между содержанием транскриптов генов *FeSOD* и *MnSOD* в листьях и активностью СОД, а также холодоустойчивостью проростков были довольно высокими (табл. 2).

Обсуждение

Известно, что в защите клеток растений от АФК важную роль играют антиоксидантные ферменты [Pal et al., 2013]. Причем «первую линию защиты» обеспечивает фермент СОД, так как в отличие от других антиоксидантных ферментов именно он способен преобразовывать супероксид-радикалы с образованием молекулярного кислорода и перекиси водорода [Perry et al., 2010; Zeinali et al., 2015].

В наших исследованиях показано, что воздействие низкой закалывающей температуры (4 °С) приводит к быстрому повышению активности СОД, которое зафиксировано уже через 1 ч от его начала. В дальнейшем на протяжении всего периода холодовой адаптации проростков активность СОД сохранялась на повышенном уровне, а между активностью СОД и уровнем холодоустойчивости выявлена высокая положительная корреляция ($r = +0,88$). Это указывает на участие СОД в процессах формирования повышенной устойчивости растений пшеницы к низким температурам.

Полученные нами данные об изменении активности СОД в целом согласуются с результатами других авторов. В частности, повышение активности СОД при гипотермии отмечено не только у пшеницы [Li et al., 2014], но и у огурца [Yang et al., 2011], картофеля [Нарайкина и др., 2014] и нута [Kazemi-Shahandashti, 2014]. Однако не всегда воздействие низких температур

вызывало однотипные изменения активности СОД. По-видимому, снижение или повышение активности СОД связано с интенсивностью и продолжительностью низкотемпературного воздействия, а также с разной реакцией теплолюбивых и холодостойких растений на действие холода. Например, у теплолюбивых растений, в частности у огурца, зафиксировано снижение активности СОД при кратковременном действии температуры 2,5 °С [Kang, Saltvelt, 2001]. У холодостойкого арабидопсиса активность СОД немного повышалась на третьи сутки действия температуры 2 °С, но затем снижалась [Синькевич и др., 2016]. У озимой пшеницы сорта Московская 39 активность СОД заметно уменьшалась при кратковременном действии (2–6 ч) температуры –9 °С [Загоскина и др., 2011]. Поскольку авторы последней работы не приводят данных об изменении устойчивости растений, то нельзя исключить, что в этом случае происходило их повреждение, как это было показано нами ранее при действии более 5 ч температуры –2 °С [Топчиева и др., 2015].

Очевидно, что в начальный период действия низкой температуры у пшеницы происходит повышение активности уже существующих в клетках молекул фермента СОД. Это соответствует представлениям о так называемой «модуляционной» стратегии биохимической адаптации, которая связана с регуляцией ферментативной активности, не зависящей от синтеза фермента *de novo*, и которая в первую очередь определяется наличием субстрата и кофакторов, а также их взаимодействием с модуляторами (метаболитами) [Хочачка, Сомеро, 1977]. В наших опытах при холодовом воздействии быстрое повышение активности СОД, очевидно,

являлось непосредственным ответом на усиление продукции супероксид-радикала, которое зафиксировано нами ранее у растений пшеницы в аналогичных условиях уже через 0,5–1 ч от его начала [Фенько и др., 2015].

С другой стороны, продолжающееся воздействие холода, по-видимому, достаточно быстро приводит к ситуации, когда имеющийся в норме пул молекул фермента оказывается израсходованным и требуется его восполнение за счет усиления его синтеза. В пользу этого говорит обнаруженная нами высокая корреляция между активностью СОД и уровнем экспрессии кодирующих ее генов (*FeSOD* и *MnSOD*). Неслучайно наибольшее содержание транскриптов этих генов отмечено на 7-е сутки, когда зафиксированы максимальная активность СОД и максимальная холодоустойчивость и одновременно с этим происходит снижение содержания супероксид-радикала [Фенько и др., 2015].

В нашей работе показано, что уровень содержания транскриптов гена *FeSOD* был большим, чем *MnSOD*. Возможно, вклад кодируемых этими генами изоформ фермента в общую активность СОД неодинаков. Учитывая, что Fe-SOD преимущественно локализован в хлоропластах, большее накопление транскриптов *FeSOD* может быть связано с необходимостью активизации данного изофермента для обеспечения защиты хлоропластов и одного из важнейших и наиболее холодоустойчивых процессов – фотосинтеза. Однако для подтверждения этого предположения необходимы дальнейшие исследования, в частности изучение динамики активности конкретных изоформ СОД.

Заключение

Исследование влияния низкой закаливающей температуры (4 °С) на проростки озимой пшеницы показало, что рост их холодоустойчивости сопровождается повышением активности СОД и накоплением мРНК генов *FeSOD* и *MnSOD* в листьях, свидетельствующими об активном участии данного фермента и кодирующих его генов в процессе холодовой адаптации. Учитывая, что динамика накопления транскриптов этих генов имела сходный характер, но их содержание различалось количественно, можно предполагать, что разные изоформы СОД вносят неодинаковый вклад в общую активность фермента. Совокупность полученных данных и анализ литературы позволяет заключить, что активизация СОД является одним из важных элементов успешной адаптации растений пшеницы к действию холода, так как

обеспечивает своевременную нейтрализацию супероксид-радикала и тем самым способствует повышению холодоустойчивости растений.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0032).

Литература

Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1982. 6 с.

Бараненко В. В. Супероксиддисмутазы в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48, № 6. С. 465–474.

Загоскина Н. В., Олениченко Н. А., Назаренко Л. В. Влияние кратковременного действия гипотермии на активность антиоксидантных ферментов и содержание фенольных соединений в листьях проростков яровой и озимой пшеницы // Вест. Харьк. нац. аграр. универ. 2011. Вып. 3, № 24. С. 25–34.

Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.

Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. Киев: Основа, 2010. 352 с.

Нарайкина Н. В., Синькевич М. С., Демин И. Н., Селиванов А. А., Мошков И. Е., Трунова Т. И. Изменения активности изоформ супероксиддисмутазы у растений картофеля дикого типа и трансформированных геном $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы при низкотемпературной адаптации // Физиология растений. 2014. Т. 61, № 3. С. 359–366. doi: 10.7868/S0015330314030099

Синькевич М. С., Селиванов А. А., Антипина О. В., Кропочева Е. В., Алиева Г. П., Суворова Т. А., Астахова Н. В., Мошков И. Е. Активность антиоксидантных ферментов у растений *Arabidopsis thaliana* при закаливании к гипотермии // Физиология растений. 2016. Т. 63, № 6. С. 777–782. doi: 10.7868/S0015330316060105

Топчиева Л. В., Таланова В. В., Титов А. Ф., Нилова И. А., Репкина Н. С., Венжик Ю. В. Влияние низких и высоких закаливающих и повреждающих температур на уровень транскриптов гена *BI-1* у пшеницы // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 12. С. 45–54. doi: 10.17076/eb236

Фенько А. А., Репкина Н. С., Нилова И. А., Таланова В. В. Влияние низких температур на содержание низкомолекулярных антиоксидантов у различающихся по холодоустойчивости растений // Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий: тезисы докладов всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых VIII съезда Общества физиологов растений России (Петрозаводск, 21–26 сент. 2015 г.). Петрозаводск, 2015. 554 с.

Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977. 400 с.

- Airaki M., Leterrier M., Mateos R. M., Valderama R., Chaki M., Barroso J. B., Del Río L. A., Palma J. M., Corpas F. J. Metabolism of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in pepper (*Cap-sicum annuum* L.) plants under low temperature stress // *Plant Cell Environ.* 2012. Vol. 35. P. 281–295. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02310.x
- Asthir B., Koundal A., Bains N. S. Putrescine modulates antioxidant defense response in wheat under high temperature stress // *Biol. Plant.* 2012. Vol. 56. P. 757–761. doi: 10.1007/s10535-012-0209-1
- Baek K.-H., Skinner D. Z. Differential expression of manganese superoxide dismutase sequence variants in near isogenic lines of wheat during cold acclimation // *Plant Cell Rep.* 2006. Vol. 25. P. 223–230. doi: 10.1007/s00299-005-0073-6
- Baxter A., Mittler R., Suzuki N. ROS as key players in plant stress signalling // *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 1229–1240. doi: 10.1093/jxb/ert375
- Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // *Anal. Biochem.* 1971. Vol. 44. P. 276–287. doi: 10.1016/0003-2697(71)90370-8
- Bowler C., Van Camp W., Van Montagu M., Inze D. Superoxide dismutase in plants // *Critical Rev. Plant Sci.* 1994. Vol. 13. P. 199–218.
- Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254.
- Chen W.-L., Yang W.-J., Lo H.-F., Yeh D.-M. Physiology, anatomy, and cell membrane thermostability selection of leafy radish (*Raphanus sativus* var. *oleiformis* Pers.) with different tolerance under heat stress // *Sci-ent. Hortic.* 2014. Vol. 179. P. 367–375. doi: 10.1016/j.scienta.2014.10.003
- Dandan L., Dongmei Z., Peng W., Nanyan W., Xiangdong Z. Subcellular Cd distribution and its correlation with antioxidant enzymatic activities in wheat (*Triticum aestivum*) roots // *Ecotoxic. Environ. Safety.* 2011. Vol. 74. P. 874–881. doi: 10.1016/j.ecoenv.2010.12.006
- Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology // *En-viron. Exp. Bot.* 2015. Vol. 109. P. 212–228. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.021
- Gao J.-J., Li T., Yu X.-C. Gene expression and activities of SOD in cucumber seedlings were related with concentrations of Mn²⁺, Cu²⁺, or Zn²⁺ under low temperature stress // *Agric. Sci. China.* 2009. Vol. 8. P. 678–684.
- Goswami S., Das S. Copper phytoremediation potential of *Calandula officinalis* L. and the role of antioxidant enzymes in metal tolerance // *Ecotoxic. Environ. Safety.* 2016. Vol. 126. P. 211–218. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.12.030
- Inostroza-Blancheteau C., Acevedo P., Loyola R., Arce-Johnson P., Alberdi M., Reyes-Díaz M. Short-term UV-B radiation affects photosynthetic performance and antioxidant gene expression in highbush blueberry leaves // *Plant Physiol. Biochem.* 2016. Vol. 107. P. 301–309. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.06.019
- Kang H.-M., Saltveit M. E. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedlings radicles // *Physiol. Plant.* 2001. Vol. 113. P. 548–556.
- Kazemi-Shahandashti S.-S., Maali-Amiri R., Zehinali H., Khazaei M., Talei A., Ramezanpour S. Effect of short-term cold stress on oxidative damage and transcript accumulation of defense-related genes in chickpea seedlings // *J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 171. P. 1106–1116. doi: 10.1016/j.plph.2014.03.020
- Lado J., Rodrigo M. J., López-Climment M., Gómez-Cadenas A., Zacarías L. Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit // *Posthar. Biol. Technol.* 2016. Vol. 111. P. 214–223. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.09.013
- Li X., Cai J., Liu F., Dai T., Cao W., Jiang D. Cold priming drives the sub-cellular antioxidant systems to protect photosynthetic electron transport against subsequent low temperature stress in winter wheat // *Plant Physiol. Biochem.* 2014. Vol. 82. P. 34–43. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.05.005
- Mandhanía S., Madan S., Sawhney V. Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings // *Biol. Plant.* 2006. Vol. 50. P. 227–231.
- Oufdou K., Benidire L., Lyubenova L., Daoui K., Fatemi Z. E. A., Schröder K. Enzymes of glutathione-ascorbate cycle in leaves and roots of rhizobia-inoculated faba bean plants (*Vicia faba* L.) under salinity stress // *Europ. J. Soil Biol.* 2014. Vol. 60. P. 98–103. doi: 10.1016/j.ejsobi.2013.11.002
- Pal R. S., Agrawal P., Bhatt J. C. Molecular approach towards the understanding of defensive systems against oxidative stress on plant: A critical review // *J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2013. Vol. 22. P. 131–138.
- Perry J. J. P., Shin D. S., Getzoff E. D., Tainer J. A. The structural biochemistry of the superoxide dismutases // *Biochem. Biophys. Acta.* 2010. Vol. 1804. P. 245–262. doi: 10.1016/j.bbapap.2009.11.004
- Sánchez-Rodríguez E., Romero L., Ruiz J. M. Accumulation of free polyamines enhances the antioxidant response in fruits of grafted tomato plants under water stress // *J. Plant Physiol.* 2016. Vol. 190. P. 72–78. doi: 10.1016/j.plph.2015.10.010
- Scandalios J. G. Genomic responses to environmental stress. Ed. J. G. Scandalios. The United Kingdom. Academic Press Inc, 1990. P. 1–297.
- Szöllősi R. Superoxide Dismutase (SOD) and abiotic stress tolerance in plants: an overview. Ed. P. Ahmad. The Netherlands. Springer, 2014. P. 89–129. doi: 10.1016/B978-0-12-799963-0.00003-4
- Tang K., Zhan J.-C., Yang H.-R., Huang W.-D. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defense response in peanut seedlings // *J. Plant Physiol.* 2010. Vol. 167. P. 95–102. doi: 10.1016/j.jplph.2009.07.011
- Yan H., Li Q., Park S.-C., Wang X., Liu Y.-J., Zhang Y.-G., Tang W., Kou M., Ma D. Overexpression of *CuZnSOD* and *APX* enhance salt stress tolerance in sweet potato // *Plant Physiol. Biochem.* 2016. Vol. 109. P. 20–27. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.09.003
- Yang H., Wu F., Cheng J. Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and antioxidant response // *Food Chem.* 2011. Vol. 127. P. 1237–1242.

Zeinali F., Homaei A., Kamrani E. Sources of marine superoxide dismutases: Characteristics and applications // Intern. J. Biol. Macromol. 2015. Vol. 79. P. 627–637. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.05.053

Zhang M., Duan L., Tian X., He Z., Li J., Wang B., Li Z. Uniconazole-induced tolerance of soybean to

water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system // J. Plant. Physiol. 2007. Vol. 164. P. 709–717. doi: 10.1016/j.jplph.2006.04.008

Поступила в редакцию 23.01.2017

References

Balagurova N. I., Drozdov S. N., Hilkov N. I. Metod opredelenija ustojchivosti rastitel'nyh tkanej k promorazhivaniju [Method for determination of plant tissues resistance to freezing]. Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR, 1982. 6 p.

Baranenko V. V. Superoksid-dismutaza v kletkah rastenij [Superoxide dismutase in plants cells]. *Citologija* [Cell and Tissue Biology]. 2006. Vol. 48, no. 6. P. 465–474.

Fen'ko A. A., Repkina N. S., Nilova I. A., Talanova V. V. Vlijanie nizkikh temperatur na sodержanie nizkomolekuljarnyh antioksidantov u razlichajushchih po holodoustojchivosti rastenij [Low temperature impact on low-molecular antioxidants content in plants of different cold tolerance]. Rastenija v uslovijah global'nyh i lokal'nyh prirodno-klimaticeskikh i antropogennyh vozdeystvij: tezisy dokladov vserossijskoj nauchnoj konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem i shkoly molodykh uchenykh VIII siezda Obshchestva fiziologov rastenij Rossii (Petrozavodsk, 21–26 sent. 2015 g.) [Plants under Global and Local Natural and Climatic, and Human Impact: Abstracts of All-Russian Scientific Conf. with Int. Participation and School of Young Scientists. VIII Congress of Physiologists of Russia (Petrozavodsk, September 21–26, 2015)]. Petrozavodsk, 2015. 554 p.

Hochachka P., Somero Dzh. Strategija biokhimičeskoj adaptatsii [Strategy of biochemical adaptation]. Moscow: Mir, 1977. 400 p.

Kolupaev Ju. E., Karpec Ju. V. Formirovanie adaptivnyh reaktsij rastenij na dejstvie abiotičeskikh stressorov [Formation of plants adaptive reactions to abiotic stress factors]. Kiev: Osnova, 2010. 352 p.

Narajkina N. V., Sin'kevich M. S., Demin I. N., Selivanov A. A., Moshkov I. E., Trunova T. I. Izmene-nija aktivnosti izoform superoksid-dismutazy u rastenij kartofelja dikogo tipa i transformirovannykh genom $\Delta 12$ -acil-lipidnoj desaturazy pri nizkotemperaturnoj adaptatsii [Changes in the activity of superoxide dismutase isoforms in wild-type potato plants and the ones transformed with $\Delta 12$ -acyl-lipid desaturase gene in the course of low-temperature adaptation]. *Fiziologija rastenij* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2014. Vol. 61, no. 3. P. 359–366. doi: 10.7868/S0015330314030099

Sin'kevich M. S., Selivanov A. A., Antipina O. V., Kropocheva E. V., Alieva G. P., Suvorova T. A., Astahova N. V., Moshkov I. E. Aktivnost' antioksidantnykh fermentov u rastenij *Arabidopsis thaliana* pri zakalivanii k gipotermii [Activity of antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana* plants during cold hardening to hypothermia]. *Fiziologija rastenij* [Russian Journal of Plant Physiology]. 2016. Vol. 63, no. 6. P. 777–782. doi: 10.7868/S0015330316060105

Topchieva L. V., Talanova V. V., Titov A. F., Nilova I. A., Repkina N. S., Venzhik Ju. V. Vlijanie nizkikh i vysokikh zakalivajushchikh i povrezhdajushchikh temperatur na uroven' transkriptov gena *BI-1* u pshenitsy [Effect of low and high hardening and damaging temperatures on the transcription level of *BI-1* gene in the wheat]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. of KarRC of RAS]. 2015. No. 12. P. 45–54. doi: 10.17076/eb236

Zagoskina N. V., Olenichenko N. A., Nazarenko L. V. Vlijanie kratkovremennogo dejstvija gipotermii na aktivnost' antioksidantnykh fermentov i sodержanie fenol'nykh soedinenij v list'jakh prorostkov jarovoj i ozimoj pshenitsy [Impact of short-term hypothermia on antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in the leaves of spring and winter wheat germs]. *Vest. Har'k. nats. agrar. univer* [Bull. of the Kharkiv Nat. Agr. Univ.]. 2011. Iss. 3, no. 24. P. 25–34.

Zajcev G. N. Matematičeskaja statistika v jeksperimental'noj botanike [Mathematical statistics in experimental botany]. Moscow: Nauka, 1984. 424 p.

Airaki M., Leterrier M., Mateos R. M., Valderama R., Chaki M., Barroso J. B., Del Río L. A., Palma J. M., Corpas F. J. Metabolism of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under low temperature stress. *Plant Cell Environ.* 2012. Vol. 35. P. 281–295. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02310.x

Asthir B., Koundal A., Bains N. S. Putrescine modulates antioxidant defense response in wheat under high temperature stress. *Biol. Plant.* 2012. Vol. 56. P. 757–761. doi: 10.1007/s10535-012-0209-1

Baek K.-H., Skinner D. Z. Differential expression of manganese superoxide dismutase sequence variants in near isogenic lines of wheat during cold acclimation. *Plant Cell Rep.* 2006. Vol. 25. P. 223–230. doi: 10.1007/s00299-005-0073-6

Baxter A., Mittler R., Suzuki N. ROS as key players in plant stress signaling. *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 1229–1240. doi: 10.1093/jxb/ert375

Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 1971. Vol. 44. P. 276–287. doi: 10.1016/0003-2697(71)90370-8

Bowler C., Van Camp W., Van Montagu M., Inze D. Superoxide dismutase in plants. *Critical Rev. Plant Sci.* 1994. Vol. 13. P. 199–218.

Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254.

- Chen W.-L., Yang W.-J., Lo H.-F., Yeh D.-M. Physiology, anatomy, and cell membrane thermostability selection of leafy radish (*Raphanus sativus* var. *oleiformis* Pers.) with different tolerance under heat stress. *Scient. Hortic.* 2014. Vol. 179. P. 367–375. doi: 10.1016/j.scienta.2014.10.003
- Dandan L., Dongmei Z., Peng W., Nanyan W., Xiangdong Z. Subcellular Cd distribution and its correlation with antioxidant enzymatic activities in wheat (*Triticum aestivum*) roots. *Ecotoxic. Environ. Safety.* 2011. Vol. 74. P. 874–881. doi: 10.1016/j.ecoenv.2010.12.006
- Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environ. Exp. Bot.* 2015. Vol. 109. P. 212–228. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.021
- Gao J.-J., Li T., Yu X.-C. Gene expression and activities of SOD in cucumber seedlings were related with concentrations of Mn²⁺, Cu²⁺, or Zn²⁺ under low temperature stress. *Agric. Sci. China.* 2009. Vol. 8. P. 678–684.
- Goswami S., Das S. Copper phytoremediation potential of *Calandula officinalis* L. and the role of antioxidant enzymes in metal tolerance. *Ecotoxic. Environ. Safety.* 2016. Vol. 126. P. 211–218. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.12.030
- Inostroza-Blancheteau C., Acevedo P., Loyola R., Arce-Johnson P., Alberdi M., Reyes-Díaz M. Short-term UV-B radiation affects photosynthetic performance and antioxidant gene expression in highbush blueberry leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 2016. Vol. 107. P. 301–309. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.06.019
- Kang H.-M., Saltveit M. E. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedlings radicles. *Physiol. Plant.* 2001. Vol. 113. P. 548–556.
- Kazemi-Shahandashti S.-S., Maali-Amiri R., Zeinali H., Khazaei M., Talei A., Ramezanzpour S. Effect of short-term cold stress on oxidative damage and transcript accumulation of defense-related genes in chickpea seedlings. *J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 171. P. 1106–1116. doi: 10.1016/j.plph.2014.03.020
- Lado J., Rodrigo M. J., López-Climent M., Gómez-Cadenas A., Zacarías L. Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit. *Posthar. Biol. Technol.* 2016. Vol. 111. P. 214–223. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.09.013
- Li X., Cai J., Liu F., Dai T., Cao W., Jiang D. Cold priming drives the sub-cellular antioxidant systems to protect photosynthetic electron transport against subsequent low temperature stress in winter wheat. *Plant Physiol. Biochem.* 2014. Vol. 82. P. 34–43. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.05.005
- Mandhanian S., Madan S., Sawhney V. Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings. *Biol. Plant.* 2006. Vol. 50. P. 227–231.
- Oufdou K., Benidire L., Lyubenova L., Daoui K., Fatemi Z. E. A., Schröder K. Enzymes of glutathione-ascorbate cycle in leaves and roots of rhizobia-inoculated faba bean plants (*Vicia faba* L.) under salinity stress. *Europ. J. Soil Biol.* 2014. Vol. 60. P. 98–103. doi: 10.1016/j.ejsobi.2013.11.002
- Pal R. S., Agrawal P., Bhatt J. C. Molecular approach towards the understanding of defensive systems against oxidative stress on plant: A critical review. *J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2013. Vol. 22. P. 131–138.
- Perry J. J. P., Shin D. S., Getzoff E. D., Tainer J. A. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochem. Biophys. Acta.* 2010. Vol. 1804. P. 245–262. doi: 10.1016/j.bbapap.2009.11.004
- Sánchez-Rodríguez E., Romero L., Ruiz J. M. Accumulation of free polyamines enhances the antioxidant response in fruits of grafted tomato plants under water stress. *J. Plant Physiol.* 2016. Vol. 190. P. 72–78. doi: 10.1016/j.plph.2015.10.010
- Scandalios J. G. Genomic responses to environmental stress. Ed. J. G. Scandalios. The United Kingdom. Academic Press Inc, 1990. P. 1–297.
- Szöllősi R. Superoxide Dismutase (SOD) and abiotic stress tolerance in plants: an overview. Ed. P. Ahmad. The Netherlands. Springer, 2014. P. 89–129. doi: 10.1016/B978-0-12-799963-0.00003-4
- Tang K., Zhan J.-C., Yang H.-R., Huang W.-D. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defense response in peanut seedlings. *J. Plant Physiol.* 2010. Vol. 167. P. 95–102. doi: 10.1016/j.jplph.2009.07.011
- Yan H., Li Q., Park S.-C., Wang X., Liu Y.-J., Zhang Y.-G., Tang W., Kou M., Ma D. Overexpression of CuZnSOD and APX enhance salt stress tolerance in sweet potato. *Plant Physiol. Biochem.* 2016. Vol. 109. P. 20–27. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.09.003
- Yang H., Wu F., Cheng J. Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and antioxidant response. *Food Chem.* 2011. Vol. 127. P. 1237–1242.
- Zeinali F., Homaei A., Kamrani E. Sources of marine superoxide dismutases: Characteristics and applications. *Intern. J. Biol. Macromol.* 2015. Vol. 79. P. 627–637. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.05.053
- Zhang M., Duan L., Tian X., He Z., Li J., Wang B., Li Z. Uniconazole-induced tolerance of soybean to water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system. *J. Plant. Physiol.* 2007. Vol. 164. P. 709–717. doi: 10.1016/j.jplph.2006.04.008

Received January 23, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Репкина Наталья Сергеевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nrt9@ya.ru
тел.: (8142) 762712

Игнатенко Анна Анатольевна

стажер-исследователь
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: angelina911@ya.ru
тел.: (8142) 762712

Панфилова Кристина Михайловна

студентка
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: pankris@mail.ru

Титов Александр Федорович

главный научный сотрудник отдела комплексных
научных исследований КарНЦ РАН, руководитель лаб.
экологической физиологии растений, чл.-корр. РАН,
д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: titov@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769710

Таланова Вера Викторовна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: talanova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762712

CONTRIBUTORS:

Repkina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nrt9@ya.ru
tel.: (8142) 762712

Ignatenko, Anna

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: angelina911@ya.ru
tel.: (8142) 762712

Panphilova, Kristina

Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: pankris@mail.ru

Titov, Alexander

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: titov@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769710

Talanova, Vera

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: talanova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762712