

*На правах рукописи*



**Игнатенко Анна Анатольевна**

**УЧАСТИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ  
ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И ОГУРЦА  
САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ И МЕТИЛЖАСМОНОТОМ**

**03.01.05 – «Физиология и биохимия растений»**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург  
2019

Работа выполнена в Институте биологии – обособленном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук»

Научный руководитель: доктор биологических наук  
**Таланова Вера Викторовна**

Официальные оппоненты: **Шакирова Фарид Миннихановна**,  
доктор биологических наук, профессор, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, руководитель лаборатории  
**Лукаткин Александр Степанович**,  
доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева», заведующий кафедрой

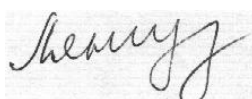
Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук

Защита состоится «22» мая 2019 г. в 14.00 на заседании диссертационного совета Д 002.211.02 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Ботаническом институте им. В. Л. Комарова Российской академии наук по адресу: 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2. Тел.: (812) 372-54-42, факс: (812) 372-54-43, dissovet.d00221102@binran.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В. Л. Комарова Российской академии наук ([www.binran.ru](http://www.binran.ru)).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук



Лянгузова Ирина Владимировна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** В течение жизни растения постоянно или периодически подвергаются действию неблагоприятных факторов окружающей среды, одним из которых является низкая температура (Лархер, 1978; Туманов, 1979; Levitt, 1980; Дроздов и др., 1984; Коровин, 1984; Xin, Browse, 2000; Трунова, 2007; Theocharis, 2012). Как показывают многочисленные исследования, растения обладают комплексом защитных механизмов, помогающих им приспособливаться к действию низких температур (Туманов, 1979; Kratsch, Wise, 2000; Чиркова, 2002; Титов и др., 2006; Трунова, 2007; Theocharis, 2012; Войников, 2013; Gusta, Wisniewski, 2013). При этом уровень устойчивости и характер ее варьирования в значительной степени определяются видом (сортом) растений, их физиологическим состоянием и сопутствующими условиями, а также интенсивностью и продолжительностью низкотемпературного воздействия (Туманов, 1979; Levitt, 1980; Дроздов и др., 1984; Титов и др., 2006 и др.).

Одной из ответных реакций растений на действие стресс-факторов (в том числе низких температур) является усиление генерации в их клетках активных форм кислорода (АФК) (Лукаткин, 2002; Apel, Hirt, 2004; Foyer, Noctor, 2005; Климов, 2008; Креславский и др., 2012). Для предотвращения их избыточного накопления в клетках функционирует антиоксидантная система (АОС), включающая антиоксидантные ферменты и низкомолекулярные соединения (Mittler, 2002; Gill, Tuteja, 2010; Noctor et al., 2015). Несмотря на то, что интерес к изучению АОС уже многие годы не ослабевает, целый ряд особенностей ее функционирования, в частности, в условиях действия низких температур, остается не до конца исследованным. Также недостаточно полно изучена работа АОС у контрастных по холодоустойчивости видов, хотя существует мнение, что теплолюбивые растения обладают более низкой антиоксидантной активностью по сравнению с холодоустойчивыми (Wise, Naylor, 1987; Лукаткин, 2002; Синькевич и др., 2011).

Не менее важной проблемой является выявление роли фитогормонов в процессе холодовой адаптации растений (Титов, Таланова, 2009) и, в частности, салициловой (СК) и жасмоновой (ЖК) кислот. Их участию в ответных реакциях растений на действие стресс-факторов биотической и абиотической природы посвящено довольно большое количество работ (Шакирова, 2001; Vlot et al., 2009; Максимов и др., 2011; Miura, Tada, 2014; Dar et al., 2015; Sharma, Laxmi, 2016; Wasternack, Strnad, 2016; Яруллина и др., 2018; Per et al., 2018 и др.). В то же время, вклад СК, ЖК и их производных в низкотемпературную адаптацию растений не вполне ясен. В последние годы получены данные о том, что защитное действие СК и ЖК на растения при низких температурах связано с их способностью регулировать работу АОС. Однако эти сведения немногочисленны и зачастую неодно-

значны, поскольку указывают как на стимулирующее (Li et al., 2012; Dong et al., 2014), так и ингибирующее (Asghari, Hasanlooe, 2015; Huang et al., 2016) действие фитогормонов на работу АОС.

**Цель** работы заключалась в исследовании участия антиоксидантной системы в регуляции салициловой кислотой и метилжасмонатом устойчивости растений пшеницы и огурца к низким температурам.

Для достижения намеченной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить влияние низкотемпературных воздействий, различных по интенсивности и продолжительности, на холодоустойчивость и ростовые процессы контрастных по холодоустойчивости растений (пшеница и огурец).

2. Исследовать влияние низких положительных температур на содержание пероксида водорода, уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) и функционирование компонентов антиоксидантной системы (активность антиоксидантных ферментов и содержание пролина) в листьях пшеницы и огурца.

3. Изучить эффекты экзогенных салициловой кислоты (СК) и метилжасмоната (МЖ) на холодоустойчивость и ростовые процессы растений пшеницы и огурца при низкотемпературных воздействиях.

4. Исследовать влияние СК и МЖ на содержание пероксида водорода и уровень ПОЛ в листьях растений пшеницы и огурца в условиях низких положительных температур.

5. Изучить влияние фитогормонов СК и МЖ на функционирование компонентов АОС в листьях пшеницы и огурца при действии низких положительных температур.

**Научная новизна.** В результате проведенного исследования установлено, что активизация работы АОС является общей реакцией растений, контрастных по холодоустойчивости (пшеница и огурец), на длительное (сутки) действие низких положительных закаливающих и кратковременное (часы) действие повреждающей температур. Впервые на примере контрастных по холодоустойчивости растений (пшеница и огурец) показано, что фитогормоны СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) повышают их устойчивость к низким температурам. Обнаружено, что важный вклад в реализацию защитного эффекта СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) при действии низких температур вносит их способность повышать активность супероксиддисмутазы, каталазы и гваякол-зависимой пероксидазы, а также увеличивать содержание пролина в листьях пшеницы и огурца. Получены новые данные о том, что у растений пшеницы и огурца СК и МЖ в низкотемпературных условиях вызывают усиление экспрессии генов, кодирующих антиоксидантные ферменты (*FeSOD*, *MnSOD*, *Cu/ZnSOD* и *CAT*), ферменты синтеза пролина (*WP5CS* и *WP5CR*) и дегидрин (*WCS120*).

**Практическая значимость работы.** Совокупность полученных данных о важной роли АОС в реакции растений на действие низких температур способствует углублению и расширению знаний о механизмах низкотемпературной адаптации. Результаты работы, свидетельствующие об участии фитогормонов СК и МЖ в механизмах адаптации растений к низким температурам, могут быть использованы для повышения их стрессоустойчивости, в частности, при разработке технологий выращивания растений в регионах с неблагоприятными природно-климатическими условиями. Материалы диссертации могут использоваться при чтении курсов лекций для студентов биологических, экологических и сельскохозяйственных специальностей.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Ответная реакция холодостойкого (пшеница) и теплолюбивого (огурец) растений на действие низких положительных температур имеет сходный характер: торможение роста, повышение уровня окислительного стресса и активизация работы АОС. При закаливающих температурах благодаря повышению активности антиоксидантных ферментов и накоплению свободного пролина в листьях пшеницы и огурца происходит снижение уровня окислительного стресса и формирование холодоустойчивости. При длительном воздействии повреждающей температуры на растения огурца активность антиоксидантных ферментов снижается, что приводит к усилению окислительного стресса, и является одной из причин снижения их холодоустойчивости.

2. Установлено, что фитогормоны СК и МЖ играют важную роль в адаптивных реакциях контрастных по холодоустойчивости растений пшеницы и огурца на действие низких температур. Их положительное влияние обусловлено тем, что еще до начала действия низких температур они вызывают активизацию работы АОС: повышают активность антиоксидантных ферментов и экспрессию их генов, уровень пролина и мРНК генов ферментов его синтеза, а также увеличивают содержание транскриптов гена дегидрина. При закаливающих температурах активизация работы АОС, вызываемая СК и МЖ, способствует снижению уровня окислительного стресса и формированию повышенной холодоустойчивости пшеницы и огурца, а при повреждающей температуре – частично нивелирует ее негативное действие на растения огурца.

**Личный вклад автора.** Автор лично участвовал в планировании и проведении экспериментальной работы, в статистической обработке, анализе, обобщении и интерпретации полученных данных, а также в написании статей, опубликованных по результатам работы и представлении результатов на научных конференциях. Диссертация написана автором самостоятельно.

**Связь работы с научными программами.** Исследования проводились с 2014 по 2018 гг. в соответствии с планами НИР Института биологии КарНЦ РАН

по темам «Механизмы адаптации и особенности жизнедеятельности растений в условиях действия низких температур» (№ г.р. 01201358737), «Роль общих и специализированных механизмов в устойчивости растений к действию неблагоприятных температур» (№ г.р. АААА-А17-117022850044-2). Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№14-04-31676\_мол\_a).

**Апробация работы.** Результаты диссертационной работы доложены на Международных и Всероссийских научных конференциях и симпозиумах: «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2015, 2016), «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 2015, 2018), «Plant Growth, Nutrition & Environment Interaction» (Vienna, 2015), «Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий» (Петрозаводск, 2015), III (XI) и IV (XII) Международных ботанических конференциях молодых ученых (Санкт-Петербург, 2015, 2018), «Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений» (Москва, 2015), «Роль науки в решении проблем региона и страны: фундаментальные и прикладные исследования» (Петрозаводск, 2016), 4th International Symposium on Plant Signaling and Behavior (Saint Petersburg, 2016), «Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма» (Санкт-Петербург, 2016), «Ломоносов–2017» (Москва, 2017), «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» (Уфа, 2017), «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты» (Судак, 2017), Young Biologists Science Week-2017 (Петрозаводск, 2017), «Клеточная биология и биотехнология растений» (Минск, 2018), «Ботаника в современном мире» (Махачкала, 2018), SEB's Annual Meeting (Florence, 2018), 43rd FEBS Congress (Prague, 2018), «Регуляция роста, развития и продуктивности растений» (Минск, 2018).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 25 работ, из них 7 статей – в рецензируемых журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, изложения и обсуждения результатов, заключения, выводов, списка использованной литературы и приложения. Список литературы содержит 514 наименований, из них 335 на иностранном языке. Диссертация изложена на 191 странице, содержит 41 рисунок, 16 таблиц и 8 приложений.

**Благодарности.** Автор выражает глубокую сердечную признательность своему научному руководителю, д.б.н. В.В. Талановой за постоянную и неоценимую поддержку, за чуткое внимание и всестороннюю помощь на всех этапах подготовки диссертации. Автор искренне благодарит к.б.н. Н.С. Репкину, к.б.н. Ю.В. Батову, К.М. Никерову, к.б.н. Ю.В. Венжик, И.А. Нилову, к.б.н. Р.В. Игнатенко за

помощь в проведении экспериментов и постоянную поддержку. Теплые слова благодарности руководителю лаборатории экологической физиологии растений чл.-корр. РАН, проф., д.б.н. А.Ф. Титову и всем сотрудникам лаборатории за ценные советы и рекомендации при обсуждении результатов исследования.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы описаны источники образования, локализация и функции активных форм кислорода в клетке. Рассмотрены основные компоненты антиоксидантной системы растений и проанализировано влияние низких температур на их функционирование. Описаны синтез, сигналинг и физиологическая роль фитогормонов салициловой и жасмоновой кислот. Рассмотрено их участие в защитных реакциях растений на действие неблагоприятных факторов биотической и абиотической природы.

### ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследований. В качестве объектов исследований использовали растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39 и огурца (*Cucumis sativus* L.) гибрида F1 Зозуля.

Выращивание растений проводили в течение 7 сут на модифицированном питательном растворе Кнопа (рН 6.2–6.4) в климатической камере при постоянных условиях среды: температуре воздуха 22°C, его относительной влажности 60–70%, освещенности ФАР 180 мкмоль/м<sup>2</sup>·с и фотопериоде 14 ч.

Действие низких температур на растения осуществляли в климатической камере, сохраняя прочие условия неизменными. Растения пшеницы подвергали действию закаливающей температуры 4°C в течение 7 сут, а огурца – действию закаливающей (12°C) и повреждающей (4°C) температур в течение 3 сут.

Обработку растений фитогормонами проводили, помещая их на растворы СК (“Sigma-Aldrich”, США) и МЖ (“Sigma-Aldrich”, США), и через 1 сут подвергали действию низких температур, сохраняя прочие условия неизменными. Контролем служили необработанные фитогормонами растения.

Измерение ростовых показателей проводили общепринятыми методами.

Устойчивость растений пшеницы к низкой температуре оценивали по реакции клеток листовых высевок на 5-минутное тестирующее промораживание в микрохолодильнике ТЖР-02/-20 (“Интерм”, Россия) при последовательном изменении температуры с интервалом 0.4°C (Балагурова и др., 1982). Жизнеспособность клеток оценивали по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы. Критерием устойчивости служила температура гибели 50% паренхимных клеток

(ЛТ<sub>50</sub>). Анализ холодоустойчивости и других показателей проводили на первом листе проростков пшеницы и семядольных листьях огурца.

Проницаемость мембран клеток листьев огурца при действии низких температур определяли по выходу электролитов из высечек листьев (Грищенко, Лукаткин, 2005) с использованием кондуктометра (“HANNA”, Италия).

Содержание пероксида водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) оценивали по окислению пероксидом водорода ионов железа Fe<sup>+2</sup> до Fe<sup>+3</sup>, образующих соединения с ксиленоловым оранжевым (Bellincampi et al., 2000).

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) (Stewart, Bewley, 1980).

Общую активность супероксиддисмутазы определяли по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия (Beauchamp, Fridovich, 1971). Активность каталазы определяли по ферментативному разложению H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Aebi, 1984). Активность гваякол-зависимой пероксидазы оценивали, используя в качестве субстрата гваякол (Maehly, Chance, 1954).

Общее содержание белка анализировали методом Бредфорда, используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин (Bradford, 1976).

Содержание свободного пролина определяли согласно методу Бейтса с соавт. (Bates et al., 1973).

Накопление транскриптов генов (*FeSOD*, *MnSOD*, *Cu/ZnSOD*, *CAT*, *P5CS*, *P5CR* и *WCS120*) анализировали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Тотальную РНК выделяли с помощью набора ExtractRNA (“Синтол”, Россия). кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции с M-MLV обратной транскриптазой и случайными (random) гексапраймерами (“Евроген”, Россия). Количество и качество выделенной РНК и синтезированной кДНК проверяли спектрофотометрически (SmartSpec Plus, “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).

Повторности и статистическая обработка результатов. Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта была 3–6-кратная (в зависимости от анализируемого показателя), при анализе ростовых показателей (сырая и сухая биомасса, линейные параметры) – 10–40-кратная. Аналитическая повторность – 3-кратная. Каждый опыт повторяли не менее 3 раз.

Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами с использованием программ Microsoft Excel и Statgraphics. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилки. При нормальном распределении статистическую значимость различий между средними оценивали на основании t-критерия Стьюдента или НСР<sub>05</sub> (наименьшая существенная разница).



Если распределение отличалось от нормального использовали непараметрические критерии Вилкоксона-Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса. На рисунках и в таблицах представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. В работе обсуждаются величины, статистически значимые при  $p \leq 0,05$ .

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр РАН».

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### Реакция растений пшеницы и огурца на низкотемпературные воздействия разной интенсивности и продолжительности

**Холодоустойчивость.** Известно, что устойчивость растений к низким температурам может варьировать в широких пределах в зависимости от вида растений, их возраста, условий окружающей среды, а также от интенсивности и продолжительности низкотемпературного воздействия (Туманов, 1979; Удовенко, 1979; Дроздов, Курец, 2003; Титов и др., 2006; Трунова, 2007). Проведенное нами исследование холодоустойчивости растений пшеницы показало, что она повышается уже через 1 ч от начала действия низкой температуры 4°C и достигает максимальных значений на 7 сут (рис. 1, а).

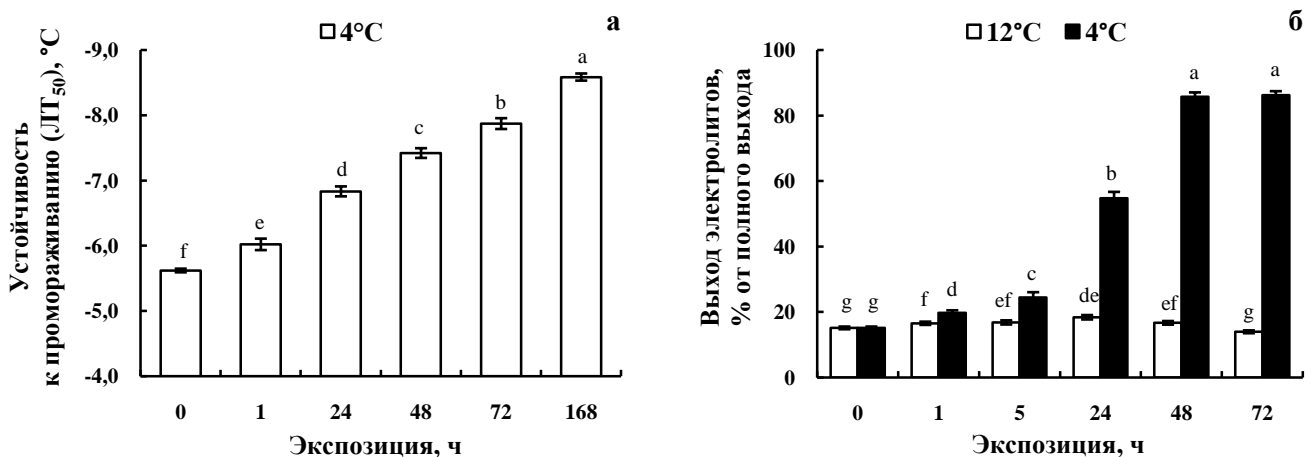


Рис. 1. Влияние низких температур на холодоустойчивость пшеницы (а) и огурца (б). *Примечание: здесь и далее разными латинскими буквами отмечены статистически значимые различия между средними значениями при  $p \leq 0,05$ .*

В отличие от морозостойких и холодостойких растений, адаптивные возможности теплолюбивых видов, к которым относятся растения тропического и субтропического происхождения, крайне ограничены и большинство из них повреждаются уже при температурах ниже 8–10°C (Кислюк, 1964; Коровин, 1984; Лукаткин, 2002; Титов и др., 2006; Попов и др., 2010). В то же время теплолюби-

вые виды способны адаптироваться к определенному диапазону температур (Титов и др., 2006; Титов, Таланова, 2009).

В наших опытах установлено, что низкая температура 12°C не вызывает существенных изменений проницаемости мембран клеток огурца: некоторое повышение выхода электролитов из семядольных листьев отмечено в течение 24 ч, однако в дальнейшем он снижался до исходных значений (рис. 1, б), что свидетельствует об отсутствии нарушения целостности клеточных мембран и формировании холодоустойчивости. В отличие от этого, при действии температуры 4°C выход электролитов увеличивался в течение всего опыта и на 3 сут был значительно выше, чем при 12°C (рис. 1, б). Это указывает на необратимое повреждение клеточных мембран и снижение устойчивости растений.

**Рост.** Одной из ответных реакций растений на действие низких температур является торможение ростовых процессов (Леопольд, 1968; Шевелуха, 1980; Коровин, 1984; Чиркова, 2002). Проведенные нами исследования показали, что низкие закаливающие температуры (4 и 12°C – для пшеницы и огурца, соответственно) вызывают замедление ростовых процессов, однако их полной остановки не происходит. Напротив, действие повреждающей температуры 4°C на растения огурца приводило к необратимому подавлению ростовых процессов.

**Содержание H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и малонового диальдегида.** Действие низких температур нарушает баланс между образованием и утилизацией АФК в клетках, что приводит к их накоплению и увеличению интенсивности ПОЛ (Климов, 2008; Синькевич и др., 2011; Колупаев и др., 2018). В листьях пшеницы при действии закаливающей температуры 4°C обнаружено повышение уровня H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и МДА (табл. 1). Однако к концу закаливания их содержание в клетках растений снижалось, что указывает на уменьшение уровня окислительного стресса (табл. 1).

Таблица 1. Влияние низких температур на содержание МДА (мкмоль/г сырого веса) в листьях пшеницы и огурца

Вариант	Экспозиция, ч					
	0	1	24	48	72	168
<b>Пшеница</b>						
4°C	11,5±0,2	13,7±0,7*	15,9±0,7*	18,4±0,7*	15,2±0,6*	15,2±0,5*
<b>Огурец</b>						
12°C	4,4±0,2f	5,3±0,2e	6,1±0,1d	7,2±0,3c	8,1±0,3c	-
4°C	4,4±0,2f	6,0±0,3de	8,0±0,4c	13,2±0,7b	20,9±0,8a	-

*Примечание.* \*Здесь и далее различия с исходным уровнем статистически значимы при  $p \leq 0,05$ .

Действие температуры 12°C на растения огурца также вызывало некоторое увеличение содержания  $H_2O_2$  и МДА (табл. 1). В то же время, длительное действие повреждающей температуры 4°C приводило к значительному повышению уровня  $H_2O_2$  и МДА (табл. 1), что указывает на усиление окислительного стресса в клетках, которое, очевидно, являлось одной из причин повреждения растений.

**Активность антиоксидантных ферментов. Супероксиддисмутаза (СОД)** играет важную роль в защите клеток растений от АФК, поскольку она осуществляет дисмутацию реакционно активного супероксидного анион-радикала до более стабильного пероксида водорода (Mittler, 2002; Blokhina et al., 2003; Gill, Tuteja, 2010). В ходе наших исследований установлено, что низкие закаливающие температуры (4 и 12°C – для пшеницы и огурца, соответственно) вызывают повышение общей активности СОД в листьях пшеницы (рис. 2, а) и огурца (рис. 2, б) в течение всего опыта.

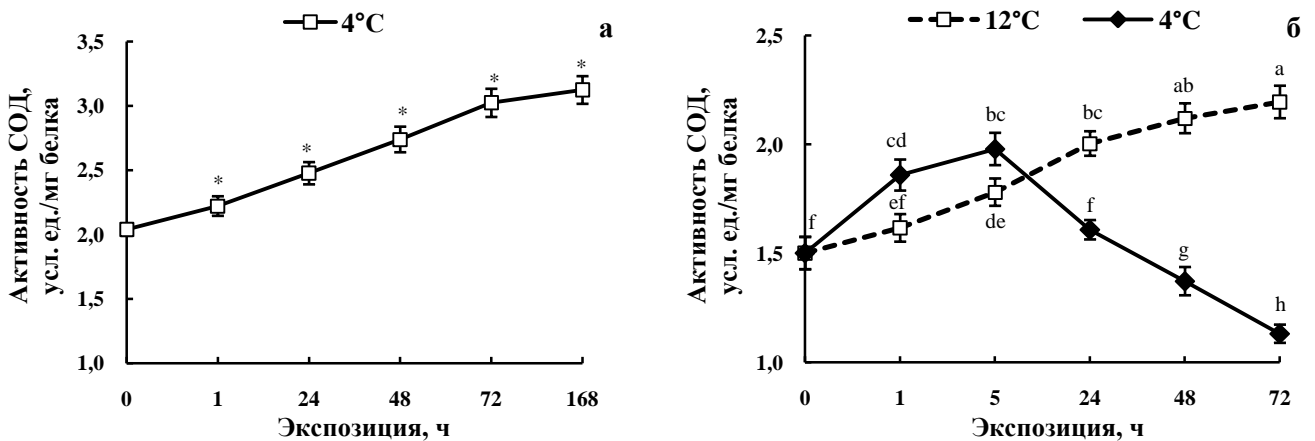


Рис. 2. Влияние низких температур на общую активность СОД в листьях пшеницы (а) и огурца (б).

Наряду с повышением активности СОД в условиях низкотемпературного закаливания в листьях растений происходило повышение содержания транскриптов генов, кодирующих изоформы СОД: *TaFeSOD* и *TaMnSOD* у пшеницы и *CsCu/ZnSOD* и *CsMnSOD* у огурца. При повреждающей температуре 4°C активность СОД в листьях огурца увеличивалась в начальный период ее действия (1–5 ч), однако в дальнейшем (24–72 ч) происходило значительное снижение активности фермента (рис. 2, б). Отметим, что в данных условиях уровень транскриптов гена *CsCu/ZnSOD* не изменялся, а *CsMnSOD* – снижался.

**Каталаза (КАТ)** участвует в утилизации образующегося в клетках пероксида водорода (Мирошниченко, 1992; Scandalios et al., 1997; Apel, Hirt, 2004). В нашей работе выявлено, что низкая температура 4°C вызывает повышение активности КАТ и накопление мРНК гена *TaCAT* в листьях пшеницы. Однако к концу холодового закаливания активность фермента снижалась, что, вероятно, было связано с обнаруженным нами уменьшением содержания  $H_2O_2$ .

В семядольных листьях огурца при действии низких температур (12 и 4°C) также обнаружена активизация КАТ и усиление экспрессии гена *CsCAT*. В то же время при температуре 12°C активность фермента и содержание транскриптов ее гена в течение всего опыта оставались на повышенном (относительно исходного) уровне, тогда как при 4°C уже через 24 ч они начинали снижаться. Отметим, что значительное (в 3 раза) уменьшение активности КАТ к концу воздействия (3 сут), по-видимому, и вызывало описанное выше накопление  $H_2O_2$ .

**Пероксидаза.** В утилизации  $H_2O_2$  в клетках растений также участвуют различные пероксидазы (Foyer, Noctor, 2009; Miller et al., 2010; Максимов и др., 2011). Нами была проанализирована активность гваякол-зависимой пероксидазы (ГВПО), восстанавливающей  $H_2O_2$  за счет окисления гваякола. Установлено, что активность ГВПО в листьях пшеницы (рис. 3, а) и огурца (рис. 3, б) увеличивается в течение всего периода действия низких закалывающих температур.

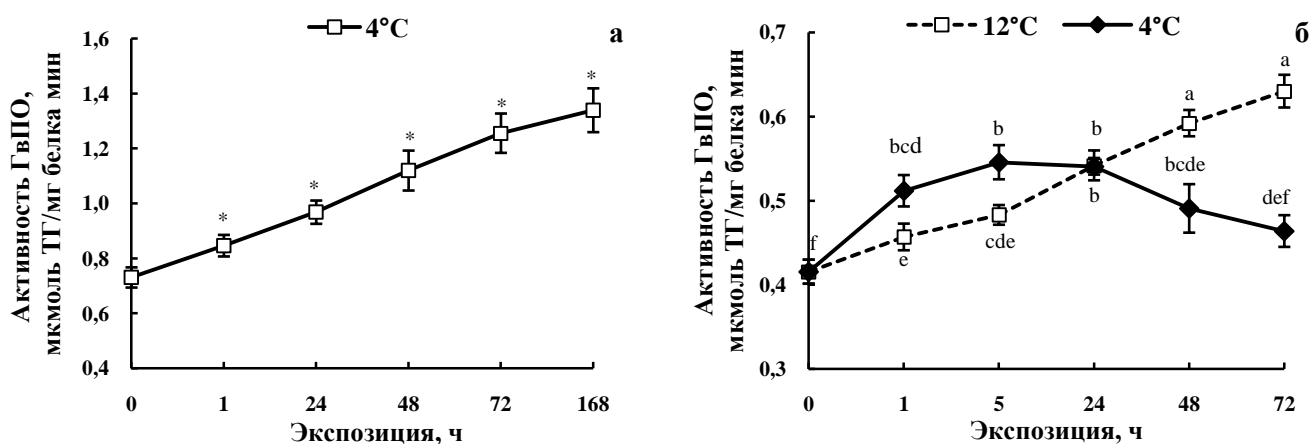


Рис. 3. Влияние низких температур на активность ГВПО в листьях пшеницы (а) и огурца (б). *Примечание.* ТГ – тетрагваякол.

Увеличение активности ГВПО в листьях огурца также обнаружено в начальный период (1–5 ч) действия повреждающей температуры (4°C) (рис. 3, б). Отметим, что в указанный промежуток времени активность ГВПО была выше, чем при 12°C, что, возможно, связано с более высоким уровнем  $H_2O_2$  в листьях. Однако через 24 ч активность ГВПО начинала снижаться (рис. 3, б).

**Свободный пролин.** Наряду с антиоксидантными ферментами в защите клеток растений от АФК принимают участие неферментативные соединения, в том числе, свободный пролин. Его накопление в клетках при действии стресс-факторов обусловлено осморегуляторной, шаперонной и антиоксидантной функциями (Verbruggen, Hermans, 2008; Кузнецов, 2009; Szabados, Savoure, 2009). Проведенное нами исследование показало, что при температуре 4°C в листьях пшеницы увеличивается содержание пролина и мРНК генов *TaP5CS* и *TaP5CR*, кодирующих ферменты его синтеза –  $\Delta^1$ -пирролин-5-карбоксилат-синтазу (П5КС) и  $\Delta^1$ -пирролин-5-карбоксилат-редуктазу (П5КР). Участие пролина в повышении

холодоустойчивости выявлено нами и у растений огурца. Так, его содержание повышалось уже через 1 ч от начала действия закаливающей (12°C) и повреждающей (4°C) температур и достигало максимума на 3 сут.

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет заключить, что АОС играет важную роль в формировании холодоустойчивости растений пшеницы и огурца. При этом при закаливающих температурах (4 и 12°C – для пшеницы и огурца, соответственно) повышение активности антиоксидантных ферментов и аккумуляция свободного пролина наблюдается в течение всего опыта, что препятствует усилению окислительного стресса и способствует формированию холодоустойчивости. В то же время, продолжительное действие повреждающей температуры 4°C на растения огурца вызывает снижение активности антиоксидантных ферментов, что приводит к усилению окислительного стресса, нарушению метаболизма клеток, снижению устойчивости и гибели растений.

### Участие салициловой кислоты и метилжасмоната в реакциях растений пшеницы и огурца на низкотемпературные воздействия

**Холодоустойчивость растений.** К настоящему времени установлено, что фитогормоны СК и МЖ участвуют в ответных реакциях растений на действие низких температур. При этом их защитное действие связывают со способностью поддерживать физиологические процессы (Saydour, Sayyari, 2016), структуру клеточных мембран (Janda et al., 1999; Zhao et al., 2013), снижать интенсивность окислительного стресса (Mutlu et al., 2013), регулировать работу АОС (Kang, Saltveit, 2002; Zhang et al., 2012) и баланс фитогормонов (Hu et al., 2017), вызывать накопление апопластных белков (Tasgin et al., 2003) и др.

В связи с этим было изучено влияние экзогенных фитогормонов СК и МЖ на холодоустойчивость растений пшеницы при действии температуры 4°C. В предварительных экспериментах были выбраны концентрации фитогормонов (СК, 100 мкМ; МЖ, 1 мкМ), вызывающие максимальный прирост холодоустойчивости. Нами показано, что СК и МЖ способствуют повышению холодоустойчивости пшеницы уже в оптимальных температурных условиях (22°C) (табл. 2).

Таблица 2. Влияние СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) на устойчивость клеток пшеницы к промораживанию ( $LT_{50}$ , °C) при действии низкой температуры

Вариант	Экспозиция, ч					
	0	1	24	48	72	168
4°C	-5,6±0,03h	-6,0±0,1g	-6,8±0,1e	-7,4±0,1d	-7,9±0,1c	-8,6±0,1b
4°C+СК	-6,1±0,1g	-6,5±0,1f	-7,4±0,1d	-8,1±0,2c	-8,5±0,2b	-9,1±0,1a
4°C+МЖ	-5,9±0,1g	-6,5±0,1f	-7,3±0,04d	-7,9±0,1c	-8,4±0,1b	-9,1±0,1a

В дальнейшем, при температуре 4°C холодоустойчивость обработанных СК и МЖ растений продолжала возрастать и была в течение всего опыта заметно выше по сравнению с устойчивостью необработанных проростков (табл. 2).

В ходе наших исследований также установлено, что СК и МЖ оказывают защитный эффект на растения огурца, снижая проницаемость мембран клеток ещё до начала действия низких температур (табл. 3). В условиях закаливающей (12°C) и повреждающей (4°C) температур выход электролитов из семядольных листьев обработанных фитогормонами растений был ниже по сравнению с контрольными проростками (без обработки) (табл. 3).

Таблица 3. Влияние СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) на выход электролитов (% от полного выхода) из листьев огурца при действии низких температур

Вариант	Экспозиция, ч					
	0	1	5	24	48	72
12°C	15,1±0,4c	16,5±0,5b	16,8±0,6ab	18,4±0,7a	16,7±0,6ab	13,9±0,4cef
12°C+СК	14,1±0,3de	14,8±0,7cd	15,1±0,5bcd	15,3±0,7bcd	14,4±0,6cdef	12,3±0,5gh
12°C+МЖ	13,7±0,3ef	13,1±0,2fg	13,3±0,3fg	12,2±0,3h	10,7±0,3i	10,6±0,4i
4°C	15,1±0,4h	19,7±0,8f	24,5±1,6e	54,7±1,9c	85,7±1,3a	86,2±1,3a
4°C+СК	14,1±0,3j	17,6±0,9fgh	19,2±1,1f	45,2±1,7d	72,7±1,3b	74,0±1,4b
4°C+МЖ	13,7±0,3j	16,5±0,7gh	18,1±1,3fg	40,1±2,6d	61,7±4,7b	69,0±3,2b

**Рост растений.** К настоящему времени получены данные о том, что экзогенные фитогормоны СК (Liu et al., 2016; Wang et al., 2018) и МЖ (Li et al., 2012; Saydrou, Sayuari, 2016) могут частично нивелировать негативное действие низких температур на рост растений. Нами показано, что СК и МЖ способствуют поддержанию ростовых процессов растений пшеницы и огурца, подвергнутых действию низких положительных температур.

### **Влияние салициловой кислоты и метилжасмоната на уровень окислительного стресса и работу антиоксидантной системы у пшеницы и огурца при низкотемпературных воздействиях**

**Содержание пероксида водорода и малонового диальдегида.** В ряде работ показано, что СК и МЖ вызывают повышение уровня окислительного стресса в клетках растений, которое служит сигналом для запуска защитных реакций (Kumari et al., 2006; Максимов и др., 2011; Liu et al., 2012; Масленникова, Шакирова, 2018). Наши исследования показали, что СК ещё до начала действия низких температур вызывает увеличение содержания пероксида водорода в листьях пшеницы (рис. 4, а) и огурца (рис. 4, б). Важно, что при действии низких температур

содержание  $H_2O_2$  в листьях обработанных СК и МЖ растений было ниже по сравнению с контрольными растениями. Это способствовало уменьшению интенсивности ПОЛ, о чем свидетельствовал более низкий уровень МДА в листьях растений пшеницы и огурца в присутствии фитогормонов.

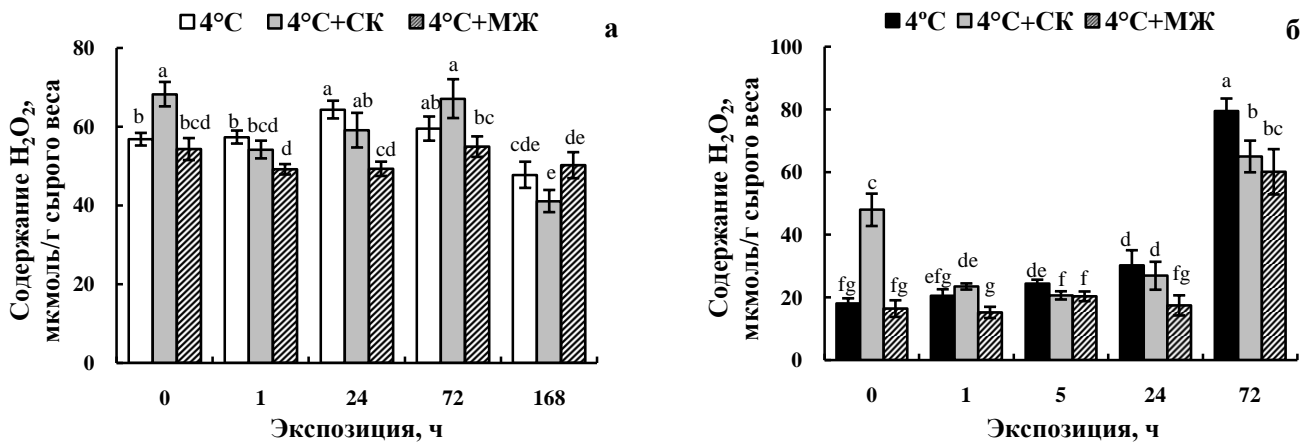


Рис. 4. Влияние СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) на содержание пероксида водорода в листьях пшеницы (а) и огурца (б) при действии низких температур.

**Активность супероксиддисмутазы и содержание мРНК ее генов.** Один из защитных механизмов, который вызывает повышение устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды под влиянием экзогенных фитогормонов, связан с их способностью регулировать работу АОС. Изучение влияния СК и МЖ на общую активность СОД в листьях пшеницы и огурца при низких температурах позволило установить, что СК и МЖ повышают активность фермента ещё до начала действия низких температур. В условиях холодового закаливания ( $4^\circ\text{C}$ ) в листьях пшеницы, обработанных СК и МЖ, в течение всего опыта активность СОД была существенно выше, чем у необработанных проростков. МЖ также усиливал экспрессию генов *TaFeSOD* и *TaMnSOD*, кодирующих изоформы СОД, в течение всего эксперимента. В листьях огурца в присутствии СК и МЖ активность СОД и содержание транскриптов генов *CsCu/ZnSOD* и *CsMnSOD* были значительно выше, чем у необработанных растений, как при действии закаливающей ( $12^\circ\text{C}$ ), так и при повреждающей ( $4^\circ\text{C}$ ) температурах.

**Активность каталазы и содержание мРНК ее гена.** Существует мнение, что ингибирование активности КАТ является одним из основных механизмов действия СК (Chen et al., 1993), который направлен на повышение уровня  $H_2O_2$ , необходимого, например, для обезвреживания патогенов в тканях растений (Willekens et al., 1995; Тарчевский и др., 2010). Ингибирующее действие на активность КАТ при биотическом стрессе может оказывать и ЖК (Максимов и др., 2011). В то же время при действии абиотических факторов под влиянием СК и МЖ выявлена активизация КАТ (Anjum et al., 2011; Mutlu et al., 2013). Нами обнаружено, что в оптимальных температурных условиях ( $22^\circ\text{C}$ ) фитогормоны СК и

МЖ вызывают повышение активности КАТ (на 15% и 32%, соответственно) (рис. 5, а) и увеличивают содержание транскриптов гена *TaCAT*, кодирующего КАТ (рис. 5, б), в листьях пшеницы.

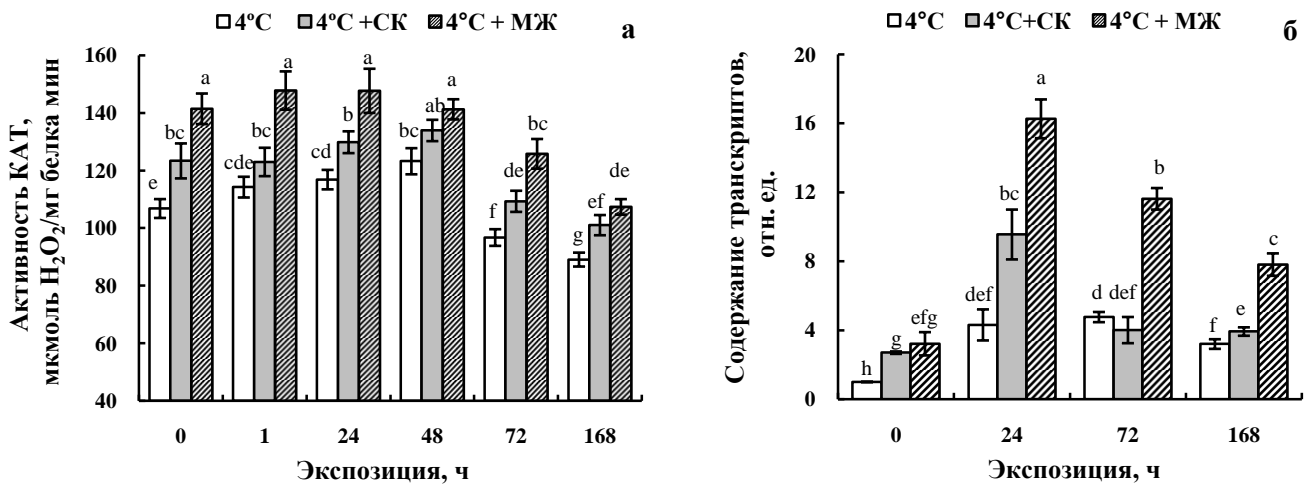


Рис. 5. Влияние СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) на активность КАТ (а) и содержание транскриптов гена *TaCAT* (б) в листьях пшеницы при температуре 4°C.

При действии низкой закалывающей температуры (4°C) активность КАТ (рис. 5, а) и содержание мРНК ее гена (рис. 5, б) были также выше в листьях обработанных СК и МЖ растений пшеницы. Отметим, что более выраженный эффект на активность КАТ и уровень транскриптов гена *TaCAT* оказывал МЖ.

Фитогормоны СК и МЖ оказывали положительное влияние на активность КАТ и в листьях огурца. Так, уже в оптимальных температурных условиях (22°C) они повышали активность фермента (рис. 6, а) и индуцировали накопление транскриптов кодирующего ее гена *CsCAT* (рис. 6, б).

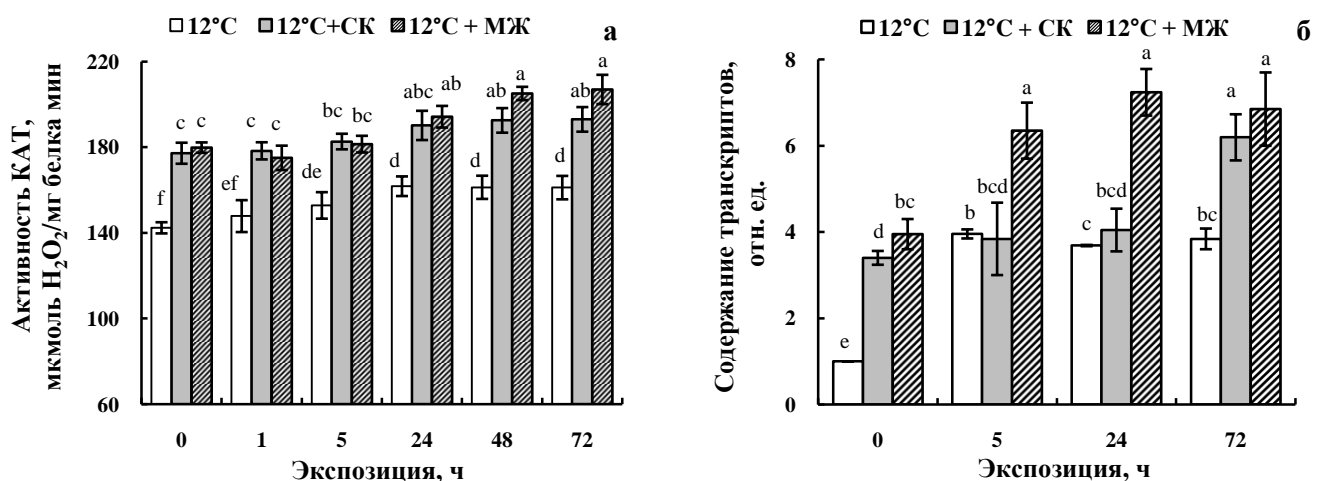


Рис. 6. Влияние СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) на активность КАТ (а) и содержание транскриптов гена *CsCAT* (б) в листьях огурца при температуре 12°C.



При последующем действии температуры 12°C активность КАТ (рис. 6, а) и содержание мРНК гена *CsCAT* (рис. 6, б) в листьях обработанных СК и МЖ растений оставались на повышенном (по сравнению с необработанными растениями) уровне в течение всего опыта (рис. 6, а, б). Отметим, что при повреждающем воздействии (4°C) активность КАТ в листьях обработанных растений огурца была также существенно выше по сравнению с активностью у необработанных проростков. Вероятно, это было обусловлено синтезом новых молекул фермента, поскольку в этих условиях в присутствии СК и МЖ увеличивалось содержание транскриптов гена *CsCAT*.

**Активность пероксидазы.** В ряде исследований показано, что СК и жасмонаты вызывают повышение активности пероксидазы, что способствует снижению интенсивности окислительного стресса в клетках и повышает устойчивость растений к неблагоприятным факторам биотической и абиотической природы (Шакирова, 2001; Kang, Saltveit, 2002; Максимов и др., 2011; Kadioglu et al., 2011; Карпец и др., 2014; Sirhindi et al., 2016; Min et al., 2018).

Полученные нами данные демонстрируют, что СК и МЖ уже в оптимальных температурных условиях (22°C) вызывают активизацию ГвПО в листьях пшеницы и огурца. При действии низких температур (4°C – для пшеницы и 12 и 4°C – для огурца) фитогормоны способствовали поддержанию более высокой активности ГвПО, чем у контрольных растений (без обработки) в течение всего опыта. Отметим, что при закаливающих воздействиях более выраженное действие на активность ГвПО в листьях пшеницы и огурца оказывала СК.

**Содержание пролина и транскриптов генов, кодирующих ферменты его синтеза.** На основании анализа литературы нами высказано предположение, что один из важных протекторных эффектов, оказываемых СК и МЖ, связан с их способностью усиливать накопление свободного пролина, участвующего в формировании повышенной устойчивости растений к стресс-факторам абиотической природы (Misra, Saxena, 2009; Khanna et al., 2016; Manan et al., 2016).

Исследования показали, что обработка растений пшеницы СК и МЖ вызывает повышение (на 46% и 40% относительно исходного уровня) содержания свободного пролина в листьях, а также усиливает накопление мРНК генов *TaP5CS* и *TaP5CR*, кодирующих ферменты его синтеза (П5КС и П5КР) как в оптимальных (22°C), так и в низкотемпературных (4°C) условиях. В листьях огурца под влиянием СК и МЖ также еще до начала действия низких температур увеличивалось содержание пролина относительно исходного уровня на 53% и 43%, соответственно. Отметим, что в течение всего периода действия закаливающей (12°C) и повреждающей (4°C) температур в листьях растений, обработанных фитогормонами, был обнаружен более высокий уровень свободного пролина, чем в листьях контрольных проростков (без обработки).

**Содержание транскриптов гена *WCS120* дегидрина.** Исследованиями последних лет показано, что СК (Soliman et al., 2018) и МЖ (Hu et al., 2013) при действии низких температур повышают экспрессию генов белков холодового ответа, к которым, в том числе, относят гены, кодирующие COR/LEA белки (Cold Regulated/Late Embryogenesis Abundant). Они включают гены семейства WCS (Wheat Cold Specific), которые специфичны для злаковых растений и участвуют в процессе низкотемпературной адаптации (Колесниченко, Войников, 2003; Vitámvás et al., 2007, 2010; Winfield et al., 2010). Белки семейства WCS являются дегидринами – белками II группы класса LEA и препятствуют обезвоживанию клеток, агрегации белков, стабилизируют мембраны и участвуют в защите от АФК (Аллагулова и др., 2003; Hara, 2010; Kosová et al., 2010; Аллагулова, Шакирова, 2017). Отметим также, что белок WCS120 предлагается использовать в качестве маркера холодоустойчивости растений (Vitámvás et al., 2010).

В связи с этим, нами было изучено влияние СК и МЖ на уровень транскриптов гена *WCS120* в листьях пшеницы при действии низкой температуры 4°C. Установлено, что его уровень в листьях обработанных СК и МЖ растений повышался уже в оптимальных температурных условиях (рис. 7). При температуре 4°C содержание транскриптов гена *WCS120* в листьях растений, обработанных СК, повышалось только к концу опыта и было ниже, чем у контрольного варианта (без обработки) (рис. 7). В отличие от этого, МЖ в условиях холодого закаливания вызывал значительное накопление мРНК гена *WCS120*, которое усиливалось с увеличением продолжительности низкотемпературного воздействия (рис. 7). Мы предполагаем, что это способствовало снижению интенсивности окислительного стресса и вносило важный вклад в повышение устойчивости растений пшеницы к низкой температуре.

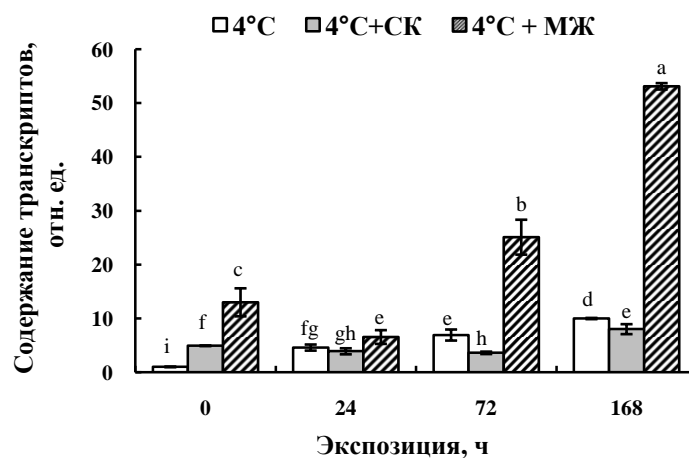


Рис. 7. Влияние СК и МЖ на содержание транскриптов гена *WCS120* в листьях пшеницы при действии температуры 4°C.

На основании полученных данных можно заключить, что экзогенные фитогормоны СК и МЖ принимают участие в защитных реакциях холодостойкого и теплолюбивого растений на действие низких закаливающих и повреждающих температур. При этом положительное влияние СК и МЖ на холодоустойчивость пшеницы и огурца обусловлено их способностью увеличивать активность антиоксидантных ферментов и содержание транскриптов кодирующих их генов, индуцировать аккумуляцию свободного пролина и усиливать экспрессию генов ферментов его синтеза, а также способствовать накоплению мРНК гена дегидрина, участвующего в повышении холодоустойчивости злаковых растений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В природных условиях низкие температуры являются одним из основных факторов, негативно влияющих на жизнедеятельность растений (Levitt, 1980; Коровин, 1984; Трунова, 2006; Титов и др., 2009; Марковская и др., 2013). В то же время при изучении влияния низких температур на растения внимание исследователей сосредоточено, главным образом, на механизмах адаптации растений, относящихся к одной из групп: морозостойкие, холодостойкие или теплолюбивые. Но особый интерес вызывают работы, в которых рассматриваются адаптивные возможности контрастных по холодоустойчивости растений (Дроздов и др., 1984; Peeler, Naylor, 1988; Титов, 1989; Климов и др., 1997; Tewari, Tripathy, 1998; Титов и др., 2006; Марковская и др., 2013).

Проведенное нами комплексное изучение влияния низких положительных закаливающих температур на растения, контрастные по холодоустойчивости (пшеница и огурец), позволило выявить сходство в их ответной реакции. Так, установлено, что у растений пшеницы и огурца в условиях действия низких температур происходит формирование холодоустойчивости, о чем свидетельствуют полученные данные о повышении устойчивости клеток листьев пшеницы к промораживанию и об отсутствии нарушения проницаемости клеточных мембран листьев огурца. Кроме того, в условиях холодового закаливания не происходило полного подавления ростовых процессов.

Одним из важнейших механизмов адаптации растений к неблагоприятным факторам, в том числе к низким температурам, является активизация работы АОС (Лукаткин, 2002; Mittler, 2002; Apel, Hirt, 2004; Noctor et al., 2012). Нами показано, что антиоксидантные ферменты (СОД, КАТ и ГвПО) участвуют в адаптации как устойчивого, так и чувствительного к низким температурам видов растений. Об этом свидетельствует повышение их активности (и накопление мРНК кодирующих их генов *FeSOD*, *MnSOD*, *Cu/ZnSOD* и *CAT*) в течение всего периода действия закаливающих температур. Установлено также, что важную роль в повыше-

нии холодоустойчивости растений играет свободный пролин, увеличение содержания которого (пшеница, огурец) наряду с накоплением мРНК генов *P5CS* и *P5CR*, кодирующих ферменты его синтеза (пшеница), выявлено при действии низких закаливающих температур.

В ходе наших исследований также установлено, что реакция чувствительных к низким температурам растений огурца различается в зависимости от интенсивности и продолжительности холодового воздействия. Так, если закаливающая температура (12°C) вызывала замедление ростовых процессов и кратковременное повышение проницаемости мембран, то при повреждающей температуре (4°C) происходило необратимое подавление роста, значительное увеличение уровня окислительного стресса и выхода электролитов из семядольных листьев. Вместе с тем показано, что активизация работы АОС является неспецифической реакцией растений огурца на кратковременное (1–5 ч) действие как закаливающей (12°C), так и повреждающей (4°C) температур.

В последние годы при изучении механизмов стрессоустойчивости растений внимание исследователей всё чаще обращается к фитогормонам салициловой кислоте и жасмонатам (Шакирова, 2001; Тарчевский, 2002; Васюкова, Озерецковская, 2009; Vlot et al., 2009; Shakirova et al., 2016; Wasternack, Song, 2017; Per et al., 2018 и др.). К настоящему времени установлено, что они участвуют в адаптации растений к низким температурам (Janda et al., 1999; Li et al., 2012; Hu et al., 2013; Mutlu et al., 2013; и др.), хотя их роль в механизмах повышения холодоустойчивости не до конца ясна.

В ходе проведенного нами исследования показано, что повышение холодоустойчивости растений пшеницы и огурца, индуцируемое СК и МЖ, обусловлено их участием в регуляции работы АОС. Так, под влиянием этих фитогормонов уже в оптимальных температурных условиях (22°C) в листьях растений увеличивалась активность антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ и ГвПО), а также происходило накопление свободного пролина. Наряду с этим, в присутствии СК и МЖ повышался уровень мРНК генов *FeSOD*, *MnSOD*, *Cu/ZnSOD* и *CAT*, кодирующих антиоксидантные ферменты (пшеница, огурец) и генов *P5CS* и *P5CR*, кодирующих ферменты синтеза пролина (пшеница). Особо отметим, что у растений пшеницы МЖ индуцировал значительное повышение содержания транскриптов гена *WCS120* дегидрина.

По нашему мнению, активизация работы АОС под влиянием СК и МЖ в оптимальных температурных условиях (22°C) была обусловлена некоторым повышением уровня окислительного стресса, что согласуется с имеющимися в литературе представлениями о том, что усиление окислительного стресса является важным звеном в реализации их протекторных эффектов при действии стресс-факторов (Сахабутдинова и др., 2004; Максимов и др., 2011; Liu et al., 2012; Колу-

паев и др., 2013; Масленникова, Шакирова, 2018). Важно, что при последующем действии низких температур благодаря активизации работы АОС под влиянием СК и МЖ в клетках обработанных растений была обнаружена повышенная (по сравнению с контролем) активность антиоксидантных ферментов, более высокий уровень пролина и мРНК генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, ферменты синтеза пролина и дегидрин. Активизация работы АОС, в свою очередь, приводила к снижению интенсивности окислительного стресса в клетках растений пшеницы и огурца и способствовала формированию повышенной устойчивости в условиях действия низких закаливающих температур. Необходимо отметить, что СК и МЖ также частично нивелировали негативное действие повреждающей температуры на растения огурца.

## ВЫВОДЫ

1. Ответная реакция контрастных по холодоустойчивости растений (пшеница и огурец) на воздействие низких положительных температур имеет сходный характер, но зависит от его интенсивности и продолжительности. Действие закаливающих температур (пшеница – 4°C в течение 7 сут; огурец – 12°C в течение 3 сут) приводит к замедлению ростовых процессов и формированию холодоустойчивости, тогда как продолжительное повреждающее воздействие (огурец – 4°C, 1 сут и более) вызывает необратимое подавление роста и снижение холодоустойчивости.

2. Активизация антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ, ГвПО) и повышение содержания свободного пролина в листьях пшеницы и огурца обнаружено в течение всего периода действия закаливающих температур и в начальный (1–5 ч) период действия повреждающей температуры на проростки огурца. В условиях закаливающих температур это способствует снижению (пшеница) или поддержанию на низком уровне (огурец) содержания  $H_2O_2$  и МДА. Длительное (3 сут) действие повреждающей температуры вызывает снижение активности СОД (в 1,3 раза) и КАТ (в 3 раза) в листьях огурца, что приводит к повышению содержания  $H_2O_2$  и МДА.

3. Экзогенные фитогормоны СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) повышают устойчивость пшеницы к промораживанию, снижают выход электролитов из клеток листьев огурца и способствуют поддержанию ростовых процессов у этих растений в условиях действия низких положительных температур.

4. Обработка СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) вызывает снижение содержания  $H_2O_2$  и МДА в листьях растений пшеницы и огурца, подвергнутых действию низких положительных температур.

5. Защитное действие фитогормонов СК (100 мкМ) и МЖ (1 мкМ) на контрастные по холодоустойчивости растения (пшеница и огурец) обусловлено их спо-

способностью в низкотемпературных условиях (4 и 12°C) повышать активность СОД, КАТ и ГВПО и уровень транскриптов кодирующих их генов (*FeSOD*, *MnSOD*, *Cu/ZnSOD* и *CAT*), увеличивать содержание пролина и мРНК генов *P5CS* и *P5CR* ферментов его синтеза, а также усиливать экспрессию гена *WCS120* дегидрина. Это способствует формированию повышенной холодоустойчивости при действии низких закаливающих температур и снижает негативное действие повреждающей температуры.

### Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

#### Статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. **Фенько (Игнатенко) А.А.**, Репкина Н.С., Таланова В.В. Влияние салициловой кислоты на холодоустойчивость проростков огурца // Труды Карельского научного центра РАН. 2015. № 11. С. 26–34.

2. **Игнатенко А.А.**, Репкина Н.С., Титов А.Ф., Таланова В.В. Реакция растений огурца на низкотемпературные воздействия разной интенсивности // Труды Карельского научного центра РАН. 2016. №11. С. 57–67.

3. Репкина Н.С., **Игнатенко А.А.**, Панфилова К.М., Титов А.Ф., Таланова В.В. Динамика активности супероксиддисмутазы и экспрессия кодирующих ее генов в листьях пшеницы при холодовой адаптации // Труды Карельского научного центра РАН. 2017. №5. С. 89–98.

4. Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., **Игнатенко А.А.** Влияние абсцизовой кислоты на экспрессию генов про- и антиапоптотического белков у растений огурца при низких температурах // Доклады РАН. 2017. Т. 477, №2. С. 249–252.

5. **Игнатенко А.А.**, Репкина Н.С., Таланова В.В. Участие каталазы и пероксидазы в повышении устойчивости пшеницы к низкой температуре // Труды Карельского научного центра РАН. 2018. № 4. С.74–83.

6. Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., **Игнатенко А.А.** Влияние метилжасмоната на экспрессию генов *WCS* и активность антиоксидантных ферментов при холодовой адаптации пшеницы // Доклады РАН. 2018. Т. 482, №1. С. 101–104.

7. Repkina N., Talanova V., **Ignatenko A.**, Titov A. Involvement of proline and non-protein thiols in response to low temperature and cadmium stresses in wheat // *Biologia Plantarum*. 2019. Vol. 63, №1. P. 70–77.

#### Публикации в других изданиях

8. Таланова В.В., Репкина Н.С., **Фенько (Игнатенко) А.А.** Влияние салициловой кислоты на устойчивость проростков огурца к низким температурам // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: сборник материа-

лов IX Международного симпозиума (Москва, 20–25 апреля 2015 г.). Москва, 2015. С. 440–443.

9. **Фенько (Игнатенко) 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 для молодых ученых (Петрозаводск, 21–26 сентября 2015 г.). Петрозаводск, 2015. С. 554

10. **Игнатенко А.А.**, Репкина Н.С. Протекторное действие экзогенной салициловой кислоты на растения огурца в условиях гипотермии // Биология – наука XXI века: сборник тезисов 20-й международной Пущинской школы-конференции молодых ученых (Пущино, 18–22 апреля 2016 г.). Пущино, 2016. С. 351–352.

11. **Ignatenko A.A.**, Talanova V.V., Titov A.F., Repkina N.S., Venzhik Yu.V. The role of abscisic acid in wheat plants adaptation to low temperatures // Proceedings of 4th International Symposium on Plant Signaling and Behavior (Saint Petersburg, 19–24 June 2016). St. Petersburg, 2016. P. 46.

12. **Игнатенко А.А.**, Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., Венжик Ю.В. Роль низкомолекулярных протекторов в процессе повышения устойчивости растений пшеницы к низкотемпературным воздействиям разной интенсивности // Годичное собрание общества физиологов растений России. Научная конференция с международным участием и школа молодых ученых «Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма» (Санкт-Петербург, 21–24 июня 2016 г.). Санкт-Петербург, 2016. С. 227–228.

13. **Игнатенко А.А.**, Панфилова К.М., Репкина Н.С. Влияние экзогенной салициловой кислоты на активность антиоксидантной системы растений пшеницы при действии низкой температуры // Материалы XXIV Международной молодежной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «ЛОМОНОСОВ-2017» (Москва, 10–14 апреля 2017 г.). Москва, 2017. С. 1–2.

14. **Игнатенко А.А.**, Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., Венжик Ю.В., Панфилова К.М. Влияние низкотемпературного закаливания на антиоксидантную систему озимой пшеницы // Материалы II Международного симпозиума «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и международной научной школы «Роль активных форм кислорода в жизни растений» (Уфа, 26 июня–1 июля, 2017 г.). Уфа, 2017. С. 340–343.

15. **Игнатенко А.А.**, Таланова В.В., Репкина Н.С., Титов А.Ф. Некоторые особенности реакции растений огурца на действие закаливающей и повреждающей температуры // «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и при-

кладные аспекты»: Годичное собрание ОФР, научная конференция и школа молодых ученых: сб. мат. докл. (Судак, 18–24 сентября, 2017 г.). Москва, 2017. С. 181.

16. **Ignatenko A.A.**, Repkina N.S., Talanova V.V. Antioxidant system activity in plants contrasting in cold tolerance under hypothermia // Proceedings of the International conference «Young Biologists Science Week-2017» (Petrozavodsk, 20–25 November 2017). Petrozavodsk, 2017. P. 185–187.

17. **Игнатенко А.А.**, Репкина Н.С., Таланова В.В. Особенности реакции растений *Cucumis sativus* L., подвергнутых обработке салициловой кислотой, на низкотемпературные воздействия разной интенсивности // Материалы IV (XII) Международной ботанической конференции молодых ученых в Санкт-Петербурге (Санкт-Петербург, 22–28 апреля 2018 г.). Санкт-Петербург, 2018. С. 168–169.

18. **Игнатенко А.А.**, Репкина Н.С., Таланова В.В., Титов А.Ф. Участие салициловой кислоты в регуляции активности антиоксидантной системы при холодовой адаптации пшеницы // Фенольные соединения: функциональная роль в растениях: сборник научных статей по материалам X Международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 14–19 мая 2018 г.). Москва, 2018. С. 166–169.

19. **Игнатенко А.А.**, Таланова В.В., Репкина Н.С., Холопцева Е.С., Титов А.Ф. Метилжасмонат повышает холодоустойчивость растений пшеницы при обычной и пониженной температуре // Клеточная биология и биотехнология растений: тезисы докладов II Международной научно-практической конференции (28–31 мая 2018 г.). Минск, 2018. С. 61–62.

20. **Игнатенко А.А.**, Репкина Н.С., Таланова В.В., Титов А.Ф. Динамика активности антиоксидантных ферментов в листьях *Triticum aestivum* L. при холодовом закаливании // Ботаника в современном мире. Труды XIV Съезда Русского ботанического общества и конференции «Ботаника в современном мире» (Махачкала, 18–23 июня 2018 г.). Т. 3: Споровые растения. Микология. Структурная ботаника. Физиология и биохимия растений. Эмбриология растений. – Махачкала, 2018. С. 270–272.

21. Repkina N., **Ignatenko A.**, Talanova V. Effect of exogenous methyl jasmonate on cold tolerance of wheat // Book of Abstracts. SEB's Annual Meeting (Florence, 3–6 July 2018). Florence, Italy, 2018. P. 228.

22. Холопцева Е.С., Таланова В.В., **Игнатенко А.А.**, Репкина Н.С. Влияние метилжасмоната на нетто-фотосинтез, водный обмен и рост растений пшеницы при оптимальной и пониженной температурах // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: материалы IX Международной научной конференции (Минск, 24–26 октября 2018 г.). Минск, 2018. С. 137.