

УДК 581.2;577.3

<https://doi.org/10.25587/2222-5404-2025-22-4-26-33>

Оригинальная научная статья



Сравнительный анализ реакций антиоксидантной системы проростков ячменя на абиотические стрессовые факторы различной природы

С. С. Кузьмина, М. И. Соловьева ✉

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова,
г. Якутск, Российская Федерация

✉ cmi79@mail.ru

Аннотация

В условиях современного изменения климата и антропогенного загрязнения почв изучение механизмов стрессоустойчивости сельскохозяйственных культур является актуальной задачей. Целью данного исследования был комплексный анализ реакций антиоксидантной системы проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) на воздействие ключевых абиотических стрессоров: засухи, пониженной (4 °C) и повышенной (35 °C) температур, а также токсического действия сульфата меди (CuSO_4). В работе оценены физиолого-биохимические показатели, включая концентрацию низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО), активность пероксидазы и уровень малонового диальдегида (МДА) как маркера окислительного повреждения липидов. Установлено, что различные стрессы индуцируют качественно разные ответы антиоксидантной системы. Засуха вызывала резкое (более чем в 5 раз) увеличение пула НМАО, тогда как тепловой шок приводил к его истощению (минимум 9,9 мкг/г·экв) и компенсаторному росту пероксидазной активности (до 83,2 мкмоль/мин·г), что сочеталось с максимальным уровнем МДА (3,1 мкг/г). Холодовой стресс и низкие дозы меди активировали оба звена защиты, в то время как высокие концентрации CuSO_4 вызвали декомпенсацию с подавлением ферментативной активности. Показано, что наиболее глубокие повреждения клеток связаны с тепловым стрессом и интоксикацией медью, при которых происходит срыв антиоксидантной защиты. На основе расчетных коэффициентов ($K_1 = \text{НМАО}/\text{МДА}$, $K_2 = \text{Пероксидаза}/\text{МДА}$) выявлены доминирующие стратегии защиты: неферментативная – при засухе и ферментативная – при температурных шоках. Результаты работы важны для прогнозирования устойчивости злаков, произрастающих в неблагоприятных условиях.

Ключевые слова: ячмень, проростки, окислительный стресс, антиоксидантная система, низкомолекулярные антиоксиданты, пероксидаза, малоновый диальдегид, перекисное окисление липидов, сульфат меди, стресс-факторы, адаптация

Финансирование. Исследование не имело финансовой поддержки

Для цитирования: Кузьмина С. С., Соловьева М. И. Сравнительный анализ реакций антиоксидантной системы проростков ячменя на абиотические стрессовые факторы различной природы. *Вестник СВФУ*. 2025, Т. 22, № 4. С. 26–33. DOI: 10.25587/2222-5404-2025-22-4-26-33

Original article

Comparative analysis of reactions of the antioxidant system of barley seedlings to abiotic stresses of various nature

Sargylana S. Kuzmina, Marianna I. Soloveva ✉

M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russian Federation

✉ cmi79@mail.ru

Abstract

In the context of modern climate change and anthropogenic soil pollution, the study of the mechanisms of stress resistance of agricultural crops is an urgent task. The purpose of this study

© Кузьмина С. С., Соловьева М. И., 2025

was a comprehensive analysis of the reactions of the antioxidant system of barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.) to the effects of key abiotic stressors: drought, low (4 °C) and high (35 °C) temperatures, as well as the toxic effects of copper sulfate (CuSO_4). The work assessed physiological and biochemical parameters, including the concentration of low molecular weight antioxidants (NMAO), peroxidase activity and the level of malonic dialdehyde (MDA) as a marker of oxidative damage to lipids. It has been established that different stresses induce qualitatively different responses of the antioxidant system. Drought caused a sharp (more than 5-fold) increase in the NMAO pool, while heat shock led to its depletion (at least 9.9 micrograms/g-eq) and a compensatory increase in peroxidase activity (up to 83.2 micromol/min·g), which was combined with a maximum level of MDA (3.1 micrograms/g). Cold stress and low doses of copper activated both protective links, while high concentrations of CuSO_4 caused decompensation with suppression of enzymatic activity. It has been shown that the most profound cell damage is associated with heat stress and copper toxicosis, which disrupt antioxidant protection. Based on the calculated coefficients ($K_1=\text{NMAO}/\text{MDA}$, $K_2=\text{Peroxidase}/\text{MDA}$). The dominant protection strategies have been identified: non—enzymatic - in case of drought and enzymatic — in case of temperature shocks. The results of the work are important for predicting the stability of cereals in adverse conditions.

Keywords: barley, seedlings, oxidative stress, antioxidant system, low molecular weight antioxidants, peroxidase, malondialdehyde, lipid peroxidation, copper sulfate, stress factors, adaptation

Funding. No funding was received for writing this manuscript

For citation: Kuzmina S. S., Soloveva M. I. Comparative analysis of reactions of the antioxidant system of barley seedlings to abiotic stresses of various nature. *Vestnik of NEFU*. 2025, Vol. 22, No. 4. Pp. 26–33. DOI: 10.25587/2222-5404-2025-22-4-26-33

Введение

Произрастающие на Севере растения подвергаются многофакторному воздействию окружающей среды. В природных условиях невозможно выявить истинное влияние одного отдельно взятого фактора, будь хоть это свет, влажность, температура и т. д. Адаптация, требующая для своего завершения от нескольких часов до нескольких месяцев, когда фенотипические сдвиги происходят в лабораторных условиях в ответ на экспериментальное варьирование какого-нибудь одного параметра среды (например, температуры), называется акклимацией, в том случае, когда они развиваются в естественных условиях, — акклиматизацией. Но здесь могут изменяться несколько параметров среды, и поэтому трудно бывает достоверно установить, какой из них служит сигналом к адаптации, или даже выяснить, к какому параметру фактически требуется приспособление. В связи с этим большая часть исследований, посвященных адаптационным процессам, касается акклимации [1].

В Якутии из-за особенностей климата продуктивность зерновых, особенно в первой половине вегетации растений, лимитирует в основном не температура, а нехватка осадков. Особенно нехватка влаги в течение всей вегетации резко выражена в Центральных заречных районах Якутии [2]. Роль воды важна не только в формировании структуры и свойств биологических систем, она в значительной мере определяет состояние их в стрессовых условиях [3]. Поэтому одной из актуальных проблем современной физиологии растений является изучение особенностей водного режима растений при изменении условий окружающей среды. Среди экологических факторов, способствующих сохранению жизнеспособности растений в естественных условиях произрастания, важным фактором является температура. Реакция растений на резкие колебания температуры выражается в резком повышении интенсивности окислительных процессов. Можно

предположить, что усиление свободнорадикальной атаки на липиды является одним из ранних этапов инициации и развития холодового стресса [1]. Исходя из этого, мы подвергли проростки действию этих факторов.

Засуха является результатом действия высоких температур, а также водного дефицита. Растения поглощают воду и питательные вещества из почвы путем осмоса, поэтому искусственную засуху можно моделировать путем осмотических изменений растения, процесса, с помощью которого растения регулируют водный баланс. Применение осмотически активных веществ или изменение состава питательной среды снижают доступность воды для растения, имитируя условия засухи, что приводит к физиологическим реакциям, схожим с реакциями на естественную засуху. На «осмотический стресс» растение реагирует так же, как и при реальной засухе – закрытием устьиц, снижением роста и изменениями метаболизма для адаптации к стрессу, включая изменение биохимических процессов [4]. Медные удобрения применяются для стимуляции роста и урожайности злаковых культур. Ионы меди положительно влияют на проростки злаков, повышая энергию и всхожесть семян, а также стимулируя рост. Они необходимы для ферментативных процессов, фотосинтеза и устойчивости к болезням, однако избыток меди может быть токсичен. Например, оптимальная концентрация варьируется, но для гороха она составляет 5–8 мг/л. [5].

Целью данной работы было сравнение стратегии адаптации антиоксидантной системы проростков ячменя к действию абиотических стрессоров различной природы.

Объект и методы исследования

Исследовались проростки ячменя сорта ТАММИ (*Hordeum vulgare* L.), районированного в Якутии с 1963 года (относительно адаптирован к условиям Якутии). Семена замачивали до наклевывания в дистиллированной воде, затем высаживали в чашки Петри в количестве 20 проростков. Выращивали при температуре 23–24 °С и освещении лампами дневного света (12ч) в вытяжном шкафу на растворе Кноппа: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ -1,44г; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -1г; KH_2PO_4 -0,25г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,25г; KCl -0,12г; FeCl_3 -следы, в 1л дистиллированной воды, $\text{pH} = 7,2$ [6]. По достижении проростками ячменя возраста семи суток начинали эксперимент. По 72 часа подвергали различному виду стресса: недостаток водообеспечения («засуха») создавали путем выдерживания проростков (в 3-х повторениях) в растворе сахарозы концентрации 15,8% [7]. Влияние низких положительных температур было смоделировано помещением в холодильную камеру с температурой 4 °С. Влияние высоких температур – помещением в термостат с температурой 35 °С. Контролем служили проростки, выращиваемые на воде.

Пробоподготовку проводили экстракцией навески проростков этанолом и центрифугированием гомогената. Для биохимического анализа исследуемого материала использовали следующие общепринятые спектрофотометрические методики, выполненные на спектрофотометре СФ-56 (Россия):

- определение интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) по количеству образовавшегося малонового диальдегида (МДА) [8];
- определение активности пероксидазы [9];
- определение суммы низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) [9].

Результаты и обсуждение

Анализ физиолого-биохимических показателей проростков ячменя под воздействием различных стрессовых факторов (засуха, пониженная температура 4 °С и повышенная температура 35 °С) выявил выраженные изменения в концентрации низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО), активности пероксидазы и уровне малонового диальдегида (МДА) – маркера перекисного окисления липидов (ПОЛ). Концентрация МДА, отражающая интенсивность перекисного окисления

липидов, повышается при всех стрессовых воздействиях, особенно при температуре 35 °С, где достигает максимального значения – 3,1 мкг/г (рис. 1). Это подтверждает развитие окислительного стресса и повреждение мембранных структур.

Наиболее сильный сдвиг в концентрации НМАО наблюдается при засухе – уровень возрастает более чем в пять раз по сравнению с контролем. Это свидетельствует об активации антиоксидантной системы растения, направленной на нейтрализацию избыточных активных форм кислорода, возникающих при водном дефиците. В то же время при повышенной температуре (35 °С) концентрация НМАО резко снижается до минимальных значений (9,9 мкг/г·экв), что, вероятно, отражает истощение антиоксидантного пула и нарушение метаболической устойчивости. При холодовом стрессе (4 °С) наблюдается умеренное повышение уровня НМАО (62,4 мкг/г·экв), что может свидетельствовать о частичной активации защитных механизмов (рис. 2).

Пероксидазная активность, напротив, постепенно возрастает во всех стрессовых вариантах, достигая максимума при температуре 35 °С (83,2 мкмоль/мин·г) (рис. 3). Это указывает на вовлечение ферментативного звена антиоксидантной системы в поддержание клеточного гомеостаза при температурных стрессах. Особенно выраженное повышение активности при высоких температурах может быть связано с усилением процессов детоксикации перекисей.

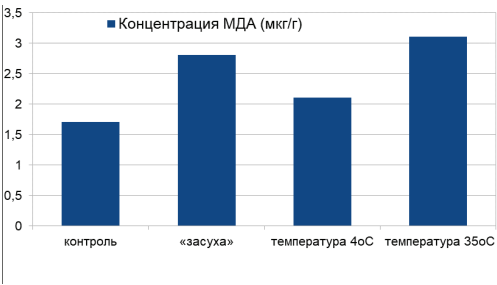


Рис. 1. Изменение интенсивности ПОЛ в проростках ячменя при действии стресс-факторов
Fig. 1. Change in the intensity of lipid peroxidation in barley seedlings under the action of stress factors

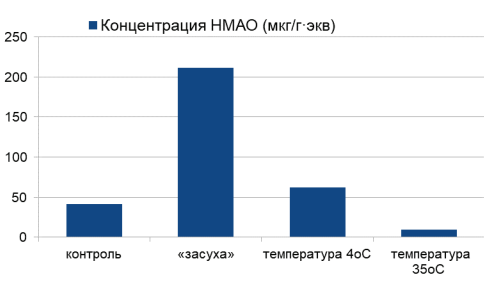


Рис. 2. Изменение содержания НМАО в проростках ячменя при действии стресс-факторов
Fig. 2. Change in the content of low-molecular-weight antioxidants in barley seedlings under the action of stress factors

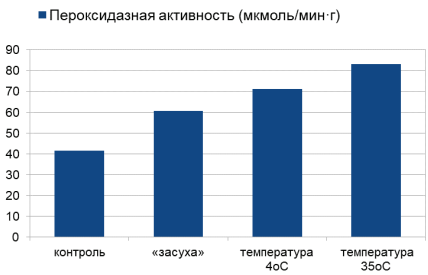


Рис. 3. Изменение активности пероксидазы в проростках ячменя при действии стресс-факторов
Fig. 3. Change in peroxidase activity in barley seedlings under the action of stress factors

Таблица

**Изменения коэффициентов антиоксидантной защиты
в проростках ячменя при воздействии стресс-факторов**

Table

Changes in antioxidant defense coefficients in barley seedlings under stress factor exposure

Стресс	$K_1 = \text{НМАО/МДА}$	$K_2 = \text{Пероксидаза/МДА}$	K_2/K_1
Контроль	24,47	24,41	0,99
Засуха	75,39	21,64	0,29
4 °C	29,71	33,90	1,14
35 °C	3,19	26,84	8,41

Сравнительный анализ данных указывает на различную направленность реакций антиоксидантной системы при разных типах стрессов. Засуха вызывает резкий всплеск содержания НМАО при относительно умеренном росте МДА, что свидетельствует о достаточно эффективной защите клеток. В противоположность этому высокая температура приводит к снижению НМАО при одновременном росте пероксидазной активности и МДА – признак того, что неферментативное звено антиоксидантной защиты истощается, а ферментативное – активируется компенсаторно. Таким образом, в нашем эксперименте тепловой стресс вызывает наиболее глубокие метаболические сдвиги и наибольшую степень повреждения клеток ячменя.

Для наглядного отражения изменений концентрации неферментативных антиоксидантов (НМАО), активности пероксидазы (антиоксидантного фермента) и индикатора липидной перекисной деструкции – МДА при реакции проростков на разные стресс-факторы, были рассчитаны коэффициенты $K_1 = \text{НМАО/МДА}$ $K_2 = \text{Пероксидаза/МДА}$ и отношение K_2/K_1 (табл.).

Резкий рост НМАО при засухе указывает на доминирование неферментативных механизмов защиты (накопление низкомолекулярных антиоксидантов) при недостатке водообеспечения: растения, по-видимому, мобилизуют низкомолекулярные антиоксиданты для нейтрализации окислительного стресса, что уменьшает относительную роль ферментативной (пероксидазной) активности. Низкая температура (4 °C) сопровождается умеренным ростом НМАО и заметным увеличением пероксидазной активности. Здесь наблюдается повышенная ферментная защита (пероксидаза) относительно неферментативных антиоксидантов – пероксидазная система, похоже, играет ведущую роль при холодовом стрессе, что согласуется с представлением о том, что ферментативные антиоксиданты быстро активируются при температурных шоках. Высокая температура (35 °C) дает качественно другой профиль ответа: НМАО резко падает, пероксидаза резко возрастает, а МДА достигает наибольшего значения и, соответственно, противоположные изменения коэффициентов K_1 и K_2 (табл. 1). Высокое соотношение K_2/K_1 при 35 °C показывает, что при тепловом стрессе растения либо теряют низкомолекулярные антиоксиданты, либо не успевают их синтезировать, тогда как ферментативная система (пероксидаза) резко активируется. Однако высокий уровень МДА говорит о существенном повреждении липидов, несмотря на активность пероксидаз – возможно, ферментативная система не в состоянии полностью компенсировать быстрый рост окислительных процессов при высокой температуре. Контрольная группа демонстрирует примерно равные K_1 и K_2 , что отражает сбалансированную работу неферментативных и ферментативных систем при отсутствии стресса (рис. 4).

В настоящем исследовании изучалось влияние концентрации сульфата меди (CuSO_4) в качестве стресс-фактора ионами меди на про- и антиоксидантные процессы в проростках ячменя. Полученные данные демонстрируют выраженную дозозависимую реакцию: изменение активности пероксидазы и уровня МДА (рис. 5) при росте концентрации CuSO_4 было значительно выраженным, чем изменение содержания низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО). При низкой концентрации CuSO_4 (приблизительно 16 мг/л) проростки демонстрируют адаптивную реакцию в виде увеличения НМАО и умеренный рост активности пероксидазы, что может быть защитной реакцией без выраженного повреждения

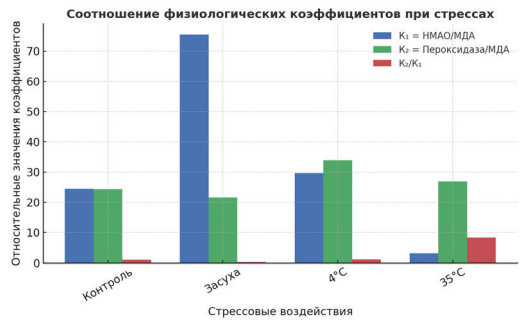


Рис. 4. Соотношение коэффициентов антиоксидантной защиты проростков ячменя при воздействии стресс-факторов

Fig. 4. Ratio of antioxidant defense coefficients in barley seedlings under stress factor exposure

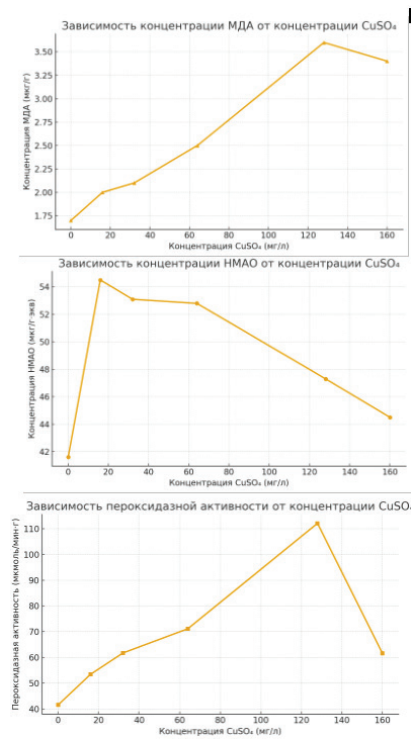


Рис. 5. Влияние разных концентраций CuSO_4 на про- и антиоксидантные процессы в проростках ячменя

Fig. 5. Effect of different CuSO_4 concentrations on pro- and antioxidant processes in barley seedlings

мембран. Промежуточные дозы (64–128 мг/л) приводят к значительной активации ферментативного детоксикационного аппарата и одновременному росту маркеров ПОЛ (МДА) – состояние, при котором защитные механизмы работают на пределе. Очень высокие дозы (160 мг/л) вызывают признаки декомпенсации: ферментативная активность уменьшается (возможное повреждение белков), МДА остается высокой, НМАО снижены (рис. 5), это может указывать на выраженное токсическое действие CuSO_4 .

Заключение

Таким образом, проведенное исследование выявило специфические стратегии адаптации антиоксидантной системы проростков ячменя в ответ на различные абиотические стрессы. Установлено, что тип стрессового воздействия определяет соотношение активности ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты. При недостаточном водообеспечении (засухе) доминирует неферментативное звено, о чем свидетельствует резкое (более чем пятикратное) увеличение пула НМАО, что, вероятно, является адаптивной реакцией, направленной на непосредственную нейтрализацию активных форм кислорода (АФК). Холодовой стресс характеризуется сбалансированной активацией обоих компонентов с умеренным ростом НМАО и значительным увеличением пероксидазной активности. Наиболее деструктивным фактором является тепловой стресс (35 °C), который приводит к дисбалансу системы – происходит истощение неферментативных антиоксидантов при компенсаторной гиперактивации пероксидазы, что, скорее всего, не способствует предотвращению максимального накопления МДА и, как следствие, тяжелого повреждения мембран. В условиях токсического воздействия ионов меди (CuSO_4) наблюдается четкая дозозависимая реакция. Низкие концентрации индуцируют адаптивный ответ, тогда как высокие (свыше 64 мг/л) приводят к декомпенсации защитных механизмов, что проявляется в резком росте МДА и последующем подавлении ферментативной активности.

Практическая значимость работы заключается в разработке диагностических критериев для оценки стрессоустойчивости растений. Расчетные коэффициенты (K_1 , K_2), а также динамика пероксидазной активности и уровня МДА могут быть использованы в качестве чувствительных биохимических маркеров при селекции и отборе наиболее устойчивых генотипов ячменя.

Л и т е р а т у р а

1. Хозеева Е.В., Зимина Ю.А., Срослова Г.А. Окислительный стресс растений: химия, физиология, способы защиты. *Природные системы и ресурсы*. 2020;(4):30-40.
2. Рожин В.С., Чичигинаров В.В. *Возделывание зерновых культур в условиях Якутии. Достижения науки и техники АПК*. 2006;(5):12-13.
3. Демиденко К.Я., Хижняк С.В. Влияние минеральных веществ на морфологические показатели проростков сои. *Вестник КрасГАУ*. 2017;(4):30-37.
4. Голубова В.А., Газе В.Л. Изучение механизмов регуляции воды в растениях сортов озимой мягкой пшеницы в условиях острой засухи. *Зерновое хозяйство России*. 2021;76(4):3-7.
5. Блинохватова Ю.В., Нуштаева А.В. Влияние меди на прорастание семян и рост растений семейства Fabaceae. *Инновационная техника и технология*. 2024;11(3):61-66.
6. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. *Справочник по проращиванию покоящихся семян*. Ленинград: Наука; 1985:348.
7. Удовенко Г.В. *Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям* (методическое руководство). Всесоюзный НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР); 1988:228.
8. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. *Современные методы в биохимии*. Москва: Медицина; 1977:66-68.
9. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. *Методы биохимических исследований растений*. Ленинград: Агропромиздат. Ленинградское отделение; 1987:430.

References

1. Khozeeva EV, Zimina YuA, Sroslova GA. Oxidative stress in plants: chemistry, physiology, protection methods. *Prirodnye sistemy i resursy = Natural Systems and Resources*. 2020;(4):30-40 (in Russian).

2. Rozhin VS, Chichiginvarov VV. Cultivation of cereal crops in the conditions of Yakutia. *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2006;(5):12-13 (in Russian).
3. Demidenko KYa, Khizhnyak SV. Influence of mineral substances on morphological parameters of soybean seedlings. *Bulletin of KSAU*. 2017;(4):30-37 (in Russian).
4. Golubova VA, Gaze VL. Study of water regulation mechanisms in winter soft wheat varieties under acute drought conditions. *Grain Economy of Russia*. 2021;76(4):3-7 (in Russian).
5. Blinokhvatoва YuV, Nushtaeva AV. Influence of copper on seed germination and plant growth of the Fabaceae family. *Innovative Engineering and Technology*. 2024;11(3):61-66 (in Russian).
6. Nikolaeva MG, Razumova MV, Gladkova VN. *Reference book on dormant seed germination*. Leningrad: Publishing House "Nauka"; 1985:348 (in Russian).
7. Udovenko GV. *Diagnostics of Plant Resistance to Stress Impacts (Methodological Guide)*. N.I. Vavilov All-Union Research Institute of Plant Genetic Resources; 1988:228 (in Russian).
8. Stal'naya ID, Garishvili TG. Method for the determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. *Sovremennye metody v biokhimii*. Moscow: Publishing House "Medicina"; 1977:66-68 (in Russian).
9. Ermakov AI, Arasimovich VV, Yarosh NP. *Methods of Biochemical Research of Plants*. Leningrad: Publishing House "Agropromizdat". Leningrad branch; 1987:430 (in Russian).

Сведения об авторах

КУЗЬМИНА Саргылана Семеновна – к. б. н., доцент биологического отделения ИЕН, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г. Якутск, Российская Федерация, <https://orcid.org/0000-0002-4687-4868>, e-mail: sskuzmina@bk.ru

СОЛОВЬЕВА Марианна Иннокентьевна – к. б. н., доцент биологического отделения ИЕН, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г. Якутск, Российская Федерация, <https://orcid.org/0000-0001-9819-2001>, e-mail: cmi79@mail.ru

About the authors

Sargylana S. KUZMINA – Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Biological Department, Institute of Natural Science, M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-4687-4868>, e-mail: sskuzmina@bk.ru

Marianna I. SOLOVEVA – Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Biological Department, Institute of Natural Science, M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-9819-2001>, e-mail: cmi79@mail.ru

Вклад авторов

Кузьмина С. С. – разработка концепции, верификация данных, проведение статистического анализа, проведение исследования, редактирование рукописи

Соловьева М. И. – ресурсное обеспечение исследования, администрирование данных, администрирование проекта

Authors' contribution

Sargylana S. Kuzmina – conceptualization, validation, investigation, writing – original draft

Marianna I. Soloveva – resources, data curation, writing – review & editing

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interests

The authors declare no relevant conflict of interests

Поступила в редакцию / Received 03.10.2025

Поступила после рецензирования / Revised 13.11.2025

Принята к публикации / Accepted 24.11.2025