

Національна академія аграрних наук України  
Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва

**Підвищення схожості насіння зернових злаків  
праймінгом фізіологічно активними речовинами  
Науково-методичні рекомендації**

**Харків — 2024**

Друкується за рішенням ученої ради  
Інституту рослинництва імені  
В.Я. Юр'єва НААН України  
(протокол № 11 від 31.10.2024 р.)

**Підвищення схожості насіння зернових злаків праймінгом фізіологічно активними речовинами: Науково-методичні рекомендації /**  
Укладачі: д-р біол. наук, проф. Колупаєв Ю.Є., канд. біол. наук Ястреб Т.О.,  
д-р філософії (біол.) Кокорев О.І., д-р с.-г. наук Рябчун Н.І., м.н.с. Шахов І.В. –  
Харків, 2024. – 53 с.

Описано методику підвищення схожості насіння зернових злаків шляхом його передпосівної обробки новими фізіологічно активними речовинами — донорами газотрансмітерів (нітроген оксиду, гідроген сульфід) та рослинними нейромедіаторами (мелатоніном, гамма-аміномасляною кислотою). Пропоновані протоколи містять опис оцінки інтегральних фізіологічних показників (схожість насіння, енергія проростання, ріст проростків) та біохімічних індикаторів перебігу процесів у зернівках та проростках — показники окиснювального стресу, активності амілаз і антиоксидантних ферментів, вмісту вторинних метаболітів тощо. Ці протоколи можуть бути використані для первинного скринінгу нових фізіологічно активних речовин, обробка якими може підвищувати схожість насіння зернових злаків, у тому числі з низькими посівними якостями.

Призначено для наукових працівників у галузі експериментальної біології рослин, рослинництва, викладачів і здобувачів агрономічних та біологічних спеціальностей закладів вищої освіти, а також працівників науково-виробничих підприємств.

**Рецензенти:** д-р біол. наук Є.Ю. Мордерер (*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України*); д-р с.-г. наук Васько Н.І. (*Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України*)

© Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва  
НААН України, 2024

## ВСТУП

Період між сівбою насіння та появою сходів відіграє вирішальну роль у формуванні посівів більшості сільськогосподарських культур (Hubbard et al., 2012). Розвиток насіння, дозрівання, зберігання та проростання є складними фізіологічними подіями, які значною мірою визначаються внутрішніми факторами (генотипом, зрілістю насіння) та умовами навколишнього середовища (Xu, Asghar, 2023).

Низька і нерівномірна схожість насіння, її варіювання залежно від погодних умов та антропогенних чинників може критично лімітувати урожайність культурних рослин (Waqas et al., 2019). Кліматичні зміни, зокрема більш часті весняні та осінні посухи, знижують схожість насіння ярих і озимих культур в Україні. Останнім часом з'явилися й інші виклики, що ставлять під загрозу формування посівів. Через активні воєнні дії з лютого 2022 року в Україні ускладнюється проблема належного зберігання зерна, що знижує його посівні якості. Також через форс-мажорні обставини можуть порушуватися регламенти пересіву насіння колекцій вітчизняних банків генетичних ресурсів.

Для підвищення швидкості й однорідності проростання насіння та індукування стійкості рослин на ранніх фазах розвитку в останнє десятиліття у світі дедалі ширше використовуються технології праймінгу (Paparella et al., 2015; Ibrahim, 2015). Цим терміном визначають фізіологічний метод контрольованого зволоження та висушування зернівок для посилення у них передгермінативних метаболічних процесів (Waqas et al., 2019). Праймінг насіння використовується для синхронізації проростання насіння. Технологія передпосівної обробки насіння має низку переваг. Цим прийомом досягається вища швидкість та рівномірність появи сходів та підвищена стійкість молодих рослин до стресових чинників (Jisha et al., 2013).

Упродовж кількох десятиліть, що минули з часу впровадження технології праймінгу, у світі було відпрацьовано чимало способів підсилення ефективності цього прийому. Це відбувається за рахунок поєднання власне праймінгу як процедури зволоження насіння з іншими прийомами, зокрема, з осмотичними і термічними впливами, обробкою насіння різноманітними фізіологічно активними речовинами, мікроелементами, штамми бактерій, наночастинками тощо (Mitter et al., 2018; Waqas et al., 2019).

На фізіологічному рівні позитивні ефекти праймування зумовлені специфічними метаболічними змінами, що відбуваються в насінні, коли починається поглинання води (Bray, 1995). Внаслідок регідратації запускаються основні клітинні процеси – синтез нуклеїнових кислот та білків, утворення АТФ, накопичення фосфоліпідів і стеролів (Paparella et al.,

2015).

Через критично важливу роль зернівок у відтворенні рослин, в ході еволюції у них сформувалися досконалі механізми, які захищають насіння від стресу. У сухому стані спокою зернівки, захищені насінневою оболонкою, на відміну від рослин у стадії вегетації, мають дуже високу стійкість до стресових чинників, зокрема, перепадів температур. І, навпаки, зернівки можуть бути дуже уразливими до дії стресорів під час розвитку насіння на материнській рослині (наприклад, за умов посухи) та під час проростання. Власне, сам процес проростання зернівки (навіть у сприятливих умовах) спричиняє її перехід у стресовий стан, оскільки супроводжується сприйняттям зовнішніх сигналів (насамперед про зміну температури і вологості), активацією сигнальної мережі і трансдукцією сигналів у генетичний апарат (Waqas et al., 2019).

Окрему проблему становить підвищення схожості насіння, що зазнає старіння (Kurek et., 2019). Неправильне зберігання насіння (в першу чергу при підвищеній температурі та вологості) спричиняє його прискорене старіння (Golijan Pantović et al., 2024). Відомо, що в такому насінні зазвичай спостерігається дисбаланс між утворенням активних форм кисню (АФО) та їх знешкодженням антиоксидантною системою (Zhang et al., 2021), що може бути причиною активації пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) і кінцевому підсумку порушення цілісності мембран (Kurek et., 2019). Розвиток окиснювального стресу також призводить до карбонілювання білків (Rajjou et al., 2008), а в окремих випадках і до пошкодження ДНК (Kurek et al., 2019; Afzal, 2023). З урахуванням суттєвого внеску окиснювального стресу в деструктивні процеси старіння насіння розглядається можливість використання антиоксидантів або сполук, що активують антиоксидантну систему, як праймувальних агентів для нормалізації проростання насіння (Xia et al., 2020).

Спектр фізіологічно активних речовин (ФАР), які пропонується використовувати для праймінгу насіння, постійно розширюється. Так, новим імпульсом стало з'ясування механізмів сприйняття рослинними клітинами зовнішніх і внутрішніх сигналів і виявлення чисельних сигнальних посередників, що перебувають між собою у функціональних зв'язках і формують сигнальну мережу (Singh et al., 2020). Зокрема, для праймування насіння можуть використовуватися солі кальцію, який є універсальним внутрішньоклітинним месенджером (Ashraf et al., 2019), АФО у формі  $H_2O_2$  (Ellouzi et al., 2017) та газотрансмітери (Kolupaev et al., 2022).

Терміном «газотрансмітери» (ГТ) об'єднують невеликі газоподібні молекули, що синтезуються живими організмами і виконують сигнальні

функції. Особливостями цих молекул є: здатність проходити через клітинні мембрани, можливість функціонувати незалежно від конкретних рецепторів, генерація за допомогою ферментів, наявність специфічних клітинних компонентів-мішеней та тісний зв'язок з іншими сигнальними посередниками (Karle et al., 2021). Також вважається, що екзогенний вплив ГТ на живі організми має імітувати їхню функцію. Основними ГТ у рослин вважаються нітроген монооксид (NO), гідроген сульфід (H<sub>2</sub>S) та карбон монооксид (CO) (Kolupaev et al., 2019; Yao et al., 2019). Більш вивченими є біологічні ефекти NO та H<sub>2</sub>S (Kolupaev et al., 2019; 2022). В останнє десятиліття інтенсивно вивчається можливість їх використання як праймувальних агентів. Проте механізми їх фізіологічної дії на проростання насіння залишаються малодослідженими, незважаючи на значний обсяг феноменологічних даних.

Інша нова група праймувальних агентів репрезентована стресовими фітогормонами та стресовими метаболітами з гормональними (регуляторними) властивостями (Sako et al., 2020). Поряд з абсцизовою (АБК), саліциловою і жасмоновою кислотами, брасиностероїдами до цієї групи увійшли поліаміни, мелатонін,  $\gamma$ -аміномасляна кислота (ГАМК) і навіть оцтова кислота (Kim et al., 2017). Проте молекулярні механізми дії цих сполук при їх потраплянні в рослинні клітини залишаються багато в чому не ясними.

У даних рекомендаціях описано методику дослідження впливу нових фізіологічно активних речовин (на прикладі донорів газотрансмітерів і так званих «рослинних нейротрансмітерів» - ГАМК і мелатоніну) на процес проростання зернівок культурних злаків, що зазнали посиленого старіння через зберігання у несприятливих умовах.

Пропоновані протоколи містять опис методики обробки насіння ФАР, оцінки інтегральних фізіологічних показників (енергія проростання, схожість, маса органів проростків, активність амілази), а також методів визначення маркерів, що характеризують спричинювані стресорами пошкодження на клітинному рівні (показники розвитку окиснювального стресу і стану антиоксидантної системи). Ці протоколи можуть бути використані насамперед для первинної оцінки ефективності застосування ФАР та інших прийомів, що підвищують схожість насіння зі зниженими посівними якостями.

## **I. МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ФАР НА ПРОРОСТАННЯ ЗЕРНІВОК ЗЛАКІВ**

Для експериментів може бути використане насіння м'якої (*Triticum aestivum*) і твердої (*T. durum*) пшениці, жита (*Secale cereale*), тритикале ( $\times$  *Triticosecale*) або інших зернових злаків, яке зазнало інтенсивного старіння.

Такі умови можуть складатися при зберіганні зерна за коливання температури і вологості (наприклад, при кількарічному зберіганні у сховищі без регуляції температури і вологості). Існують також штучні методи прискорення старіння насіння, наприклад, нагрів за температури близько 45 °С протягом 3-4 годин впродовж кількох днів. Для правильного вибору режиму «старіння» насіння необхідне проведення попередніх експериментів, оскільки швидкість такого старіння може варіювати залежно від видових, сортових за інших особливостей.

*Протокол процедури праймування та пророщування насіння і визначення його схожості та показників росту проростків.* Насіння пшениці або іншої злакової культури в хімічному стакані промити дистильованою водою і залити 4% розчином гіпохлориту натрію (NaClO). За відсутності реактиву можна використовувати побутовий засіб “Білизна”, розбавлений дистильованою водою у 5-6 разів. Насіння витримати у розчині хлоровмісного знезаражувача протягом 15 хвилин, після чого 8-10 разів промити дистильованою водою.

Знезаражене насіння розділити за варіантами експерименту в хімічні стакани і праймувати протягом 3 год у розчинах досліджуваних ФАР. Для кожної сполуки (наприклад, донорів газотрансмітерів нітропрусиду натрію (донор NO), гідросульфід натрію (NaHS), мелатоніну, ГАМК або іншої речовини, що досліджується як праймувальний агент, використовується не менше чотирьох різних концентрацій, підібраних на підставі даних літератури або емпіричним шляхом (приклади див. у розділі 3). Час праймування також може бути змінений залежно від ефектів досліджуваних сполук. Насіння контрольного варіанта праймується дистильованою водою, оскільки відомо, що гідропраймінг також помітно стимулює проростання насіння. Для порівняння зазвичай в подібних експериментах передбачають і так званий «абсолютний» контроль — пророщування насіння без праймінгу (лише знезараження). Після закінчення праймування насіння відповідно до варіантів висушують у стерильному плоскому посуді протягом доби у темряві за температури 24°C.

Після цього насіння розкладають за варіантами і повтореннями в чашки Петрі на два шари стерильного фільтрувального паперу, зволоженого 8 мл дистильованої води, з розрахунку 50-80 зернівок на чашку. Насіння пророщують в темному термостаті за температури 24°C протягом 3 діб. Через 2 доби визначають енергію проростання — відносну кількість нормально пророслих зернівок. Такими вважають зернівки з пагонами, більшими від половини розміру зернівки. Через 3 або 4 доби визначають схожість — так

само відносну кількість нормально пророслих зернівок, а також аналізують середню масу коренів та пагонів, отриманих від нормально пророслих зернівок. Кожна проба повинна становити не менше 30 проростків.

Ці ж проростки використовують для аналізу біохімічних показників за протоколами, описаними у розділі 2.

## **2. МЕТОДИКА СУПУТНИХ БІОХІМІЧНИХ АНАЛІЗІВ**

Паралельно з визначенням показників, що відображають схожість насіння і ріст проростків на ранніх фазах проводять аналіз показників, що відображають метаболізацію запасних вуглеводів зернівок (активність амілази у зернівках, вміст розчинних вуглеводів у пагонах) та стан антиоксидантної системи (генерація АФК, накопичення продукту ПОЛІ МДА, активність антиоксидантних ферментів, вміст деяких низькомолекулярних антиоксидантів.

### **2.1. Визначення активності амілази в зернівках і вмісту розчинних вуглеводів у пагонах проростків**

**2.1.1. Активність амілази.** Загальну активність амілази доцільно визначають у зернівках на 1 і 2 добу від моменту замочування насіння за кількістю відновних цукрів, що утворюються в результаті гідролізу крохмалю (Goldstein, Jennings, 1975; Fawzi, El-Fouly, 1979). Наважку зернівок (500 мг) гомогенізують в 0.2 М ацетатному буфері (рН 5.6), гомогенат центрифугують при 8000 g протягом 15 хв за температури не вище 4°C, відділяють супернатант і розбавляють у необхідну кількість разів тим самим буфером та використовують для аналізу. Витяжку ферменту змішують з 5 мл 2% розчину крохмалю та інкубують в термостаті протягом 30 хв при 25°C, після чого реакцію зупиняють шляхом осадження білків додаванням 0.1 мл 10% ацетату свинцю і 0.1 мл 16% сульфату натрію. У контрольні проби ці сполуки додають до внесення до них крохмалю. Вміст відновних цукрів у кожній пробі (включно з контролем з інактивованим ферментом) визначають за реакцією з реактивом Фелінга. Після додавання 5 мл реактиву Фелінга проби нагрівають на киплячій водяній бані протягом 10 хв, охолоджують і центрифугують 10 хв при 6000 g. Оптичну густину супернатанту визначають на спектрофотометрі за довжини хвилі 670 нм. Як стандарт використовують D-мальтозу.

**2.1.2. Розчинні вуглеводи.** Розчинні вуглеводи, які утворюються за метаболізації крохмалю, що міститься в зернівці, використовуються як метаболіти і джерело енергії, що необхідно для росту проростка. Крім того,

відомо, що цукрам властиві й антиоксидантні властивості, зумовлені здатністю зв'язувати вільні радикали.

Показник вмісту розчинних вуглеводів у рослин, що зазнають дії стресорів, є важливою характеристикою їх адаптації. Найбільш простим і популярним протягом кількох десятиліть методом визначення сумарного вмісту цукрів є метод з використанням антронового реактиву, з яким цукри утворюють синє забарвлення. Використання методу потребує видалення розчинних білків з досліджуваної суміші, для чого використовують відповідні солі-осаджувачі.

*Протокол аналізу.* Цукри екстрагують з наважки (орієнтовно 200-300 мг) рослинного матеріалу дистильованою водою (орієнтовно 10 мл) при 10-хвилинному нагріванні на киплячій водяній бані. Освітлення екстракту проводять додаванням в пробірки однакових об'ємів (зазвичай 0,2 мл) 30% розчину сульфату цинку і 15% розчину жовтої кров'яної солі —  $K_4[Fe(CN)_6]$ . Проби фільтрують через паперовий фільтр. За необхідності фільтрат перед вимірюваннями розбавляють дистильованою водою в кілька разів. У реакційні пробірки вносять 2,25 мл антронового реактиву (готується розчиненням 0,5 г антрону в 100 мл концентрованої сірчаної кислоти) і 0,75 мл фільтрату, в контрольну пробу замість фільтрату вносять дистильовану воду. Після цього проби нагрівають протягом 7 хв на киплячій водяній бані, після чого перед вимірюванням охолоджують до кімнатної температури. Світлопоглинання визначають відносно розчину порівняння при 610 нм. Як стандарт для підготовки калібрувального графіка використовують D-глюкозу.

## **2.2. Показники генерації активних форм кисню та пероксидного окиснення ліпідів**

Під терміном АФК розуміють сукупність реакційноздатних форм кисню, що взаємно перетворюються, більшість з яких існує короткий час (від наносекунд до сотень секунд). Серед них виділяють вільнорадикальні частинки – супероксидний аніон-радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ), гідроксильний ( $\cdot OH$ ) та гідропероксильний ( $HO_2^{\cdot}$ ) та ін., а також нейтральні молекули, такі як пероксид водню ( $H_2O_2$ ), синглетний кисень ( $^1O_2$ ) та ін. (Gill, Tuteja, 2010). Баланс між утворенням та утилізацією АФК жорстко регулюється великою мережею генів, що активуються за дії стресорів.

Генерація АФК у рослин відбувається у клітинних стінках, плазматичній мембрані, хлоропластах, мітохондріях, пероксисомах та, ймовірно, в інших компартментах. У зернівках та етіолованих проростках основним джерелом АФК вважаються мітохондрії.

Мітохондрії містять велику кількість переносників електронів. Окиснювально-відновний потенціал тих з них, які утворюють початкові та середні ділянки ланцюга, часто виявляється негативнішим, ніж  $-0,3$  В (потенціал пари  $O_2/O_2^{\cdot-}$ ). Це означає, що випадкова взаємодія даних переносників з молекулярним киснем може призвести до одноелектронного відновлення  $O_2$  до  $O_2^{\cdot-}$ . Швидкість генерації АФО у мітохондріях залежить насамперед від ступеня відновленості електронно-транспортного ланцюга та мембранного потенціалу. Дисипація мембранного потенціалу відбувається при окиснювальному фосфорилуванні АДФ. Тому, якщо в мітохондріях достатньо АДФ і він активно фосфорилується, дисипація протонного градієнта знижує мембранний потенціал та ймовірність генерації  $O_2^{\cdot-}$ .

Регуляторна та ушкоджувальна дія АФК реалізується шляхом їх взаємодії з ліпідами, білками та ДНК. АФО є ініціаторами ПОЛ, вільнорадикального окиснення поліненасичених жирних кислот.

Відомо, що при неконтрольованому накопиченні в клітинах АФО, порушенні систем їх знешкодження відбувається розвиток окиснювального стресу, що призводить до порушення редокс-регуляції, а в кінцевому підсумку може спричиняти руйнування біомакромолекул і мембранних структур. Саме через це антиоксидантна система вважається однією з ключових стрес-протекторних систем живих організмів.

Маркерами розвитку окиснювального стресу у рослинних клітинах вважають показники генерації супероксидного аніон-радикала, вмісту пероксиду водню і одного з кінцевих продуктів ПОЛ малонового діальдегіду (МДА). Останній показник є найбільш стабільним і найчастіше використовується саме для характеристики окиснювальних пошкоджень.

**2.2.1. Визначення генерації супероксидного аніон-радикала органами проростків злаків.** Через дуже короткий термін життя супероксидного аніон-радикала віддають перевагу визначенню не статичного його вмісту, а генерації тканинами *in vivo*, застосовуючи методи неруйнівного контролю. Суть одного з таких методів полягає у перетворенні нітросинього тетразолію на формазан зі специфічним бузковим забарвленням. При зануренні коренів, пагонів або цілих проростків у розчин з нітросинім тетразолієм відбувається вказане перетворення (Kolupaev et al., 2013). Для посилення ефекту в інкубаційний розчин додають детергент (зазвичай Тритон Х-100). Через певний час після занурення зразків візуально відзначають інтенсивність їх забарвлення та спектрофотометрично абсорбцію інкубаційного розчину.

*Протокол аналізу.* Для аналізу генерації супероксидного радикала клітинами пагонів злаків по 10 пагонів однакового розміру поміщають на 1 год бюкси з 5 мл 0,1 М К, Na-фосфатного буферу (рН 7,6) з додаванням 0,05% нітросинього тетразолію, 10 мкМ ЕДТА та 0,1% Тритону X-100. Після закінчення експозиції пагони обережно вилучають з бюксів та вимірюють на спектрофотометрі абсорбцію інкубаційного розчину за довжини хвилі 530 нм.

При визначенні генерації супероксидного аніон-радикала клітинами коренів необхідно враховувати їх високу чутливість до механічного подразнення, яке призводить до активації АФК-сигналіngu і, відповідно, тимчасового посилення генерації АФК. В бюкси поміщають цілі інтактні проростки так, щоб зануреними у розчин були лише корені. Через 20 хв проростки обережно дістають з інкубаційного розчину і вимірюють його абсорбцію при 530 нм. Результати виражають у відносних одиницях.

### **2.2.2. Визначення вмісту пероксиду водню у рослинному матеріалі.**

Одним з простих методів визначення вмісту пероксиду водню у рослинних зразках є феритіоціанатний метод (Sagisaka, 1976). Його суть полягає в окисненні  $Fe^{2+}$  до  $Fe^{3+}$  пероксидом водню з наступним визначенням абсорбції розчину тіоціанату заліза  $Fe(SCN)_3$ .

*Протокол аналізу.* Для визначення вмісту пероксиду водню пагони або корені проростків на холоді гомогенізують в 5% розчині трихлороцтової кислоти (ТХО), зазвичай співвідношення становить 0,3 г рослинного матеріалу на 10 мл екстрагенту. Проби центрифугують при 8000 g протягом 10 хв за температури 2–4° С і в супернатанті визначають концентрацію  $H_2O_2$ . Для цього в реакційні пробірки вносять по 0,5 мл 2,5 М тіоціанату амонію, додають 0,5 мл 50% ТХО, 1,5 мл супернатанту рослинного матеріалу та 0,5 мл розчину солі Мора (сульфат заліза (II) — амонію в концентрації 4 мг/мл). У контрольну пробу вносять ті ж самі реактиви за винятком солі Мора. Замість неї в контрольні зразки вносять 0,5 мл дистильованої води. Вимірювання проводять за довжини хвилі 480 нм. Як стандарт використовують  $H_2O_2$ . Результати виражають у нмоль/г сирової речовини.

### **2.2.3. Визначення вмісту 2-тіобарбітурат-активних продуктів ПОЛ у рослинному матеріалі.** Основною сполукою, що реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою (2-ТБК) кислотою, є МДА, що вважається одним з кінцевих продуктів ПОЛ.

МДА здатний ушкоджувати мембрани і ДНК. Підвищений вміст МДА є маркером розвитку окиснювального стресу. При використанні прийомів,

що дозволяють підвищувати стійкість рослин до дії стресорів, вміст МДА може служити тестом на ефективність обраного способу. У біохімічних дослідженнях найчастіше використовують метод, в основі якого здатність МДА реагувати з 2-ТБК, утворюючи забарвлений продукт, кількість якого можна виміряти за абсорбцією при 532 нм. При цьому зазвичай від основного результату вимірювань віднімають величину, виміряну при 600 нм (неспецифічне поглинання, пов'язане з наявністю розчинних вуглеводів).

*Протокол аналізу.* Наважку рослинного матеріалу масою 300 мг гомогенізувати в 10 мл реакційного середовища, що містить 0,25% 2-тіобарбітурову кислоту в 10% ТХО, гомогенат в пробірках, закритих ковпачками з фольги, помістити в киплячу баню на 30 хв. Потім проби охолодити і центрифугувати 15 хв при 10000 g. Абсорбцію надосадової рідини визначити на спектрофотометрі при 532 нм (максимум світлопоглинання малонового діальдегіду) та 600 нм (для поправки на неспецифічне світлопоглинання). Розрахунок проводять за формулою:

$$X = (A_{532} - A_{600}) \cdot V \text{ екстр.} / k \cdot m,$$

де  $X$  – вміст МДА (мкмоль/г),  $A_{532}$  та  $A_{600}$ , абсорбція досліджуваного розчину за відповідних довжин хвиль,  $V$  екстр. - об'єм екстрагенту (мл);  $k$  – коефіцієнт молярної екстинкції МДА, 156 мМ/см,  $m$  – маса зразка для екстракції, г.

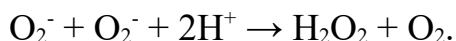
### **2.3. Основні показники стану антиоксидантної системи**

#### **2.3.1. Визначення активності антиоксидантних ферментів.**

Антиоксидантні ферменти є обов'язковими учасниками захисної відповіді рослин на дію стресових чинників. Оскільки проростання насіння супроводжується зростанням генерації АФО, активність антиоксидантних ферментів може бути критично важливою для регуляції гомеостазу в клітинах проростків. Ми розглянемо лише прості і доступні методи визначення активності ключових антиоксидантних ферментів.

**2.3.1.1. Супероксиддисмутаза (СОД).** СОД (КФ 1.15.1.11) є ключовим ферментом антиоксидантного захисту та виконує роль первинного рубежу у захисті клітин проти АФО (Alscher et al., 2002). Таку функцію СОД пов'язують з тим, що, елімінуючи супероксидні радикали, цей фермент опосередковано зменшує ймовірність утворення гідроксильних радикалів, синглетного кисню, пероксинітриту та інших АФО, які через високу реакційну здатність не можуть бути видалені білковими каталізаторами.

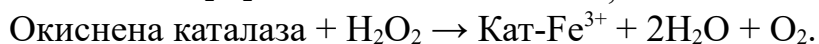
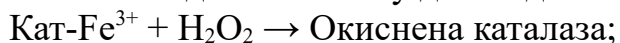
СОД каталізує реакцію диспропорціонування супероксидних аніон-радикалів до молекулярного кисню та пероксиду водню з коефіцієнтом  $10^4$  за рівнянням:



*Протокол аналізу.* Наважку ( $\approx 300$  мг) коренів або пагонів інтактних проростків гомогенізують в 0,15 М К/Na-фосфатному буфері (рН 7,8) з додаванням 1 мМ дитіотреїтолу, 100 мкМ ЕДТА і 0,5 мМ фенілметилсульфонілфториду в ДМСО. Гомогенат центрифугують на холоді протягом 15 хв при 10000 г.

У реакційну кювету вносять 2,25 мл приготованого на 0,15 М К/Na-фосфатному буфері (рН 7,8) реактиву, що містить ЕДТА (62 мкг/мл), нітротетразолій синій (0,5 мкг/мл), феназинметосульфат (92 мкг/мл), додають 0,75 мл супернатанту і 0,3 мл розчину НАДН (760 мкг/мл), приготованого на Трис-ЕДТА-буфері (37 мг ЕДТА, 24 мг Трис розчиняють в колбі на 100 мл і доводять рН до 8,0). У контрольну кювету вносять ті ж реактиви, але фермент попередньо інактивують десятихвилинним прогрівом порції супернатанту у киплячій водянній бані. Контрольну і дослідну кювети після змішування реактивів і вимірювання вихідної величини абсорбції за довжини хвилі 530 нм інкубують 5 хв у темряві і далі знову вимірюють абсорбцію. Активність ферменту виражають в умовних одиницях (різниця величин зміни абсорбції контрольної і дослідної проб віднесена до грама наважки або міліграма білка за хв).

**2.3.1.2. Каталаза.** Каталаза (КФ 1.11.1.6) є гемовмісним ферментом з Мг близько 250 кДа, що каталізує розкладання  $\text{H}_2\text{O}_2$  на воду і молекулярний кисень. Каталаза локалізована переважно в пероксисомах і гліоксисомах, її специфічна форма виявлена також у мітохондріях. Розкладання пероксиду водню каталазою здійснюється у дві стадії:



У тварин виявлено лише одну ізоформу каталази, що кодується одним геном. У той самий час у рослинах присутні різні ізоформи ферменту, кодовані генним сімейством.

Одним з простих методів визначення активності каталази є метод, в основі якого пряме спектрофотометричне визначення зменшення вмісту пероксиду водню, що розкладається в реакційній суміші під впливом каталази (Аєбі, 1984).

*Протокол аналізу.* Рослинний матеріал (300 мг) гомогенізують в ступці на льоду, екстракцію проводять 0,05 М К/Na-фосфатним буфером (рН

7,8) з додаванням 1 мМ дитіотреїтолу, 100 мкМ ЕДТА і 0,5 мМ фенілметилсульфонілфториду в ДМСО. Суспензію центрифугують при 10000 g протягом 20 хв за температури 4°C.

Супернатант переносять в кювети, які встановлюють в спектрофотометрі. Як контрольний розчин порівняння використовують вихідний буфер. Безпосередньо перед вимірюванням в реакційну суміш додають 0,1 мл 0,1 М пероксиду водню. Динаміку змін світлопоглинання реєструють за довжини хвилі 240 нм протягом 3 хв.

Як стандарт використовують пероксид водню з відомими концентраціями, концентрацію пероксиду водню у дослідних пробах знаходять на основі даних калібрувального графіка. Активність ферменту виражають в мкмоль пероксиду водню на г рослинного матеріалу або на мг білка за хв.

**2.3.1.3. Неспецифічна пероксидаза.** Пероксидази класу III, або так звані "класичні" (неспецифічні) пероксидази (КФ 1.11.1.7), належать до мультифункціональних ферментів (Kolupaev et al., 2020). Неспецифічні пероксидази є гемовмісними глікопротеїнами. Їхня простетична група – протогематин IX складається з протопорфірину IX та іона  $Fe^{3+}$ .

Залежно від характеру локалізації в рослинних клітинах розрізняють розчинні (які містяться у вакуолях і цитоплазмі), іонноsv'язані (локалізовані в мембранах і клітинній стінці) і ковалентно пов'язані (перебувають в основному в клітинній стінці) форми пероксидази, кожна з яких представлена численними молекулярними формами.

Поряд з антиоксидантною функцією, пероксидазна система бере участь у забезпеченні перебігу багатьох інших реакцій, у яких пероксид водню використовується як окисник. Пероксидази також можуть проявляти оксидазну активність з передачею електронів від відновників (наприклад, НАДН) на молекулярний кисень (Chen, Schopfer, 1999). За такої дії пероксидази утворюються супероксидний аніон-радикал і пероксид водню. Вважається, що найбільшу кількість супероксиду і, як наслідок,  $H_2O_2$  може генерувати пероксидаза клітинних стінок. У той же час для розчинних пероксидаз класу III більш характерні антиоксидантні функції. Такі форми пероксидази локалізуються переважно у цитоплазмі та вакуолях. Як відновники вони можуть використовувати різні сполуки, зокрема, феноли. Активність розчинних пероксидаз вважається одним з показників стану антиоксидантної системи.

*Протокол аналізу.* Рослинний матеріал гомогенізують в 0,05 М К/Na-фосфатному буфері (рН 7,8) з додаванням 1 мМ дитіотреїтолу, 100 мкМ ЕДТА і 0,5 мМ фенілметилсульфонілфториду в ДМСО. Гомогенат

центрифугують на холоді протягом 15 хв при 8000 g. Аліквоту гомогенату (0,5 мл) змішують з 4,5 мл 0,1 М /Na-фосфатного буферу (рН 6,2) і безпосередньо використовують для аналізу (пропорції у цій суміші можна створювати різні, залежно від активності ферменту). В фотометричну кювету об'ємом 5 мл вносять 0,75 мл 0,07% розчину гваяколу, 0,75 мл 0,1 М К/Na-фосфатного буферу (рН 6,2), 2,25 мл проби, що містить фермент. Після цього ставлять кювету в кюветне відділення фотометра і вносять 0,75 мл 0,15% пероксиду водню, почавши відлік часу. Результати вимірювань екстинкції при 470 нм фіксують, починаючи з 40 с через кожні 20 с протягом 2 хв.

Результати розраховують за формулою:

$$E = ((D_2 - D_1) \cdot V \cdot \text{екстракту} \cdot V \text{ кювети} \cdot P) / (V_{\text{ан}} \cdot m \cdot t),$$

де  $D_2 - D_1$  абсорбція через 120 і 60 секунд від початку вимірювань,  $V \cdot \text{екстракту}$  - об'єм буферу, взятого для екстракції ферменту,  $V \text{ кювети}$  - загальний об'єм рідини в кюветі,  $P$  - кратність розбавлення ферментного екстракту перед вимірюванням,  $V_{\text{ан}}$  - об'єм ферментного екстракту, внесений в кювету для аналізу;  $m$  - маса наважки (г) або вміст білка в наважці (мг),  $t$  - час (хв).

### 2.3.2. Визначення вмісту фенольних і флавоноїдних сполук

Фенольні сполуки - речовини ароматичної природи, що містять одну або декілька гідроксильних груп. Особливістю природних фенолів є формування величезної кількості сполук за рахунок модифікацій молекул і утворення кон'югатів з різноманітними речовинами. Класифікують фенольні сполуки залежно від числа ароматичних кілець і кількості приєднаних до них атомів вуглецю. Зазвичай фенольні сполуки поділяють на три великі підгрупи: з одним ароматичним кільцем, з двома ароматичними кільцями і полімерні фенольні сполуки.

Незважаючи на те, що природні фенольні сполуки об'єднують не менше ніж 10 різних груп, а кожна з них включає сотні й навіть тисячі (флавоноїди) індивідуальних сполук, вони мають біогенетичну спорідненість. Зумовлено це тим, що основний структурний елемент - бензольне ядро з фенольним гідроксилом - у багатьох фенольних сполук утворюється шикікатним шляхом. Після утворення L-фенілаланіну та L-тирозину, побудова бензольного ядра завершується, а з L-фенілаланіну синтезується п-гідроксикорична (п-кумарова) кислота, яка з біогенетичної точки зору є найпростішою фенольною сполукою. п-Кумарова кислота, в свою чергу, виступає як родоначальник більшості природних фенолів.

Надалі біосинтез полікетометиленових попередників другого бензольного ядра флавоноїдів відбувається ацетатно-малонатним шляхом. п-

Кумарова кислота вступає в реакцію з активованими молекулами малонової кислоти – малоніл – КоА, а до аліфатичного ланцюга приєднуються ацетатні фрагменти. Таким чином утворюється друге бензольне ядро 15-вуглецевого скелету флавоноїдів. На основі такої структури, спочатку утворюється найпростіший флавоноїд – халкон, у якого відсутній гетероцикл. Халкон перетворюється на ізомерну форму – флаванон. Більшість флавоноїдів синтезується із флаванону.

Усі флавоноїди тією чи іншою мірою беруть участь у антиоксидантному захисті клітин. Відповідно до загальноприйнятої точки зору, антиоксидантні властивості флавоноїдів пояснюються їх здатністю служити пастками для вільних радикалів, а також хелатувати іони металів, що беруть участь у радикальних процесах (Es-Safi et al., 2007).

У порівняльних експериментах отримані дані про дуже високу антиоксидантну активність флавоноїдів, що багато в чому перевершує активність інших АО. Так, показано, що ефективність взаємодії флавоноїдів з АФК та активними формами азоту в чотири рази вища, ніж у аскорбінової кислоти та  $\alpha$ -токоферолу (Khlestkina et al., 2013). Окремо слід відзначити високу антиоксидантну активність антоціанів, здатних ефективно деактивувати супероксидні аніон-радикали (Neill, Gould, 2003).

Існують прості оптичні методи визначення загального вмісту фенольних сполук та окремо представників деяких класів. Нижче наводяться протоколи визначення загального вмісту фенольних сполук та окремо антоціанів і безбарвних флавоноїдів, що поглинають в області УФ-В.

*Протокол аналізу.* Для вилучення фенольних і флавоноїдних сполук наважку рослинного матеріалу (200-300 мг) розтирають в 10 мл 80% етанолу, залишають для екстракції на 20 хв при кімнатній температурі, після чого фільтрують. В реакційні пробірки вносять 0,5 мл фільтрату, 8 мл дистильованої води і 0,5 мл реактиву Фоліна, перемішують і через 3 хв додають 1 мл 10% карбонату натрію. Через 1 год вимірюють абсорбцію розчину при 725 нм відносно набору реактивів без рослинного матеріалу. Як стандарти використовують галову або хлорогенову кислоти.

Для визначення вмісту антоціанів і флавоноїдів, що поглинають в області УФ-В, до 5 мл спиртового екстракту, отриманого за прописом, описаним вище, додають 0,15 мл концентрованої НСІ і визначають світлопоглинання отриманого розчину при 530 нм (для антоціанів) та 300 нм (для безбарвних флавоноїдів, що поглинають в області УФ-В) (Nogués, Baker, 2000). Результати виражають в умовних одиницях оптичної густини, віднесених до маси рослинного матеріалу.

### **3. ПРИКЛАДИ ДОСЛІДЖЕНЬ ВПЛИВУ ПРАЙМУВАЛЬНИХ АГЕНТІВ НА ПРОРОСТАННЯ СТАРОГО НАСІННЯ ЗЛАКІВ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ**

#### **3.1. Дослідження впливу гідропраймінгу та обробки мелатоніном на проростання старих зернівок жита і тритикале (за матеріалами публікації: Kolupaev et al., 2024)**

Серед рослинних антиоксидантів останнім часом особлива увага приділяється мелатоніну (N-ацетил-5-метокситриптаміну). Ця сполука розглядається не тільки як антиоксидант, а й вважається плеiotропною сигнальною молекулою, яка відіграє важливу роль у регуляції відповідей живих організмів на дію різних стресових факторів (Buttar et al., 2020). Отримано дані про позитивний вплив мелатоніну на процеси проростання старіючого насіння вівса (Yan et al., 2020), кукурудзи (Deng et al., 2017; Su et al., 2018) та різних видів бобових (Yu et al., 2021). Також у низці досліджень показано посилення під впливом мелатоніну проростання насіння різних сільськогосподарських культур при дії несприятливих факторів, зокрема, осмотичного та сольового стресів (Jiang et al., 2016; Li et al., 2020; Guo et al., 2022), важких металів (Wang et al., 2022).

Насіння жита, а також міжродового гібриду жита та пшениці тритикале належить до чутливих до дії несприятливих факторів (Hong, Ellis, 1996). Наприклад, зародки насіння жита особливо чутливі до зміни вологості, що може викликати у них фрагментацію мембран (Sargent et al., 1981).

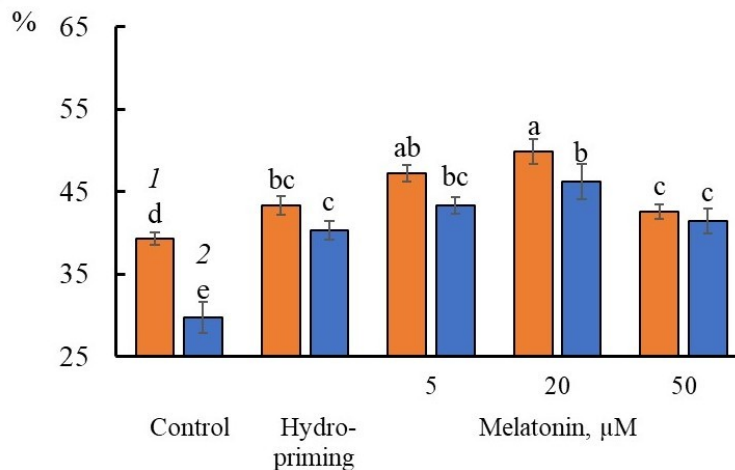
Однак вплив праймінгу мелатоніном на проростання старого насіння тритикале та жита та стан їх стрес-протекторних систем досі спеціально не досліджувався. Зважаючи на це, було проведено оцінку впливу обробки мелатоніном на проростання насіння тритикале та жита з низькою схожістю та стан антиоксидантної системи проростків. Як референсний вплив, що підвищує схожість насіння, в роботі використовували гідропраймінг.

Для експериментів використовували насіння тритикале озимого × *Triticosecale* сорту Раритет та жита озимого (*Secale cereale*) сорту Пам'ять Худоєрко (оригінатор обох сортів — Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України) генерації 2020 року. Протягом трьох років насіння зберігалось в приміщенні в неконтрольованих умовах (у літній період температура періодично досягала 30-32 °С, а в зимовий період опускалося до -6 ... -8 °С, а відносна вологість повітря під час зберігання неодноразово змінювалася від 25- 30 до 80-85%. Внаслідок цього схожість насіння за 3 роки зберігання знизилася приблизно до 40% у тритикале та 30% у жита.

Насіння дослідних варіантів знезаражували розчином гіпохлориту

натрію, як описано в 2.1. Потім частину насіння протягом 3 год витримували в хімічних стаканах з дистильованою водою (гідропраймінг). У варіантах з обробкою мелатоніном насіння витримували протягом 3 годин у розчинах мелатоніну в концентраціях 5, 20 та 50 мкМ у темному термостаті при 24°C. Потім насіння, піддане гідропраймінгу або обробці мелатоніном, висушували в термостаті при температурі 24°C вологості повітря 40% протягом двох діб. Після цього насіння розкладали в чашки Петрі з двома шарами фільтрувального стерильного паперу, зволоженою дистильованою водою, і пророщували в темному термостаті при температурі 24°C протягом 3 діб. Насіння контрольного варіанту знезаражували 3% розчином натрію гіпохлориту протягом 15 хв безпосередньо перед пророщуванням.

*Схожість насіння тритикале та жита.* Схожість насіння тритикале та жита у контролі була низькою і становила 39.3 та 29.7%, відповідно (рис. 1). Гідропраймінг спричиняв підвищення схожості насіння обох культур. Обробка мелатоніном викликала ще більш суттєве збільшення кількості нормально пророслого насіння. Найбільший позитивний ефект спостерігали при праймінгу насіння розчином мелатоніну концентрації 20 мкМ для обох видів злаків (рис. 1).



**Рис. 1.** Вплив праймінгу мелатоніном та гідропраймінгу на проростання насіння (%) тритикале (1) та жита (2). Однаковими латинськими літерами позначені величини, різниця між якими не вірогідна при  $P \leq 0.05$ .

*Біомаса органів проростків тритикале та жита.* Гідропраймінг спричиняв значне підвищення біомаси пагонів в обох видів злаків. Праймінг насіння тритикале мелатоніном у всіх досліджуваних концентраціях викликав більш суттєве збільшення біомаси пагонів у порівнянні з гідропраймінгом (табл. 1). Для жита значиме при  $P \leq 0.05$  підвищення біомаси пагонів

зафіксовано у варіантах з використанням мелатоніну в концентраціях 20 та 50 мкМ.

**Таблиця 1. Вплив праймінгу мелатоніном та гідропраймінгу на біомасу пагонів, коренів і цілих проростків тритикале і жита**

Варіант	Маса пагона, мг	Маса коренів, мг	Маса цілого проростка, мг
<i>× Triticosecale</i> (сорт Паритет)			
Контроль	8.65±0.20 c	21.8±0.7 b	30.1±1.6 d
Гідропраймінг	11.2±0.33 b	22.9±0.3 b	34.1±1.6 c
Мелатонін, 5 мкМ	13.3±0.59 a	23.3±0.4 ab	36.6±0.9 b
Мелатонін, 20 мкМ	14.2±0.47 a	24.6±1.0 a	38.8±1.9 a
Мелатонін, 50 мкМ	13.2±0.64 a	22.8±0.5 b	36.0±0.6 b
<i>Secale cereale</i> (сорт Пам'ять Худоєрка)			
Контроль	7.55±0.24 d	12.5±1.7 e	20.1±2.3 g
Гідропраймінг	8.70±0.12 c	15.3±0.5 d	24.0±0.7 f
Мелатонін, 5 мкМ	8.90±0.07 c	15.9±2.0 d	24.8±2.8 ef
Мелатонін, 20 мкМ	11.0±0.28 b	20.9±2.1 c	31.9±2.5 d
Мелатонін, 50 мкМ	10.4±0.60 b	15.8±0.4 d	26.2±0.3 e
НІР <sub>0.05</sub>	0.97	1.6	1.9

Примітка. Тут і далі однаковими латинськими літерами позначені величини, різниця між якими не вірогідна при  $P \leq 0.05$ .

Під впливом гідропраймінгу маса коренів суттєво збільшувалася лише у жита (табл. 1). Праймінг насіння жита мелатоніном у концентрації 20 мкМ викликав підвищення біомаси коренів значиме порівняно з контролем та варіантом з гідропраймінгом. Така ж концентрація мелатоніну (20 мкМ) була ефективною і для росту коренів у проростків тритикале (табл. 1).

При оцінці впливу гідропраймінгу та праймінгу насіння мелатоніном на біомасу проростків в цілому можна констатувати значне підвищення цього показника у проростків обох видів злаків при всіх способах передпосівної обробки. При цьому праймінг насіння тритикале мелатоніном у всіх використовуваних концентраціях викликав ефекти, значно більші в порівнянні з гідропраймінгом. У той же час вплив праймінгу насіння жита мелатоніном на загальну біомасу проростків жита суттєво відрізнявся від

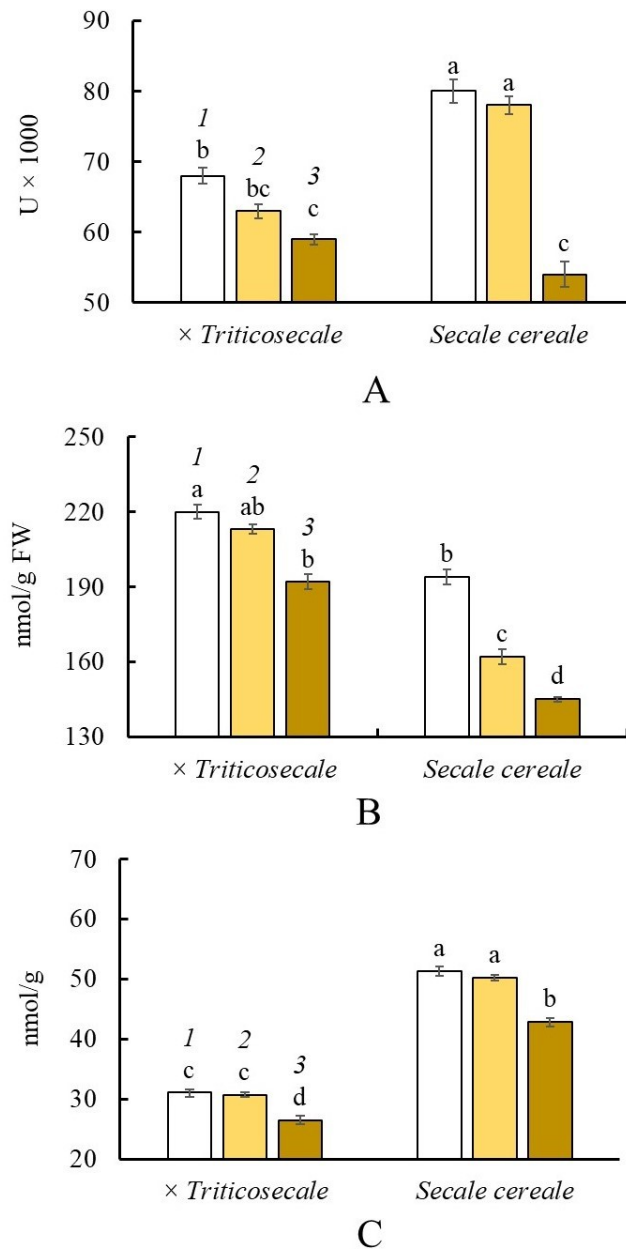
впливу гідропраймінгу при використанні концентрацій 20 та 50 мкМ, але не 5 мкМ (табл. 1). В цілому ж вплив мелатоніну в концентрації 20 мкМ був найбільш ефективним як на схожість насіння, так і на формування проростків з насіння, що нормально проросло, для обох видів злаків (рис. 2).



**Рис. 2.** Стан 3-добових проростків тритикале і жита, отриманих зі старого насіння

*Генерація АФК та рівень ПОЛ у проростках.* Проростки двох видів злаків відрізнялися за базовим рівнем генерації супероксидного аніон-радикала, у жита цей показник виявився вищим, ніж у тритикале (рис. 3А). У пагонах проростків, отриманих з насіння, підданого гідропраймінгу, генерація  $O_2^-$  значно не відрізнялася від контролю в обох культур. У той же час у проростків тритикале і жита, вирощених з насіння праймованого мелатоніном, генерація супероксидного аніон-радикала виявилася на 13 і 32% нижчою, ніж у відповідних контрольних варіантах (рис. 3А).

Вміст пероксиду водню в пагонах проростків жита у варіанті з гідропраймінгом було значно нижчим, ніж у контролі, в той же час у тритикале такий ефект виявлявся слабо (рис. 3В). Обробка насіння мелатоніном викликала зниження вмісту пероксиду водню в пагонах проростків обох видів.

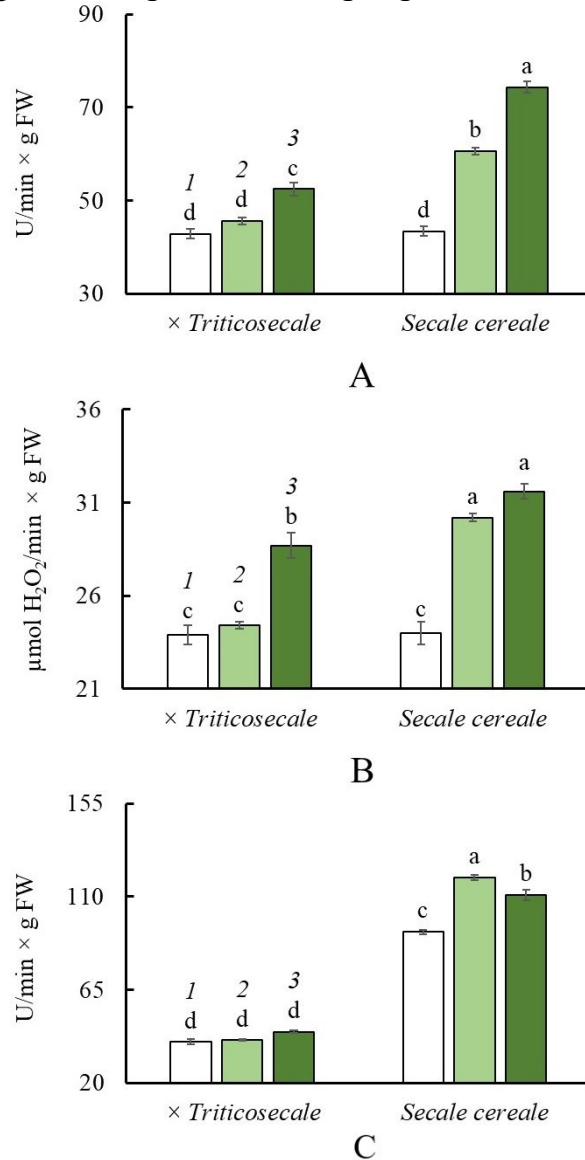


**Рис. 3.** Генерація супероксидного аніон-радикала (А), вміст пероксиду водню (В) і МДА (С) у пагонах проростків тритикале і жита. 1 — контроль; 2 — гідропраймінг; 3 — мелатонін (20мкМ).

Вміст продукту ПОЛ МДА вищим виявився у проростків жита (рис. 3С). Гідропраймінг не впливав на цей показник у обох видів злаків. У той же час обробка насіння мелатоніном спричиняла значне зниження вмісту МДА у проростках тритикале та жита (рис. 3С).

*Активність антиоксидантних ферментів у пагонах проростків*

тритикале і жита. Активність СОД у пагонах проростків обох видів істотно не відрізнялася (рис. 4А). Під впливом гідропраймінгу вона не змінювалася у тритикале, але підвищувалася у жита. В обох видів злаків у проростках, вирощених із насіння, оброблених мелатоніном, активність ферменту була вищою, ніж у контролі та варіантах з гідропраймінгом.



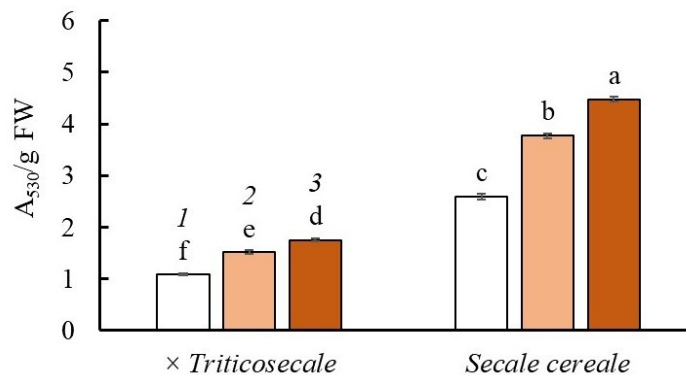
**Рис. 4.** Активність СОД (А), каталази (В) і гваяколпероксидази (С) у проростках тритикале і жита. 1 — контроль; 2 — гідропраймінг; 3 — мелатонін (20мкМ).

Активність каталази в пагонах проростків тритикале та жита контрольних варіантів, як і активність СОД, не відрізнялася (рис. 4В). Під впливом гідропраймінгу вона не змінювалася у тритикале, але збільшувалася у жита. Праймінг насіння тритикале мелатоніном спричиняв підвищення

активності каталази щодо контролю та варіанта з гідропраймінгом. У той же час у жита у варіанті з мелатоніном активність ферменту була приблизно такою самою, як у варіанті з гідропраймінгом.

Активність гваяколпероксидази у контрольних варіантах у жита була більш ніж у 2 рази вищою, ніж у тритикале (рис. 4С). Гідропраймінг не істотно впливав на активність ферменту у тритикале, але викликав її підвищення в пагонах проростків жита. Обробка мелатоніном спричиняла значне підвищення активності гваяколпероксидази у тритикале. У проростків жита праймінг мелатоніном також спричиняв підвищення активності ферменту, проте цей ефект був менш помітним порівняно з гідропраймінгом.

*Вміст антоціанів у пагонах проростків.* Проростки жита відрізнялися значно вищим вмістом антоціанів у контрольному варіанті порівняно з проростками тритикале (рис. 5). Під впливом гідропраймінгу цей показник збільшувався в обох видів злаків. Ще більш істотне підвищення вмісту антоціанів у пагонах як проростків тритикале, так і жита, спостерігалось у варіанті з праймінгом мелатоніном.



**Рис. 5.** Вміст антоціанів у проростках тритикале і жита. 1 — контроль; 2 — гідропраймінг; 3 — мелатонін (20мкМ).

Таким чином, дослідження показали істотне посилення проростання насіння тритикале та жита з порушеною схожістю та росту проростків під впливом праймінгу мелатоніном. При цьому ефекти обробки мелатоніном значно перевершували вплив гідропраймінгу, який вважається одним із найпростіших способів підвищення схожості насіння різних сільськогосподарських культур і використовується як референсний варіант при оцінці ефективності інших прийомів індукування проростання насіння (Paparrella et al., 2015; Waqas et al., 2019).

Слід зазначити, що прояв будь-якої фізіологічної активності мелатоніну

на рослинах тритикале та жита раніше майже не вивчався. У той же час здатність мелатоніну індукувати проростання насіння, у тому числі має низьку схожість, показано на ряді інших видів рослин (Dawood, 2018). Так, праймінг мелатоніном підвищував схожість насіння вівса, яка була попередньо знижена шляхом прискореного старіння, що викликається тривалою дією високої температури (Yan et al., 2020). При цьому обробка мелатоніном зменшувала показники окислювального стресу (вміст  $H_2O_2$  та МДА) і усувала зниження активності СОД, каталази, аскорбатпероксидази та глутатіонредуктази у зародках насіння, спричинюване старінням. Подібні результати були отримані і в експериментах з насінням кукурудзи, схожість яких була порушена короточасним впливом температури  $70^{\circ}C$  та підвищеної вологості (Deng et al., 2017). У цій роботі також зафіксовано позитивний вплив мелатоніну на активність СОД та каталази. Обробка насіння рису мелатоніном збільшувала їх схожість, сприяла посиленому росту рослин на ранніх фазах розвитку, а також підвищувала загальну продуктивність рослин у ході онтогенезу (Tuagi et al., 2023).

У деяких дослідженнях показаний позитивний вплив обробки мелатоніном на проростання насіння різних видів рослин (кукурудза, пшениця, соя) у несприятливих умовах (Jiang et al., 2016; Li et al., 2020; Awan et al., 2023).

Наведені вище результати дозволяють віднести тритикале та жито до видів, чутливих до дії мелатоніну. Дія мелатоніну значно перевершувала ефекти гідропраймінгу насіння, який також підвищував їх схожість. Однією з причин підвищення схожості насіння тритикале та жита під впливом мелатоніну може бути пом'якшення окислювального стресу, що супроводжує проростання насіння. На це вказує зменшення генерації супероксидного аніон-радикала та вмісту пероксиду водню та МДА у проростках, а також підвищення в них активності антиоксидантних ферментів та вмісту антоціанів, відомих потужною антиоксидантною дією.

### **3.2. Вплив ГАМК на проростання старих зернівок пшениці і тритикале (за матеріалами: Шахов та ін., 2024)**

В останні роки зріс інтерес до функцій у рослин такого стресового метаболіту, як гамма-аміномасляна кислота (ГАМК). У людини і тварин вона виконує функцію нейромедіатора гальмівного типу. Відомо, що ГАМК має власну антиоксидантну та антирадикальну активність (Kozeko et al., 2024). Також її стрес-протекторну дію пов'язують з підтриманням пулу відновників за рахунок активації ГАМК-шунту (Vor, Turkan, 2019). Крім того, останнім

часом отримано експериментальні докази залучення ГАМК у сигнальні процеси за участю АФО та іонів кальцію, які призводять до активації ферментативної антиоксидантної системи (Jin et al., 2019; Kolupaev et al., 2024b). Досить давно показаний і позитивний зв'язок між кількістю ендогенної ГАМК, активністю ферментів її синтезу і метаболізму у зернівках та їх здатністю до проростання (Galleschi, Floris, 1978). Встановлено, що праймінг ГАМК насіння гарбуза лікарського (*Cucurbita pepo* subsp. *Pepo*. Convar. *Pepo* var. *styriaca* Greb), яке піддавалося штучному старінню, перешкоджав зниженню у ньому вмісту ненасичених і поліненасичених жирних кислот. В кінцевому підсумку процедура праймінгу ГАМК сприяла збереженню життєздатності насіння *C. pepo* (Afshari, Seyyedi, 2020). У низці досліджень показаний позитивний вплив праймінгу насіння різних видів культурних рослин ГАМК на проростання за несприятливих умов. Наприклад, встановлено, що праймінг насіння рису сприяв його проростанню за умов осмотичного стресу, створюваного ПЕГ, та засолення (Sheteiwy et al., 2019). Цей ефект супроводжувався зростанням у проростках вмісту транскриптів і активності антиоксидантних ферментів та ензимів метаболізму фенолів. Обробка ГАМК насіння конюшини білої (*Trifolium repens* L.) зменшувала спричинюване осмотичним стресом зниження ендогенного вмісту цієї амінокислоти та схожості насіння (Zhou et al., 2021). Виявлено також, що гідропраймінг зернівок пшениці у поєднанні з дією ультразвуку підвищував енергію проростання і схожість з одночасним посиленням процесів синтезу і метаболізму ГАМК (Samarah Nezar et al., 2023). Разом з тим, дотепер залишався не дослідженим вплив праймінгу екзогенною ГАМК на проростання старіючих зернівок пшениці, незважаючи на поширеність і продовольчу важливість цього злаку. Так само відсутні відомості про вплив праймінгу ГАМК на зернівки тритикале — гібридного виду, отриманого схрещуванням пшениці і жита, що поєднує в собі цінні властивості харчової та кормової культури, проте вирізняється досить швидким зниженням схожості насіння при зберіганні в неоптимальних умовах (Kolupaev et al., 2024a).

У зв'язку з викладеним, було досліджено вплив праймінгу ГАМК на проростання зернівок пшениці (*Triticum aestivum* L.) і тритикале (*× Triticosecale* Wittmack), що зазнали природного старіння, та дії ГАМК на основні маркери стану антиоксидантної системи під час формування проростків.

*Вплив ГАМК на енергію проростання і схожість зернівок пшениці і жита.* Для експериментів використовували насіння м'якої озимої пшениці сорту Scorpion (Чехія, Австрія) і тритикале озимого сорту Раритет (Україна)

генерації 2020 року. Пшениця Scorpion має блакитні зернівки з підвищеним вмістом поліфенольних сполук (Martinek et al., 2013). Водночас повідомляється, що насіння цього сорту навіть при правильному зберіганні легко всихає, зморщується, що призводить і до зниження його схожості (Martinek et al., 2013). Насіння тритикале сорту Раритет, як уже зазначалося, після зберігання протягом кількох років також помітно втрачає схожість (Kolupaev et al., 2024a). Перед проведенням експериментів насіння пшениці і тритикале протягом трьох років зберігалось в приміщенні в неконтрольованих умовах (у літній період температура періодично досягала 30-32°C, а в зимовий — опускалася до -6 ... -8°C; відносна вологість повітря під час зберігання неодноразово змінювалася від 25-30 до 80-85%).

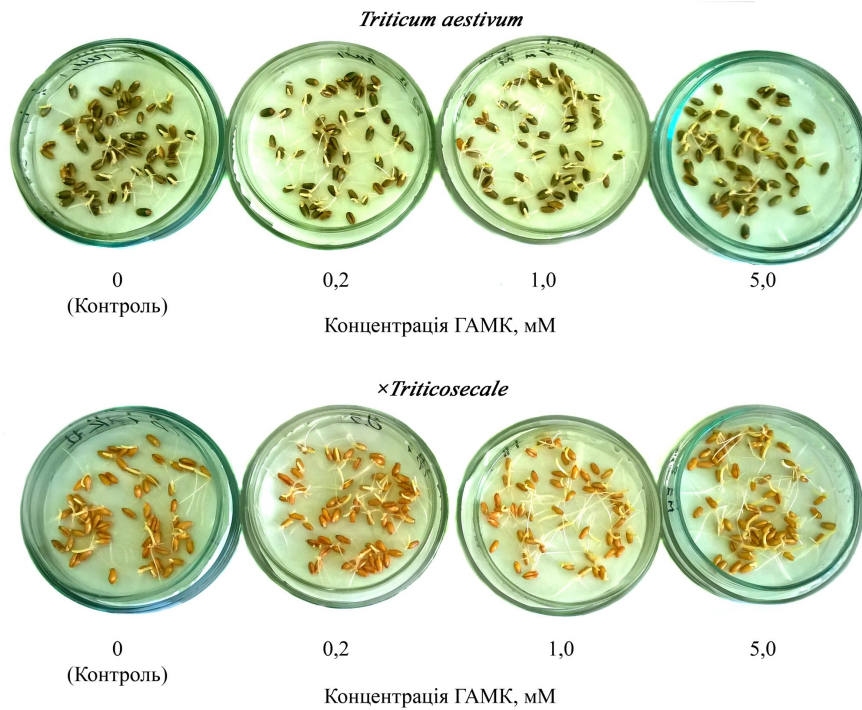
Насіння усіх варіантів дослідів незаражували 5% розчином гіпохлориту натрію протягом 15 хв і восьмиразово промивали стерильною дистильованою водою. Потім частину насіння протягом 3 год витримували в склянках з дистильованою водою (гідропраймінг). Як показано раніше, гідропраймінг дещо підвищує (приблизно в межах 10%) схожість насіння (Kolupaev et al., 2024a). Зважаючи на це, контролем вважали саме варіант з гідропраймінгом. У варіантах з обробкою ГАМК насіння витримували протягом 3 год у її розчинах в концентраціях 0,2; 1 і 5 мМ у темному термостаті за 24°C.

Праймінг зернівок ГАМК в концентраціях 0,2, 1 і 5 мМ спричиняв підвищення енергії проростання і схожості насіння пшениці і тритикале (рис. 6, 7). Проте значиме при  $p \leq 0,05$  зростання цих показників спостерігали тільки для концентрації ГАМК 1 мМ. Хоча ефекти 0,2 і 5 мМ ГАМК відзначалися на рівні стійкої тенденції (рис. 7А).

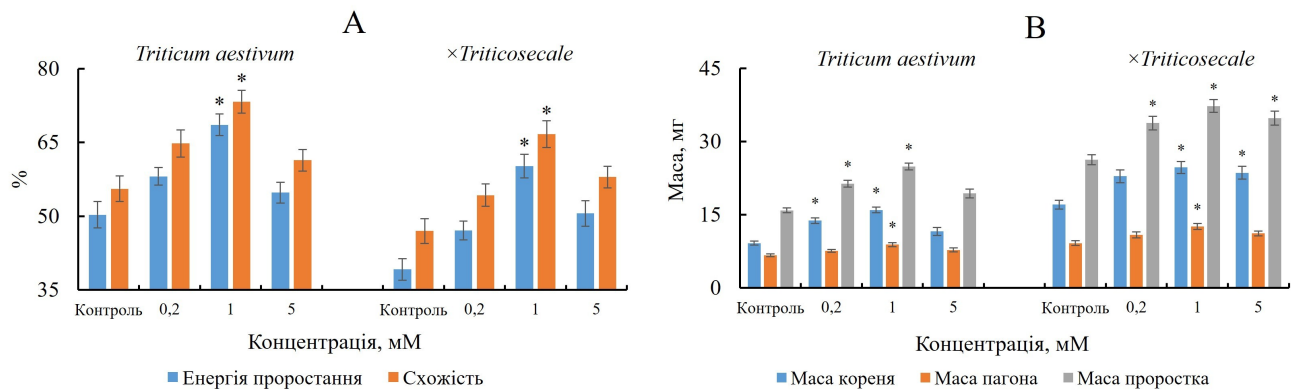
Праймінг насіння пшениці ГАМК в концентраціях 0,2 і 1 мМ посилював накопичення біомаси коренів проростків (рис. 7В). При підвищенні концентрації ГАМК до 5 мМ її ефекти зменшувалися. Також за обробки насіння ГАМК підвищувалася біомаса пагонів проростків пшениці. Проте значимий при  $p \leq 0,05$  ефект спостерігали тільки для концентрації 1 мМ. Такі зміни позначилися і на величинах загальної біомаси проростків пшениці. Достовірно цей показник зростав при використанні концентрацій 0,2 і 1 мМ.

У проростків тритикале показники накопичення біомаси коренів вірогідно зростали за дії 1 і 5 мМ ГАМК (рис. 7В). Водночас зростання біомаси пагонів було достовірним лише для концентрації ГАМК 1 мМ. Проте при порівнянні з контролем величин біомаси цілих проростків ефекти виявилися значимими при  $p \leq 0,05$  для всіх трьох досліджуваних концентрацій. Однак найбільш помітний ефект спостерігали за концентрації 1

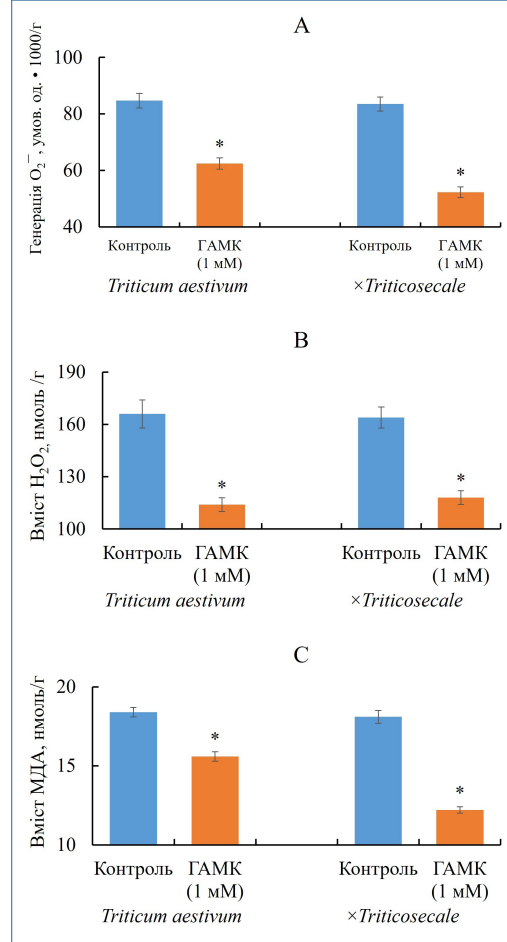
мМ.



**Рис. 6.** Проростання зернівок пшениці і тритикале через 48 год перебування на вологому папері



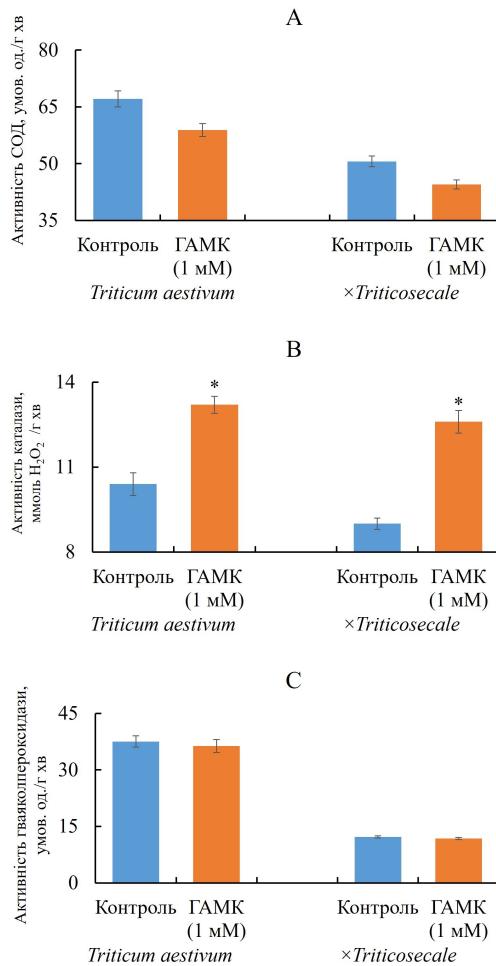
**Рис. 7.** Концентраційна залежність впливу праймінгу ГАМК на енергію проростання, схожість насіння (А) та біомасу органів проростків пшениці і тритикале (В).



**Рис. 8.** Генерация супероксидного анион-радикала (А), вміст гідроген пероксиду (В) і маленового діальдегіду (С) у пагонах проростків пшениці і тритикале.

Генерація АФО і вміст МДА у пагонах проростків пшениці і тритикале. Обробка насіння ГАМК спричиняла зниження генерації супероксидного анион-радикала пагонами обох видів злаків (рис. 8А). Поряд з цим під впливом ГАМК відзначалося зменшення вмісту гідроген пероксиду у пагонах проростків пшениці і тритикале (рис. 8В). Так само у проростків пшениці і тритикале, вирощених із зернівок, праймованих ГАМК, знижувався вміст продукту ПОЛ МДА (рис. 8С).

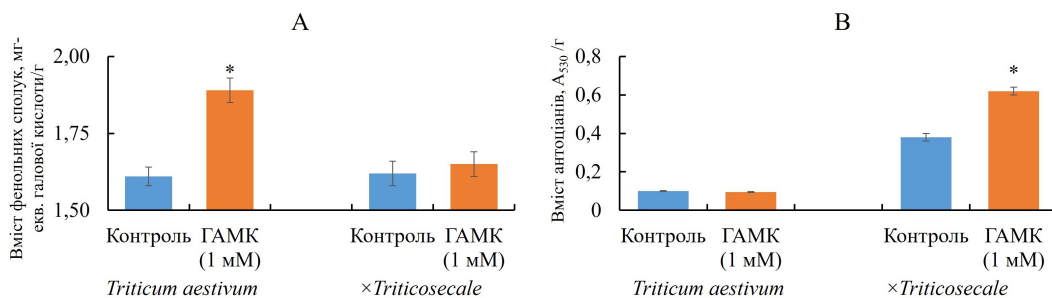
Активність антиоксидантних ферментів у пагонах проростків пшениці і тритикале. Праймінг зернівок ГАМК істотно не впливав на активність СОД у пагонах проростків пшениці і тритикале, хоча при цьому відзначалася тенденція до деякого зниження активності ферменту (рис. 9А). Водночас у пагонах проростків як пшениці, так і тритикале зафіксовано значне підвищення активності каталази (рис. 9В). Активність іншого ферменту, задіяного у регуляції вмісту гідроген пероксиду — гваяколпероксидази, за обробки зернівок ГАМК в обох видів злаків залишалася без істотних змін (рис. 9С).



**Рис. 9.** Активність СОД (А) , каталази (В) і гваяколпероксидази (С) у пагонах проростків пшениці і тритикале.

*Вміст вторинних метаболітів у пагонах проростків пшениці і тритикале.* Праймінг зернівок пшениці ГАМК спричиняв помітне підвищення загального вмісту фенольних сполук (рис. 10А). Водночас обробка зернівок ГАМК не позначилась на такому ж показнику у тритикале.

Протилежний характер змін спостерігали при визначенні вмісту антоціанів у пагонах проростків за праймінгу зернівок 1 мМ ГАМК. Обробка насіння ГАМК не впливала на вміст антоціанів у пагонах проростків пшениці. Проте у проростках тритикале спостерігали істотне (майже дворазове) збільшення вмісту антоціанів за обробки зернівок 1 мМ ГАМК (рис. 10В).



**Рис. 10.** Вміст фенольних сполук (А) і антоціанів (В) у пагонах проростків пшениці і тритикале

Отримані результати свідчать, що праймінг зернівок пшениці і тритикале, які мають знижені посівні якості через тривале зберігання у несприятливих умовах, спричиняє підвищення схожості та енергії проростання. Також у проростках, отриманих з насіння, праймованого ГАМК, спостерігалися вищі порівняно з контролем (гідропраймінг) показники біомаси коренів і пагонів (рис. 6, 7).

В експериментах, результати яких наведено вище, принаймні однією з причин підвищення схожості і накопичення біомаси проростками за впливу ГАМК можна вважати зменшення під її впливом інтенсивності розвитку окиснювального стресу. Зокрема, у проростків пшениці і тритикале, отриманих з праймованого насіння, знижувалися величини генерації супероксидного аніон-радикала та вмісту гідроген пероксиду і МДА (рис. 8). Це може бути пов'язане як зі зменшенням генерації АФО, так і з підвищенням активності антиоксидантних ферментів. Проте зниження вмісту  $O_2^{\cdot-}$  не супроводжувалося підвищенням активності СОД (рис. 9). Зважаючи на це, можна припустити, що істотний внесок у знешкодження супероксидного аніон-радикала робили низькомолекулярні антиоксиданти, зокрема, вторинні метаболіти. У проростках пшениці в наших експериментах спостерігалося підвищення загальної кількості фенольних сполук, а у тритикале — вмісту однієї з груп флавоноїдних сполук — антоціанів (рис. 10). Ці вторинні метаболіти можуть ефективно знешкоджувати АФО, передусім їх радикальні форми, у тому числі супероксидний аніон-радикал (Neill, Gould, 2003). Таким чином, ймовірно, що під впливом ГАМК зменшувалось утворення супероксидного аніон-радикала і водночас посилювалося знешкодження низькомолекулярними антиоксидантами фенольної або поліфенольної природи. Проте зменшення вмісту гідроген пероксиду у проростках пшениці і тритикале за обробки насіння ГАМК може бути зумовлене зростанням активності каталази (рис. 9). При цьому активність гваколпероксидази у пагонах двох досліджуваних видів злаків за умов наших експериментів під впливом праймінгу насіння ГАМК не змінювалася. Відомо, що неспецифічна пероксидаза (гваяколпероксидаза) може не тільки знешкоджувати АФО, а й

брати участь в генерації супероксидного радикала і гідроген пероксиду, тобто виявляти прооксидантні ефекти (Kolupaev, Karpets, 2014). Через це підвищення активності пероксидази не завжди є ознакою активації антиоксидантних процесів. Натомість каталаза ефективно виконує саме функції зі знешкодження високих концентрацій  $H_2O_2$  (Scandalios, 1997).

Обговорюючи наведені результати, не можна виключити також, що ГАМК при поглинанні зернівками здатна діяти і як безпосередній антиоксидант. Її антиоксидантні властивості описані в літературі. Зокрема, досить давно в системі *in vitro* була показана її здатність ефективно зв'язувати одну з найбільш агресивних АФО — гідроксильний радикал (Smirnoff, Cumbes, 1989), який знешкоджується тільки неферментативними антиоксидантами. Ще один механізм запобігання розвитку окиснювального стресу за обробки насіння ГАМК може бути зумовлений активацією реакцій ГАМК-шунту. За умов стресу може відбуватися інгібування циклу трикарбонових кислот, що призводить до порушення дихання та накопичення АФО (Bouche et al., 2003). Оскільки ГАМК-шунт здатний постачати відновники НАДН або сукцинат, то він може компенсувати спричинювані стресом порушення в циклі трикарбонових кислот. Завдяки цьому ГАМК-шунт допомагає зберегти роботу дихального ланцюга та запобігти надмірному утворенню АФО під час стресу (Kolupaev et al., 2024).

Проростання зернівок істотно залежить від синтезу ендогенної ГАМК. Відомо, що чинники, які сприяють підвищенню проростання насіння (наприклад, вплив гідропраймінгу та ультразвуку), можуть посилювати активність та експресію гена глутаматдекарбоксилази і, як наслідок, накопичення ендогенної ГАМК (Samarah Nezar et al., 2023). Підвищення схожості насіння томатів, спричинюване обробкою вуглецевими нановолокнами, супроводжувалось збільшенням вмісту ендогенної ГАМК та підвищенням активності ферментів її синтезу (Alquraan et al., 2021). Також повідомляється, що і процес проростання насіння за звичайних умов супроводжується зростанням вмісту ГАМК (Baranzelli et al., 2018). Водночас зафіксовано підвищення вмісту ендогенної ГАМК у насінні кукурудзи, ячменю, томатів, білої конюшини за праймінгу ГАМК (Kumar et al., 2021). Не виключено, що відносно пролонговані ефекти екзогенної обробки ГАМК пов'язані саме з активацією її ендогенного синтезу. Підвищення вмісту ендогенної ГАМК за впливу теплового стресу у поєднанні з дією екзогенної ГАМК показано також у сочевиці (*Lens culinaris Medik.*) (Bhardwaj et al., 2021).

Таким чином, праймінг старих зернівок пшениці і тритикале ГАМК істотно підвищував енергію проростання, схожість насіння та ріст

проростків. Однією з причин підвищення схожості насіння досліджуваних злаків під впливом ГАМК може бути пом'якшення окиснювального стресу, що супроводжує проростання. На це вказує зменшення генерації супероксидного аніон-радикала та вмісту пероксиду водню і МДА у проростках. Ймовірно, цей ефект зумовлений менш інтенсивним стохастичним утворенням АФО за обробки ГАМК та посиленням під її впливом функціонування окремих складових антиоксидантної системи, зокрема, підвищенням активності каталази у обох видів злаків, зростанням загального вмісту фенольних речовин у пшениці і антоціанів у тритикале. Отже, праймінг зернівок злаків ГАМК може бути ефективним біотехнологічним прийомом для посилення їх проростання.

### **3.3. Посилення проростання старих зернівок пшениці і тритикале праймінгом донором H<sub>2</sub>S гідросульфідом натрію (за матеріалами: Yastreb et al., 2024)**

Нині H<sub>2</sub>S вважається однією з ключових сигнальних молекул-газотрансмітерів не тільки в клітинах тварин, але і рослин (Li et al., 2016; Pandey, Gautam, 2020). Отримано відомості про його участь у регуляції базових функцій рослинного організму: ростових процесів, дозрівання та старіння плодів, проростання насіння та адаптації до дії стресорів різної природи (Zhang et al., 2011; Zhang, 2016; Kolupaev et al., 2022). Сигнальні ефекти гідроген сульфід, що зумовлюють його участь у ключових фізіологічних процесах різних груп організмів, пов'язані з посттрансляційною модифікацією (ПТМ) цільових білків, а саме їх персульфидуванням – перетворенням цистеїн-тіолової групи (-SH) у відповідний персульфід (-S) (Bhadwal et al., 2024). Зокрема, цистеїн-персульфід (CysSSH), персульфід глутатіону (GSSH) та пероксиредоксини визнані ключовими редокс-регуляторами (Aroca et al., 2018).

Для підвищення швидкості та однорідності проростання насіння у звичайних та несприятливих умовах в останні десятиліття використовуються технології праймінгу, складовими яких можуть бути впливи на насіння =сигнальних молекул. До останніх належить і сірководень (Bhadwal et al., 2022; Nilal et al., 2024). Так, показано, що праймінг насіння тютюну розчинами донорам сірководню NaHS сприяв їх проростанню в нормальних умовах та посилював зростання проростків (Dai et al., 2024). При цьому відзначалося підвищення у проростках активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази (СОД) та каталази, а також посилення синтезу ендогенного сірководню. У ряді робіт під дією сірководню показано нормалізацію проростання насіння в стресових умовах. Наприклад, обробка

насіння пшениці NaHS посилювала їх проростання, а також пом'якшувала прояв окислювального стресу в умовах токсичної дії міді (Zhang et al., 2008). У роботі Zhou та ін. (2018) праймінг насіння кукурудзи NaHS збільшував відсоток схожості та розміри проростків за дії високої температури. Також обробка донором сірководню стимулювала ферментативну та неферментативну антиоксидантну систему та накопичення осмолітів у проростках кукурудзи. Позитивний вплив донорів сірководню на проростання насіння пшениці також пов'язують із підвищенням активності амілази та естерази, що сприяє мобілізації запасних полімерів зерновок (Zhang et al., 2010). Проте, відомості про вплив екзогенного H<sub>2</sub>S на проростання насіння різних видів менш однозначні. Наприклад, зафіксовано відсутність впливу H<sub>2</sub>S на проростання насіння арабідопсису в нормальних умовах (Vaudouin et al., 2016). При обробці газоподібним H<sub>2</sub>S в оптимальних умовах показано підвищення енергії проростання насіння гороху, квасолі, кукурудзи, але не пшениці (Dooley et al., 2013).

Як уже зазначалося, окрему проблему становить посилення проростання старого насіння, насамперед через дисбаланс між утворенням АФО та їх знешкодженням антиоксидантною системою (Zhang et al., 2021), що може бути причиною окиснювальних пошкоджень структур проростка, що формується (Kurek et., 2019).

У зв'язку з викладеним досліджено вплив праймінгу донором H<sub>2</sub>S гідросульфідом натрію на проростання насіння пшениці та тритикале, що зазнавало старінню та зв'язок фізіологічних ефектів H<sub>2</sub>S зі змінами метаболізму вуглеводів та стану антиоксидантної системи.

У роботі використано насіння м'якої пшениці озимої (*Triticum aestivum*) сорту Scorpion та тритикале озимого ( $\times$  *Triticosecale*) сорту Паритет (Україна) генерації 2020 року. Характеристика цих сортів наведена у розділі 3.2. Перед проведенням експериментів насіння пшениці та тритикале протягом чотирьох років зберігалось в приміщенні в неконтрольованих умовах (у літній період температура періодично досягала 30-32°C, а в зимовий - опускалася до -6...-8°C; відносна вологість повітря у час зберігання неодноразово змінювалося від 25-30 до 80-85%, що призвело до значного зниження схожості. Методика знезараження насіння описана у розділі 2. У варіантах з обробкою донором сірководню насіння витримували протягом 3 годин у щільно закритих стаканчиках з розчинами NaHS в концентраціях 0.2, 0.5, 1, 2 та 5 мМ. Контрольні зразки витримували протягом 3 год у дистильованій воді (гідропраймінг). Після закінчення експозиції насіння протягом доби висушували в термостаті при температурі 24°C вологості повітря близько 40%. Після цього зернівки пророщували у чашках Петрі на двох шарах

зволоженого фільтрувального паперу в термостаті при температурі 24°C протягом 3 діб.

Оцінку активності амілази в зернівках проводили і на першу, і на другу добу проростання. Крім того, у пагонах дводобових проростків визначали сумарний вміст цукрів. Показники генерації АФО, активності антиоксидантних ферментів та вмісту вторинних метаболітів визначали у пагонах 3-добових проростків. Відповідні методики описано у розділі 2.

*Вплив донора H<sub>2</sub>S на проростання зерновок пшениці та тритикале та ріст проростків.* Праймінг насіння пшениці NaHS у концентраціях діапазону 0.2-2 мМ викликав значиме за  $P \leq 0.05$  підвищення схожості насіння (табл. 2). Максимальний ефект спостерігали при використанні концентрацій 0.5 та 1 мМ. У той же час під дією 5 мМ NaHS відбувалося помітне пригнічення проростання насіння пшениці. Позитивний вплив донора H<sub>2</sub>S на схожість насіння тритикале виявлявся у всьому досліджуваному діапазоні: від 0.2 до 5 мМ з максимумом при використанні концентрації 1 мМ.

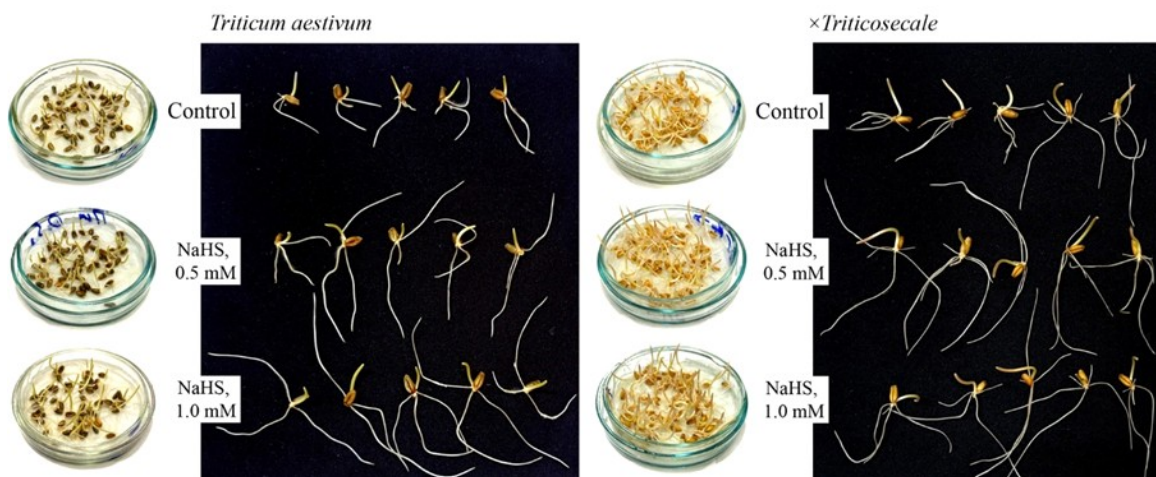
Таблиця 2. Концентраційна залежність впливу праймінгу зерновок пшениці і тритикале донором H<sub>2</sub>S на їх проростання та біомасу проростків

Варіант	Проростання насіння, %	Маса пагона (мг)	Маса кореня (мг)	Маса проростка (мг)
<i>Triticum aestivum L.</i>				
Контроль	38.6±1.8 g	18.1±0.6 d	10.5±0.4 e	28.6±0.9 e
NaHS (0.2 мМ)	44.0±1.0 f	19.5±0.7 cd	11.9±0.9 e	31.3±1.5 e
NaHS (0.5 мМ)	50.2±1.8 e	24.2±0.7 b	13.8±0.3 d	38.0±0.3 d
NaHS (1.0 мМ)	50.0±1.2 e	23.9±1.2 b	14.7±0.7 d	38.6±1.0 cd
NaHS (2.0 мМ)	42.7±1.2 f	22.8±0.9 b	14.3±0.8 de	37.1±1.6 d
NaHS (5.0 мМ)	30.8±1.4 h	12.6±0.7 e	8.1±0.4 f	20.7±0.8 f
<i>×Triticosecale</i>				
Контроль	55.7±2.2 d	20.9±0.8 c	20.3±1.1 c	41.2±0.3 c
NaHS (0.2 мМ)	60.2±1.2 c	23.6±0.6 b	22.8±0.7 b	47.9±2.5 b
NaHS (0.5 мМ)	65.7±1.2 b	29.0±0.9 a	24.1±0.4 a	53.8±1.0 a
NaHS (1.0 мМ)	76.7±1.8 a	28.4±0.8 a	25.0±1.2 a	53.4±0.4 a
NaHS (2.0 мМ)	67.0±2.0 b	27.7±1.0 a	20.2±0.7 c	47.7±1.5 b
NaHS (5.0 мМ)	65.1±1.7 b	19.8±1.0 cd	19.3±0.3 c	39.1±1.2 cd

Примітка. \*Різними латинськими літерами позначені величини, різниця між якими вірогідна при  $P \leq 0.05$

Обробка насіння пшениці донором сірководню в концентраціях 0.5, 1 та 2 мМ посилювала накопичення біомаси коренів (табл. 2). Однак вища

концентрація NaHS (5 мМ) пригнічувала ріст коренів. У проростків тритикале підвищення накопичення біомаси коріння спостерігали при використанні гідросульфїду натрію в концентраціях від 0.5 до 2 мМ. При цьому концентрації 0.2 і 5 мМ не мали значного впливу на ріст коренів тритикале.



**Рис. 11.** Стан 2-добових проростків пшениці і тритикале за дії донора гідроген сульфїду

Праймінг насіння пшениці NaHS у концентраціях 0.5, 1 та 2 мМ помітно посилював накопичення біомаси пагонів (табл. 2). Найменша концентрація донора сірководню (0.2 мМ) не чинила істотного впливу на ріс пагонів, а найвища із використовуваних концентрацій (5 мМ) викликала інгібування накопичення біомаси пагонів проростків пшениці. У проростків тритикале значне посилення накопичення біомаси пагонів спостерігали при праймінгу насіння NaHS у концентраціях 0.5 та 1 мМ. Вплив нижчих і вищих концентрацій донора  $H_2S$  був несуттєвим (табл. 2).

Показник загальної біомаси проростків пшениці підвищувався під впливом праймінгу насіння NaHS у концентраціях 0.5, 1 та 2 мМ. Ефекти 0.2 мМ NaHS були несуттєвими, а обробка насіння 5 мМ гідросульфїдом натрію негативно позначалася на накопиченні загальної біомаси проростів пшениці (табл. 2). Позитивний вплив обробки насіння тритикале NaHS на накопичення загальної біомаси проростків виявлявся у ширшому діапазоні (від 0.2 до 2 мМ). Вища концентрація NaHS (5 мМ) не мала значного впливу на загальну біомасу проростків тритикале.

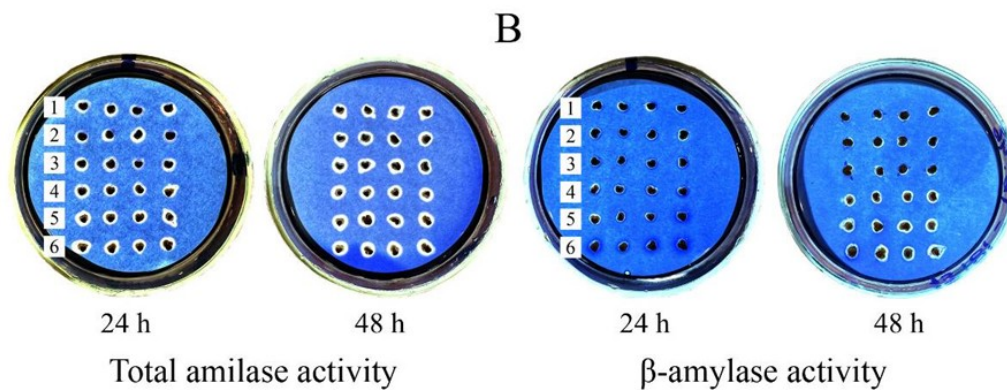
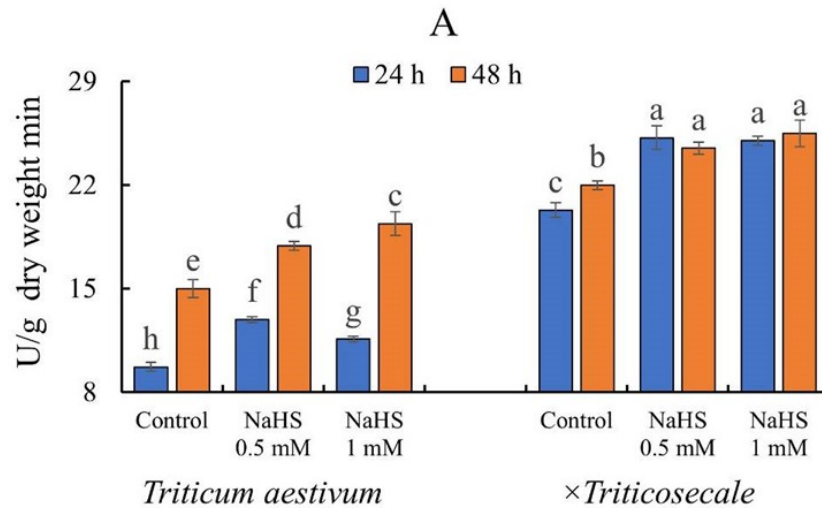
Загалом найбільш істотний позитивний вплив на показники схожості насіння та росту проростків пшениці та тритикале чинила обробка NaHS у концентраціях 0.5 та 1 мМ (рис. 11). Примітно, що підвищення концентрації NaHS до 5 мМ призводило до зниження схожості та інгібування росту

проростків пшениці, але не тритикале (таблиця). У наступних експериментах при оцінці впливу праймінгу насіння донором сірководню на показники вуглеводного обміну, генерації ROS та функціонування антиоксидантної системи для обох видів злаків NaHS використовували в концентраціях 0.5 та 1 мМ.

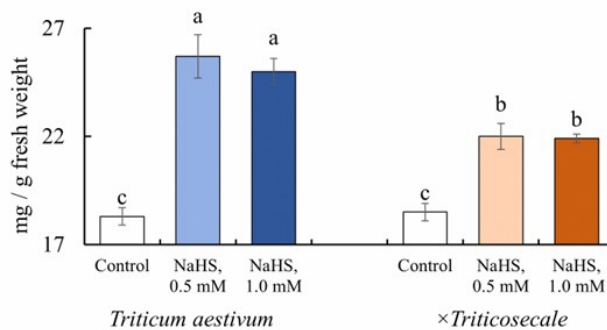
*Вплив праймінгу донором сірководню на активність амілази та вміст цукрів у зернівках пшениці та тритикале.* Загальна активність амілази в зернівках тритикале після 24 і 48 год проростання виявилася вищою, ніж у зернівках пшениці (рис. 12А). При цьому у пшениці через 48 год пророщування насіння активність амілази помітно підвищувалася порівняно з величинами, зафіксованими через 24 год від початку проростання. У тритикале величини активності через 48 год проростання мало відрізнялися від зафіксованих через 24 год. Обробка насіння 0.5 і 1 мМ NaHS призводила до підвищення активності ферменту в проростках обох видів. Такий ефект спостерігався як через 24 години, так і через 48 годин від моменту пророщування насіння, проте наприкінці першої доби спостережень відмінності між варіантами були більш суттєвими.

Активність  $\beta$ -амілази через 24 години пророщування насіння пшениці та тритикале проявлялася слабо. Однак через 48 годин відбувалося підвищення її активності, особливо помітне у тритикале (рис. 12В). При цьому обробка донором сірководню сприяла виявленню більш високої активності  $\beta$ -амілази. Такий ефект добре візуалізувався у тритикале, а у пшениці виявлявся слабше.

Кількість цукрів у пагонах 2-добових проростків пшениці та тритикале контрольних варіантів була практично однаковою (рис. 13). Під впливом 0.5 та 1 мМ NaHS у пагонах проростків пшениці відзначалося суттєве (на 40 та 37%, відповідно) підвищення вмісту розчинних вуглеводів. Такий самий характер ефектів спостерігався при обробці донором сірководню насіння тритикале. Однак у цьому випадку збільшення загальної кількості розчинних вуглеводів перевищувало величини контролю менш ніж на 20%, хоч і було значущим при  $P \leq 0.05$  (рис. 13).



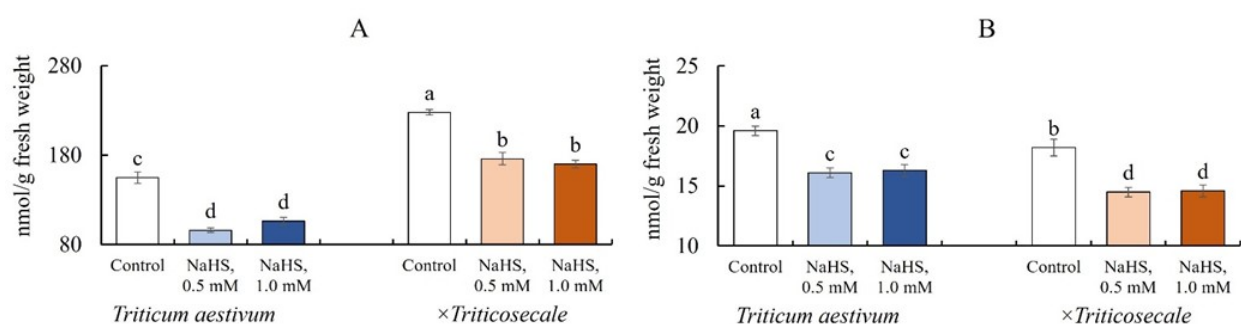
**Рис. 12.** Вплив донора гідроген сульфїду на активнїсть амїлази в зернївках пшеницї тритикале. А – загальна активнїсть амїлази, визначена спектрофотометричним методом; В – вїзуалїзацїя прояву загальної активнїсть амїлази та активнїсть β-амїлази у зернївках пшеницї (1-3) і тритикале (4-6): 1, 4 – контроль; 2, 5 – NaHS (0.5 mM); 3, 6 – NaHS (1 mM). Рїзними латинськими лїтерами позначенї величини, рїзниця мїж якими вїрогїдна при  $P \leq 0.05$ .



**Рис. 13.** Вмїст розчинних вуглеводїв у пагонах проросткїв пшеницї і тритикале. Рїзними латинськими лїтерами позначенї величини, рїзниця мїж якими вїрогїдна при  $P \leq 0.05$ .

Вміст пероксиду водню та МДА у пагонах проростків пшениці і тритикале. Кількість пероксиду водню у контролі в пагонах тритикале була вищою, ніж у пагонах проростків пшениці (рис. 14А). Попередня обробка насіння донором сірководню в концентраціях 0.5 та 1 мМ суттєво знижувала вміст пероксиду водню в пагонах проростків пшениці. Дещо меншим, але цілком значимим було зниження вмісту пероксиду водню в пагонах проростків тритикале, вирощених із насіння, обробленого донором сірководню.

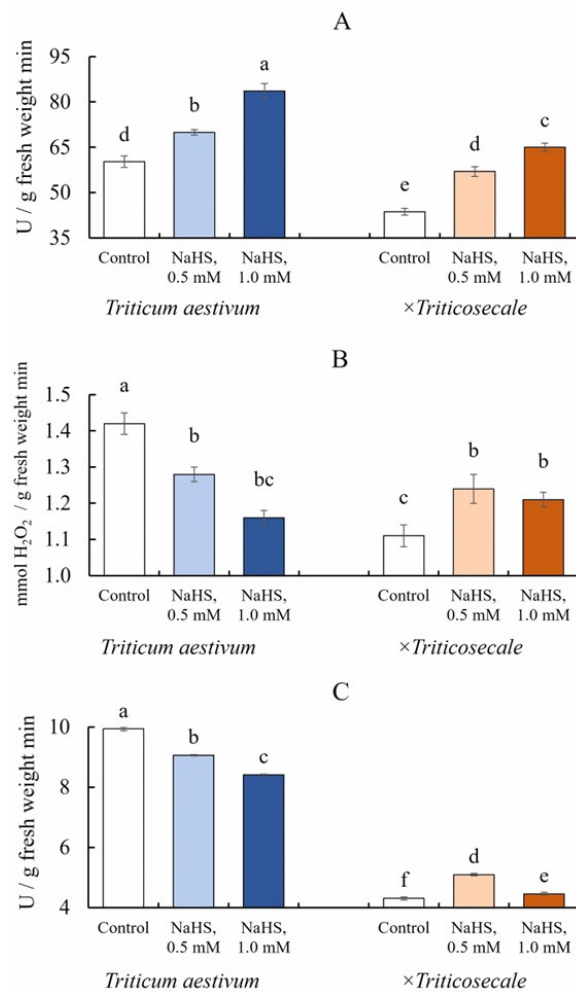
Вміст продукту ПОЛ МДА у пагонах проростків пшениці був вищим, ніж у проростках тритикале (рис. 14В). Обробка NaHS насіння як пшениці, так і тритикале помітно (на 17 та 20%, відповідно) зменшувала вміст МДА у пагонах.



**Рис. 14.** Вміст пероксиду водню (А) і МДА (В) у пагонах проростків пшениці і тритикале. Різними латинськими літерами позначені величини, різниця між якими вірогідна при  $P \leq 0.05$ .

Активність антиоксидантних ферментів у пагонах проростків пшениці та тритикале. У контролі активність СОД у пагонах проростків пшениці була вищою, ніж у тритикале (рис. 15А). Праймінг насіння NaHS у концентраціях 0.5 та 1 мМ викликав підвищення активності ферменту в пагонах в обох видів злаків. При цьому ефект 1 мМ NaHS був суттєвішим.

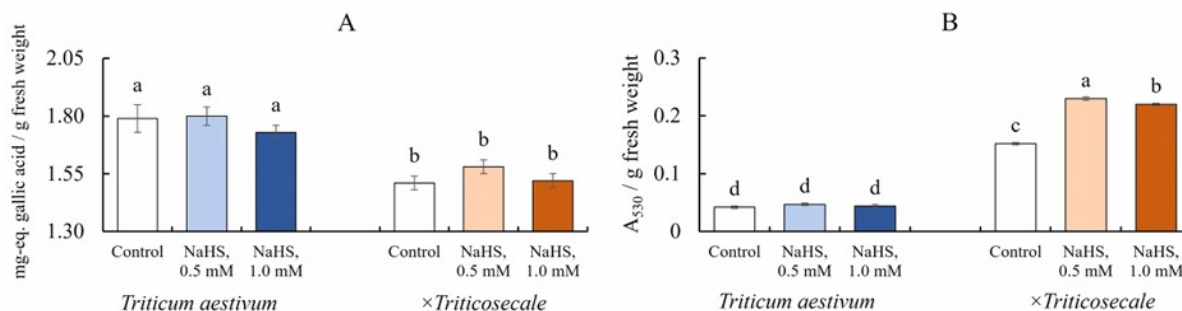
Активність каталази в контролі пшениці була вищою, ніж у тритикале (рис. 15В). Праймінг насіння двох видів злаків донором сірководню призводив до різних ефектів. У пшениці під впливом обох використовуваних концентрацій NaHS відзначалося зниження активності каталази, тоді як тритикале під впливом NaHS (особливо в концентрації 0.5 мМ) активність ферменту підвищувалася.



**Рис. 15.** Активність СОД (А), каталази (В) і гваяколпероксидази (С) у пагонах проростків пшениці і тритикале. Різними латинськими літерами позначені величини, різниця між якими вірогідна при  $P \leq 0.05$ .

Активність гваяколпероксидази в пагонах проростків тритикале в контролі виявилася більш ніж удвічі нижчою, ніж у пшениці (рис. 15С). Обробка насіння пшениці донором сірководню в обох концентраціях спричиняла відносно невелике, але значиме при  $P \leq 0.05$  зниження активності ферменту в пагонах. У той же час у тритикале спостерігали деяке підвищення активності гваяколпероксидази у варіантах з праймінгом насіння NaHS, особливо при використанні концентрації 0.5 мМ.

*Вміст вторинних метаболітів у пагонах проростків пшениці та тритикале.* Загальний вміст фенольних сполук у пагонах проростків пшениці виявився вищим, ніж у тритикале (рис. 16А). Обробка насіння донором сірководню не впливала на величину цього показника в обох видів.



**Рис. 16.** Вміст фенольних сполук (А) і антоціанів (В) в пагонах проростків пшениці і тритикале. Різними латинськими літерами позначені величини, різниця між якими вірогідна при  $P \leq 0.05$ .

Вміст антоціанів у пагонах проростків тритикале був більш ніж утричі вищим, ніж у пагонах пшениці (рис. 16В). При цьому праймінг насіння NaHS не впливав на вміст антоціанів у пшениці, але викликав суттєве підвищення у тритикале.

Отже, у фізіологічних концентраціях сірководень позитивно впливає на проростання насіння. Такі ефекти описані в літературі щодо видів, насіння яких має не дуже високу природну схожість, наприклад, кукурудзи, гороху та квасолі (Dooley et al., 2013). У той же час при обробці донором сірководню не виявлено посилення проростання насіння пшениці, що має нормальну схожість (приблизно 90%) і проростає в оптимальних умовах (Zhang et al., 2010b). Як можливі причини посилення проростання зернівок за дії донора сірководню розглядаються ефекти підвищення активності амілази, що забезпечує мобілізацію необхідного для зростання проростка запасного крохмалю, а також ефекти активації різних компонентів антиоксидантної системи (Zhang et al., 2008, 2010a; 2010b). Саме такі механізми можуть бути причиною посилення донором сірководню проростання старого насіння пшениці та тритикале. В обох видів злаків відзначалося підвищення активності амілази під впливом праймінгу донором сірководню.

У роботі Zhang та ін. (2010) висловлено гіпотезу, згідно з якою під впливом екзогенного сірководню відбувається активація  $\beta$ -амілази шляхом розриву S-S-зв'язків, якими ця форма амілази пов'язана на периферії крохмальних зерен і які обмежують її активність як у пшениці, так і у тритикале. Однак прямих доказів такого механізму дії сірководню на активність  $\beta$ -амілази в зернівках злаків, що проростають, поки не отримано. Наведені вище результати свідчать про невелике підвищення активності  $\beta$ -амілази лише на другу добу від моменту пророщування насіння. У той самий час під впливом донора сірководню відзначалося більш помітне підвищення

загальної активності виявлялося в зернівках обох культур через 24 години від моменту пророщування насіння. Ці дані вказують на можливе залучення  $\alpha$ -амілази до стимульованого донором сірководню проростання насіння, принаймні протягом першої доби. Хоча на другу добу у варіантах з обробкою насіння донором сірководню відбувалося підвищення активності  $\beta$ -амілази (рис. 12В). Не виключено, що на різних етапах проростання зерновок злаків внесок різних форм амілази в процес гідролізу запасного крохмалю може відрізнятись. При цьому може відрізнятись і величина активуючого впливу на амілазу донора сірководню.

Ймовірно, підвищення активності амілази в зернівках під впливом обробки донором  $H_2S$  є основною причиною збільшення вмісту цукрів у пагонах проростків (рис. 13). Відомо, що цукри виконують функції активних метаболітів та джерел енергії, необхідної для росту проростків (Hu et al., 2012; González-Hernández et al., 2020; Sami et al., 2021). Водночас їх можна розглядати як мультифункціональні стресові метаболіти (Fediuk et al., 2017). Зокрема, досить давно відомий феномен їхньої мембрано-стабілізуючої дії (Pukacka et al., 2009; Gangola et al., 2018).

Праймінг старого насіння пшениці і тритикале донором сірководню поряд з підвищенням вмісту цукрів у проростках спричиняв зниження вмісту продукту ПОЛ МДА (рис. 14В). Цей ефект може бути пов'язаний не тільки з імовірною антиоксидантною дією накопичуваних цукрів, але і з іншими змінами в про-/антиоксидантній системі. Так, у пагонах проростків пшениці та тритикале, отриманих із насіння, праймованого донором  $H_2S$ , зафіксовано підвищення активності одного з ключових антиоксидантних ферментів СОД (рис. 15А). Як відомо, це єдиний фермент, який знешкоджує супероксидний аніон-радикал (Kolupaev et al., 2020b). Зміни активності інших антиоксидантних ферментів були не такими однозначними і відрізнялися у пшениці і тритикале. Для з'ясування механізмів впливу сірководню на ці ферменти у зернівках злаків необхідні спеціальні дослідження.

У реалізацію стимулюючої дії сірководню на старе насіння злаків крім основних антиоксидантних ферментів можуть залучатися і багато низькомолекулярних антиоксидантів. Так, під впливом праймінгу насіння тритикале донором сірководню відзначалося значне підвищення вмісту антоціанів. Можливо, такий ефект є видовою особливістю тритикале. Слід зазначити, що саме у тритикале більшою мірою, ніж у різних видів пшениці, вміст антоціанів підвищувався у відповідь на тепловий стрес (Kolupaev et al., 2022b).

Таким чином, модуляція сірководнем компонентів антиоксидантної системи в старому насінні злаків залежала від їх видових особливостей, хоча

як для пшениці, так і для тритикале відзначалося поліпшення інтегральних показників, що характеризують підтримання редокс-гомеостазу та ростових процесів. У зв'язку з цим обробку старого насіння злаків донорами сірководню можна розглядати як ефективний інструмент підвищення їх схожості та посилення зростання проростків.

### **3.4. Активація проростання зернівок злаків дією донора NO – нітропрусиду натрію (за матеріалами: Колупасєв та ін., 2024)**

Однією зі складових впливу праймінгу насіння фізіологічно активними речовинами може бути зміна редокс-гомеостазу і активація антиоксидантної системи у зернівках і проростках. Важливим регулятором цих процесів є нітроген оксид (NO), який має здатність до посттрансляційної модифікації багатьох білків, у тому числі антиоксидантних і прооксидантних ферментів, що призводить до модуляції їх активності (Kolupaev et al., 2023). Також оксид азоту прямо або шляхом впливу на вміст в клітинах інших сигнальних посередників може змінювати експресію генів, що кодують антиоксидантні ферменти та інші білки стрес-протекторних систем. Феномени активації проростання насіння донорами NO виявлені досить давно. Наприклад, показано, що обробка донором NO нітропрусидом натрію (НПН) стимулює проростання насіння *Stellaria media* (Oliveira et al., 2018). Встановлено посилення проростання насіння арабідопсису під впливом донорів NO НПН і нітрату натрію (Yemets et al., 2011). Також дія НПН знімала інгібування світлом проростання насіння ячменю (Bethke et al., 2004). Показало, що обробка насіння НПН спричиняла підвищення накопичення біомаси і врожайності зерна рису за умов засолення. Так само спостерігалось посилення функціонування антиоксидантної системи у рослин з праймованого НПН насіння (Habib et al., 2016).

Проте вплив донорів Нітроген оксиду на проростання зернівок злаків з порушеною схожістю майже не досліджений. Проведені у лабораторії фізіології та біохімії рослин ІР ім. В.Я. Юр'єва дослідження показали помітний вплив донора NO НПН на енергію проростання, схожість насіння та показники про-/антиоксидантної рівноваги трьох видів злаків: пшениці (*Triticum aestivum* L., сорт Скорпіон), тритикале ( $\times$  *Triticosecale*, сорт Паритет) і жита (*Secale cereale*, сорт Пам'ять Худоєрка).

Як і при дослідженні дії інших ФАР, у роботі використовували зернівки урожаю 2020 року, які зберігалися у неконтрольованих умовах і зазнавали впливу підвищених температур (30-32°C) у літній період і знижених (-5... -7°C), у зимовий, а також періодичного зростання вологості повітря до 80-85%. Ефекти НПН порівнювали з дією гідропраймінгу. Зернівки дослідних

варіантів на 3 год занурювали у розчини нітропрусиду натрію у концентраціях діапазону 20-500 мкМ, після чого висушували у темряві за температури 25°C. Як додатковий контроль для доказу специфічності дії НПН як донора Нітроген оксиду, а не солі використовували так звані «виснажені» розчини НПН, які отримували шляхом витримування приготованих розчинів протягом 3 днів на світлі (Mug et al., 2013).

У контролі (гідропраймінг) енергія проростання зернівок пшениці, тритикале і жита становила 50,3, 39,2 і 15,0%, відповідно. Обробка НПН в оптимальній концентрації (100 мкМ для всіх трьох культур) підвищувала показники енергії проростання та схожості на 16-21%. Також під впливом 100 мкМ НПН в усіх трьох видів злаків вірогідно збільшувалася маса коренів і пагонів. Водночас «виснажений» розчин НПН не виявляв впливу на показники енергії проростання, схожості та біомаси органів проростків, що свідчить про специфічну дію НПН як донора Нітроген оксиду.

Під впливом праймінгу НПН знижувалася генерація проростками супероксидного аніон-радикала, а також вміст в них Гідроген пероксиду і МДА. Водночас для різних видів злаків за обробки НПН відзначалося істотне підвищення активності каталази.

Отримані результати дозволяють припускати, що позитивний вплив донора NO на проростання насіння і ріст проростків принаймні частково зумовлений модуляцією процесів утворення і знешкодження АФК. Зокрема, зменшення генерації супероксидного аніон-радикала може бути зумовлене нітрузуванням окремих цистеїнових залишків у молекулах НАДФН-оксидази (Kolupaev et al., 2023) — основного ензиму, що генерує супероксидний аніон-радикал. Водночас зниження вмісту Гідроген пероксиду може бути пов'язане зі зменшенням генерації  $O_2^-$ , з якого він утворюється, та зростанням активності каталази. В цілому менша кількість супероксидного аніон-радикала та гідроген пероксиду у зернівках і пагонах зумовлювала менший рівень ПОЛ, що визначався за вмістом МДА. Таким чином, зменшувався ефект окиснювального стресу, що супроводжує проростання насіння.

Безумовно, така інтерпретація результатів не виключає і багатьох інших можливих механізмів впливу донора нітроген оксиду на проростання насіння, зокрема, змін у гормональному балансі (зниження вмісту абсцизової кислоти і зростання вмісту гіберелінів). Питання механізмів впливу праймінгу на проростання зернівок злаків потребує подальших досліджень. Водночас отримані дані дозволяють вважати праймінг донором NO ефективним біотехнологічним прийомом для підвищення схожості насіння з низькими посівними якостями.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Afshari R.T., Seyyedi S.M. 2020. Exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid can alleviate the adverse effects of seed aging on fatty acids composition and heterotrophic seedling growth in medicinal pumpkin. *Industrial Crops and Products*. 153: 112605. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112605>
- Afzal I. 2023. Seed priming: what's next? *Seed Sci Technol*. 51(3): 379-405. <https://doi.org/10.15258/sst.2023.51.3.10>
- Alquraan N., Al-Omari M., Alaa A. 2021. Effect of ash carbon nanofibers on GABA shunt pathway in germinating seeds of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill., c.v. Rohaba.) under salt stress. *Turkish Journal of Botany*. 45(2): 124–139. <https://doi.org/10.3906/bot-2008-34>
- Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot*. 53: 1331-1341.
- Aroca A., Gotor C., Romero L.C. 2018. Hydrogen sulfide signaling in plants: emerging roles of protein persulfidation. *Front Plant Sci*. 9: 1369. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01369>
- Ashraf M.A., Rasheed R., Hussain I., Iqbal M., Riaz M., Arif, M.S. 2019. Chemical priming for multiple stress tolerance. In: Hasanuzzaman M., Fotopoulos V. (eds.), *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Springer Nature Singapore Pte Ltd., pp. 385-415. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1\\_19](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1_19)
- Awan S.A., Khan I., Wang Q., Gao J., Tan X., Yang F. 2023. Pre-treatment of melatonin enhances the seed germination responses and physiological mechanisms of soybean (*Glycine max* L.) under abiotic stresses. *Front. Plant Sci*. 14: 1149873. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1149873>
- Baranzelli J., Kringel D.H., Colussi R., Paiva F.F., Aranha B.C., de Miranda M.Z., da Rosa Zavareze E., Guerra D.A.R. 2018. Changes in enzymatic activity, technological quality and gamma-aminobutyric acid (GABA) content of wheat flour as affected by germination. *Food Sci. Technol*. 90: 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.070>
- Baudouin E., Poilevey A., Indiketi Hewage N., Cochet F., Puyaubert J., Bailly C. The Significance of Hydrogen Sulfide for Arabidopsis Seed Germination. *Front Plant Sci*. 2016; 7: 930. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00930>
- Bhadwal S.S., Verma S., Hassan S., Kaur S. 2024. Unraveling the potential of hydrogen sulfide as a signaling molecule for plant development and environmental stress responses: A state-of-the-art review. *Plant Physiol Biochem*. 212: 108730. doi:10.1016/j.plaphy.2024.108730
- Bhardwaj A., Sita K., Sehgal A., Bhandari K., Kumar S., Prasad P. V. V., Jha U., Kumar J., Siddique K. H. M., Nayyar H. 2021. Heat priming of lentil (*Lens*

- culinaris* Medik.) seeds and foliar treatment with  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA), confers protection to reproductive function and yield traits under high-temperature stress environments. *Int. J. Mol. Sci.* 22(11): 5825. doi: 10.3390/ijms22115825
- Bethke P.C., Gubler F., Jacobsen J.V., Jones R.L. 2004. Dormancy of Arabidopsis seeds and barley grains can be broken by nitric oxide. *Planta.* 219: 847–855. <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1282-x>
- Bobo-García G., Davidov-Pardo G., Arroqui C., Vírveda P., Marín-Arroyo M.R., Navarro M. 2015. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 95(1): 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Bor M., Turkan I. 2019. Is there a room for GABA in ROS and RNS signalling? *Environ. Exp. Bot.* 161: 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.015>
- Bouché N., Fait A., Bouchez D., Møller S.G., Fromm H. 2003. Mitochondrial succinicsemialdehyde dehydrogenase of the  $\gamma$ -aminobutyrate shunt is required to restrict levels of reactive oxygen intermediates in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 100(11): 6843–6848. <https://doi.org/10.1073/pnas.1037532100>
- Bray C.M. (1995). Biochemical processes during the osmopriming of seeds. In: Kigel J, Galili G (eds) *Seed development and germination*. Marcel Dekker Inc, New York, pp 767-789.
- Buttar Z.A., Wu S.N., Arnao M.B., Wang C., Ullah I., Wang C., 2020. Melatonin suppressed the heat stress-induced damage in wheat seedlings by modulating the antioxidant machinery. *Plants.* 9: 809. <https://doi.org/10.3390/plants9070809>
- Chen S.X., Schopfer P. 1999. Hydroxyl-radical production in physiological reactions: a novel function of peroxidase. *Eur. J. Biochem.* 260: 726-735.
- Dai J, Wen D, Li H, Yang J, Rao X, Yang Y, Yang J, Yang C, Yu J. 2024. Effect of hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) on the growth and development of tobacco seedlings in absence of stress. *BMC Plant Biol.* 24(1): 162. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-04819-w>
- Dawood M.G., El-Awadi M.E. 2015. Alleviation of salinity stress on *Vicia faba* L. plants via seed priming with melatonin. *Acta Biolo. Colomb.* 20(2): 223-235. <https://doi.org/10.15446/abc.v20n2.43291>
- Deng B., Yang K., Zhang Y., Li Z. 2017. Can antioxidant's reactive oxygen species (ROS) scavenging capacity contribute to aged seed recovery? Contrasting

- effect of melatonin, ascorbate and glutathione on germination ability of aged maize seeds. *Free Radical Research*. 51(9–10): 765–771. <https://doi.org/10.1080/10715762.2017.1375099>
- Dooley F.D., Nair S.P., Ward P.D. 2013. Increased growth and germination success in plants following hydrogen sulfide administration. *PLoS ONE*. 8: e62048. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062048>
- Ellouzi H., Sghayar S., Abdelly C. 2017. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seed priming improves tolerance to salinity; drought and their combined effect more than mannitol in *Cakile maritima* when compared to *Eutrema salsugineum*. *J. Plant Physiol*. 210: 38–50. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.11.014>
- Es-Safi N. E., Ghidouche S., Ducrot P.H. 2007. Flavonoids: hemisynthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity. *Molecules*. 12: 2228–2258.
- Fawzi A.F.A., EL-Fouly M.M. 1979. Amylase and invertase activities and carbohydrate contents in relation to physiological sink in carnation. *Physiol Plant*. 47(4): 245–249. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1979.tb06521.x>
- Fediuk O.M., Bilyavska N.O., Zolotareva O.K. 2017. Effects of sucrose on structure and functioning of photosynthetic apparatus of *Galanthus nivalis* L. leaves exposed to chilling stress. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 21(3): 43–51. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3504306>
- Galleschi L., Floris C. 1978. Metabolism of ageing seed: glutamic acid decarboxylase and succinic semialdehyde dehydrogenase activity of aged wheat embryos. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*. 173(2): 160–166. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30473-0](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30473-0)
- Gangola M.P., Ramadoss B.R. 2018. Sugars play a critical role in abiotic stress tolerance in plants. In: Wani SH (ed.). *Biochemical, physiological and molecular avenues for combating abiotic stress tolerance in plants*. Elsevier Inc., Academic Press, pp. 17–38. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813066-7.00002-4>
- Gill S.S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem*. 48: 909–930.
- Goldstein L.D., Jennings P.H. 1975. The occurrence and development of amylase enzymes in incubated, de-embryonated maize kernels. *Plant Physiol*. 55(5): 893–898. <https://doi.org/10.1104/pp.55.5.893>
- Golijan Pantović, J., Popović, V., Sečanski, M., Popović A., Đorđević Melnik O., Šarčević Todosijević Lj. 2024. Factors affecting seed vigour. *Agriculture and Forestry*. 70 (3): 85–103. <https://doi.org/10.17707/AgricultForest.70.3.06>
- González-Hernández AI, Scalschi L, García-Agustín P, Camañes G. 2020. Exogenous carbon compounds modulate tomato root development. *Plants*. 9:

837. <https://doi.org/10.3390/plants9070837>
- Guo Y., Li D., Liu L., Sun H., Zhu L., Zhang K., Zhao H., Zhang Y., Li A., Bai Z., Tian L., Dong H., Li C. 2022. Seed priming with melatonin promotes seed germination and seedling growth of Triticale hexaploide L. under PEG-6000 induced drought stress. *Front. Plant Sci.* 13: 932912. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.93291>
- Habib N., Akram M., Javed M., Azeem M., Ali Q., Shaheen H., Ashraf M. 2016. Nitric oxide regulated improvement in growth and yield of rice plants grown under salinity stress: antioxidant defense system. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 14: 91-105. [https://doi.org/10.15666/aer/1405\\_091105](https://doi.org/10.15666/aer/1405_091105).
- Hilal B, Khan T, Fariduddin Q. 2023. Recent advances and mechanistic interactions of hydrogen sulfide with plant growth regulators in relation to abiotic stress tolerance in plants. *Plant Physiol Biochem.* 196: 1065-1083. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.03.006>
- Hong T.D., & Ellis R.H. 1996. *A Protocol to Determine Seed Storage Behavior*. Rome.
- Hu M, Shi Z, Zhang Z, Zhang Y, Li H. 2012. Effects of exogenous glucose on seed germination and antioxidant capacity in wheat seedlings under salt stress. *Plant Growth Regul.* 68: 177-188. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9705-3>
- Hubbard, M., Germida, J., Vujanovic, V. 2012. Fungal endophytes improve wheat seed germination under heat and drought stress. *Botany.* 90: 137-149. <https://doi.org/10.1139/b11-091>
- Ibrahim E.A.-A. 2019. Fundamental Processes Involved in Seed Priming. In: Hasanuzzaman M., Fotopoulos V. (eds.), *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Springer Nature Singapore Pte Ltd., pp. 63-115. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1_4)
- Jiang X., Li H., Song X. 2016. Seed priming with melatonin effects on seed germination and seedling growth in maize under salinity stress. *Pakistan Journal of Botany.* 48(4): 1345–1352.
- Jin X., Liu T., Xu J., Gao Z., Hu X. 2019. Exogenous GABA enhances muskmelon tolerance to salinity-alkalinity stress by regulating redox balance and chlorophyll biosynthesis. *BMC Plant Biology.* 19(1): 48. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1660-y>
- Jisha K. C., Vijayakumari K., Puthur, J.T. 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiol Plant.* 35: 1381–1396. doi 10.1007/s11738-012-1186-5
- Karle S.B., Guru A., Dwivedi P., Kumar K. 2021. Insights into the role of gasotransmitters mediating salt stress responses in plants. *J. Plant Growth Regul.* 40: 2259-2275. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10293-z>

- Khlestkina E.K. 2013. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. *Cereal Res. Commun.* 41: 185-198.
- Kim J.M., To T.K., Matsui A., Tanoi K., Kobayashi N.I., Matsuda F., Habu Y., Ogawa D., Sakamoto T., Matsunaga S., Bashir K., Rasheed S., Ando M., Takeda H., Kawaura K., Kusano M., Fukushima A., Takaho A.E., Kuromori T., Ishida J., Morosawa T., Tanaka M., Torii C., Takebayashi Y., Sakakibara H., Ogihara Y., Saito K., Shinozaki K., Devoto A., Seki M. 2017. Acetate-mediated novel survival strategy against drought in plants. *Nature Plants.* 3: 17097. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.97>
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Yastreb T.O. Wheat coleoptiles as model object for studies of stress-protective action of exogenous compounds. *Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.*, 2013, Issue 1 (28), 103-108 [Колупаев Ю.Е., Карпец Ю. В., Ястреб Т. О. Колеоптилі пшениці як модельний об'єкт для дослідження стрес-протекторної дії екзогенних сполук. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія, 2013, вип. 1 (28), 103-108. (укр., резюме англ.)]
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V. 2014. Reactive oxygen species and stress signaling in plants. *Ukr. Biochem. J.*, 86(4): 18–35. <https://doi.org/10.15407/ubj86.04.018> [Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Активные формы кислорода и стрессовый сигналинг у растений. *Український біохімічний журнал*, 86(4): 18–35, рос., резюме англ.].
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Beschasniy S.P., Dmitriev A.P. 2019. Gasotransmitters and their role in adaptive reactions of plant cells. *Cytol. Genet.* 53 (5), pp. 392-406. <https://doi.org/10.3103/S0095452719050098>
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Yastreb T.O., Shemet S.A., Bhardwaj R. 2020. Antioxidant system and plant cross-adaptation against metal excess and other environmental stressors. In: Landi M, Shemet SA, Fedenko VS (eds.). *Metal toxicity in higher plants*. New York, Nova Science Publishers, pp. 21-66.
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Shkliarevskiy M.A., Yastreb T.O., Plohovska S.H., Yemets A.I., Blume Y.B. 2022a. Gasotransmitters in plants: Mechanisms of participation in adaptive responses. *Open Agricult. J.*, 16 (Suppl-1, M5): e187433152207050. <https://doi.org/10.2174/18743315-v16-e2207050>
- Kolupaev Yu.E., Makaova B.E., Ryabchun N.I., Kokorev A.I., Sakhno T.V., Sakhno Y., Yastreb T.O., Marenych M.M., 2022b. Adaptation of cereal seedlings to oxidative stress induced by hyperthermia. *Agriculture and Forestry.* 68(4): 7–18. <https://doi.org/10.17707/AgricultForest.68.4.01>
- Kolupaev Yu.E., Taraban D.A., Kokorev A.I., Yastreb T.O., Pysarenko V.M., Sherstiuk E., Karpets Yu.V. 2024a. Effect of melatonin and hydropriming on germination of aged triticale and rye seeds. *Botanica.* 30(1): 1–13.

<https://doi.org/10.35513/Botlit.2024.1.1>

- Kolupaev Yu.E., Shakhov I.V., Kokorev A.I., Dyachenko A.I., Dmitriev A.P. 2024b. The role of reactive oxygen species and calcium ions in implementing the stress-protective effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid on wheat seedlings under heat stress conditions. *Cytol. Genet.* 58(2): 81–91. <https://doi.org/10.3103/S0095452724020063>
- Kolupaev Yu.E., Kokorev O.I., Shevchenko M.V., Marenych M.M., Kolomatska V.P. 2024c. Participation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in cell signaling processes and plant adaptation to abiotic stressors. *Studia Biologica.* 18(1): 125–154. <https://doi.org/10.30970/sbi.1801.752> [Колупаєв Ю.Є., Кокорєв О.І., Шевченко М.В., Маренич М.М., Коломацька В.П. 2024с. Участь  $\gamma$ -аміномасляної кислоти у клітинних сигнальних процесах і в адаптації рослин до дії абіотичних стресорів. *Біологічні студії.* 18(1): 125–154, укр., резюме англ.].
- Корура, М., Gwózdź, E.A. 2003. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. *Plant Physiol. Biochem.* 41: 1011-1017. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2003.09.003>
- Kozeko L., Jurkonienė S., Jankovska-Bortkevič E. 2024. GABA as a regulator of plant growth and stress tolerance. In: *Regulation of adaptive responses in plants*. Eds T.O. Yastreba, Yu.E. Kolupaev, A.I. Yemets, Ya.B. Blume. New York: Nova Science Publishers, Inc., pp. 259–284.
- Kumar A., Choudhary A., Kaur H., Javed M., Mehta S. 2021. Plant performance and defensive role of  $\gamma$ -gamma amino butyric acid under environmental stress. In: *Plant Performance Under Environmental Stress*. Ed. A. Husen. Cham: Springer, pp. 277–299. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-78521-5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-78521-5_11)
- Kurek K., Plitta-Michalak B., Ratajczak E. 2019. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process. *Plants.* 8(6): 174. <https://doi.org/10.3390/plants8060174>
- Li Z.G., Min X., Zhou Z.H. 2016. Hydrogen sulfide: A signal molecule in plant cross-adaptation. *Front Plant Sci.* 7: 1621. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01621>
- Li D., Batchelor W.D., Zhang D., Miao H., Li H., Song S., Li R. 2020. Analysis of melatonin regulation of germination and antioxidant metabolism in different wheat cultivars under polyethylene glycol stress. *PLoS ONE.* 15(8): e0237536. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237536>
- Martinek P., Skorpik M., Chrpova J., Schweiger J. 2013. Development of the new winter wheat variety Skorpion with blue grain. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding.* 49: 90–94. <https://doi.org/10.17221/7/2013-CJGPB>

- Mitter B, Sessitsch A., Naveed M. 2018. Method for producing plant seed containing endophytic microorganisms. U.S. patent app. Pub. US 2018 / 0132486 A1
- Mur L.A.J., Mandon J., Persijn S., Cristescu S.M., Moshkov I.E., Novikova G.V. et al. 2013. Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge. *AoB Plants*. 5: frt. pls052. <https://doi.org/10.1093/aobpla/pls052>.
- Neill S.O., Gould K.S. 2003. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? *Funct. Plant Biol.* 30(8): 865. <https://doi.org/10.1071/fp03118>
- Nogués S., Baker N.R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *J. Exp. Bot.* 51(348): 1309–1317. <https://doi.org/10.1093/jxb/51.348.1309>
- Oliveira C., Benfeito S., Fernandes C., Cagide F., Silva T., Borges F. 2018. NO and HNO donors, nitrones, and nitroxides: Past, present, and future. *Med. Res. Rev.* 38(4): 1159-1187. <https://doi.org/10.1002/med.21461>.
- Pandey AK, Gautam A. 2020. Stress responsive gene regulation in relation to hydrogen sulfide in plants under abiotic stress. *Physiol Plant.* 168: 511-525. <https://doi.org/10.1111/ppl.13064>
- Paparella S., Araújo S.S., Rossi G., Wijayasinghe M., Carbonera D., Balestrazzi A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Rep.* 34(8): 1281-1293. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y>
- Pukacka S, Ratajczak E, Kalemba E. 2009. Non-reducing sugar levels in beech (*Fagus sylvatica*) seeds as related to withstanding desiccation and storage. *J. Plant Physiol.* 166(13): 1381-1390. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.02.013>
- Rajjou L, Lovigny Y, Groot SPC, Belghaz M, Job C, Job D. 2008. Proteome-wide characterization of seed aging in Arabidopsis: a comparison between artificial and natural aging protocols. *Plant Physiol.* 148: 620-641. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123141>
- Sagisaka S. 1976. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica*. *Plant Physiol.* 57: 308–309. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.308>
- Sako K., Nguyen M.H., Seki M. 2020. Advances in chemical priming to enhance abiotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Physiol.* 61(12): 1995-2003. <https://doi.org/pcp/pcaa119>
- Samarah N.H., Al-Quraan N.A., Al-Wraikat B.S. 2023. Ultrasonic treatment to enhance seed germination and vigour of wheat (*Triticum durum*) in association with  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) shunt pathway. *Funct. Plant Biol.* 50: 277–293. <https://doi.org/10.1071/FP22211>
- Sami F, Siddiqui H, Alam P, Hayat S. 2021. Glucose-induced response on photosynthetic efficiency, ROS homeostasis, and antioxidative defense system in maintaining carbohydrate and ion metabolism in Indian mustard (*Brassica*

- juncea* L.) under salt-mediated oxidative stress. *Protoplasma*. 258(3): 601-620. <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01600-2>
- Sargent J.A., Mandi S.S., Osborne D.J. 1981. The loss of desiccation tolerance during germination: an ultrastructural and biochemical approach. *Protoplasma*. 105: 225–239. <https://doi.org/10.1007/BF01279221>
- Scandalios J.G. 1997. *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 890 pp.
- Shakhov I.V., Kokorev A.I., Yastreb T.O., Dmitriev A.P., Kolupaev Yu.E. 2024. Increasing germination and antioxidant activity of aged wheat and triticale grains by priming with gamma-aminobutyric acid. *Ukr. Bot. J.* 81(4): 290–304. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.290>
- Singh S., Kumar V., Kapoor D., Kumar S., Singh S, Dhanjal D.S., Datta S., Samuel J., Dey P., Wang S., Prasad R., Singh J. 2020. Revealing on hydrogen sulfide and nitric oxide signals co-ordination for plant growth under stress conditions. *Physiol. Plant*. 168(2), pp. 301-317. <https://doi.org/10.1111/ppl.13002>.
- Smirnoff N., Cumbes Q.J. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*. 28: 1057–1060. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)80182-7](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)80182-7)
- Su X., Xin L., Li Z., Zheng H., Mao J., Yang Q. 2018. Physiology and transcriptome analyses reveal a protective effect of the radical scavenger melatonin in aging maize seeds. *Free Radical Research*. 52(10): 1094–1109. <https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1472378>
- Tyagi K., Prathap V., Tyagi P., Kumari A., Pandey R., Meena N.L., Khan M.I.R., Tyagi A., Maheshwari C., 2023: Seed priming with melatonin induces rhizogenesis and modulates physio-biochemical traits in high-yielding rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *South African Journal of Botany*. 163: 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.10.043>
- Wang J., Lv P., Yan D., Zhang Z., Xu X., Wang T., Wang Y., Peng Z., Yu C., Gao Y., Duan L., Li R., 2022. Exogenous melatonin improves seed germination of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Int. J. Mol. Sci.* 23: 8436. <https://doi.org/10.3390/ijms23158436>
- Waqas M., Korres N.E., Khan M.D., Nizami Al.-S., Deeba F., Ali I., Hussain H. 2019. Advances in the concept and methods of seed priming. In: Hasanuzzaman M., Fotopoulos V. (eds.), *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Springer Nature Singapore Pte Ltd., pp. 11-41. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1_2)
- Xia F., Cheng H., Chen L., Zhu H., Mao P., Wang M. 2020. Influence of exogenous ascorbic acid and glutathione priming on mitochondrial structural and functional systems to alleviate aging damage in oat seeds. *BMC Plant Biol.*

- 20(1): 104. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-2321-x>
- Xu F., Asghar M.A. 2023. Editorial: Seed-environment interactions. *Front. Plant Sci.* 14: 1201047. doi: 10.3389/fpls.2023.1201047
- Yan H., Jia S., Mao P. 2020. Melatonin priming alleviates aging-induced germination inhibition by regulating  $\beta$ -oxidation, protein translation, and antioxidant metabolism in oat (*Avena sativa* L.) seeds. *Int. J. Mol. Sci.* 21(5): 1898. <https://doi.org/10.3390/ijms21051898>
- Yao Y., Yang Y., Li C., Huang D., Zhang J., Wang C, Li W., Wang N., Deng Y., Liao W. 2019. Research progress on the functions of gasotransmitters in plant responses to abiotic stresses. *Plants.* 8(12): 605. <https://doi.org/10.3390/plants8120605>
- Yastreb T.O., Kokorev A.I., Dyachenko A.I., Shevchenko M.V., Marenych M.M., Kolupaev Yu.E. 2024. Indices of carbohydrate metabolism and antioxidant system state during germination of aged wheat and triticale seeds treated with H<sub>2</sub>S donor. *Ukr. Biochem. J.* 96(5): 79-95
- Yemets A.I., Krasylenk, Ya.A., Lytvyn D.I., Sheremet Ya.A., Blume Ya.B. 2011. Nitric oxide signaling via cytoskeleton in plants. *Plant Sci.* 181(5): 545-54. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.017>
- Yu S., Zhu X., Yang H., Yu L., Zhang Y. 2021. A simple new method for aged seed utilization based on melatonin-mediated germination and antioxidant nutrient production. *Sci. Rep.* 11(1): 5937. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85541-7>
- Zhang H., Hu L.Y., Hu K.D., He Y.D., Wang S.H., Luo J.P. 2008. Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination and alleviates oxidative damage against copper stress. *J. Integr. Plant Biol.* 50(12): 1518-1529. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00769.x>
- Zhang H., Tan Z.Q., Hu L.Y., Wang S.H., Luo J.P., Jones R.L. 2010a. Hydrogen sulfide alleviates aluminum toxicity in germinating wheat seedlings. *J. Integr. Plant Biol.* 52(6): 556-567. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00946.x>
- Zhang H., Hu L.-Y., Li P., Hu K.-D., Jiang C.-X., Luo J.-P. 2010b. Hydrogen sulfide alleviated chromium toxicity in wheat. *Biol. Plant.* 54(4): 743-747. <https://doi.org/10.1007/s10535-010-0133-9>
- Zhang H., Hu S.L., Zhang Z.J., Hu L.Y., Jiang C.X., Wei Z.J., Liu J., Wang H.L., Jiang S.T. 2011. Hydrogen sulfide acts as a regulator of flower senescence in plants. *Postharv. Biol. Technol.* 60(3): 251-257. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.01.006>
- Zhang K., Zhang Y., Sun J., Meng J., Tao J. 2021. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. *Plant Physiol. Biochem.* 158: 475–485. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.031>

- Zhang H. 2016. Hydrogen sulfide in plant biology. In: Lamattina L, Garcia-Mata C (eds.), *Signaling and Communication in Plants. Vol. Gasotransmitters in Plants. The Rise of a New Paradigm in Cell Signaling*. Switzerland: Springer, pp. 23-51. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-40713-5>
- Zhou M., Hassan M.J., Peng Y., Liu L., Liu W., Zhang Y., Li Z. 2021.  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA) Priming improves seed germination and seedling stress tolerance associated with enhanced antioxidant metabolism, DREB expression, and dehydrin accumulation in white clover under water stress. *Front. Plant Sci.* 12: 776939. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.776939>
- Zhou Z.-H., Wang Y., Ye X.-Y., Li Z.-G. 2018. Signaling molecule hydrogen sulfide improves seed germination and seedling growth of maize (*Zea mays* L.) under high temperature by inducing antioxidant system and osmolyte biosynthesis. *Front. Plant Sci.* 9: 1288. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01288>
- Колупаєв Ю.Є., Сахно Т.В., Ястреб Т.О., Кокорев О.І., Шахов І.В. Індукування проростання насіння злаків з низькою схожістю дією донора нітроген оксиду (NO) та його вплив на про-/антиоксидантну рівновагу. *Хімія, біотехнологія, екологія та освіта: Збірник матеріалів VIII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Полтава, 15-16 травня 2024 року)*. – Полтава, 2024. С. 224-229.

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	3
1. МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ФАР НА ПРОРОСТАННЯ ЗЕРНІВОК ЗЛАКІВ .....	5
2. МЕТОДИКА СУПУТНИХ БІОХІМІЧНИХ АНАЛІЗІВ .....	7
2.1. Визначення активності амілази в зернівках і вмісту розчинних вуглеводів у пагонах проростків .....	7
2.2. Показники генерації активних форм кисню та пероксидного окиснення ліпідів .....	8
2.3. Основні показники стану антиоксидантної системи .....	11
3. ПРИКЛАДИ ДОСЛІДЖЕНЬ ВПЛИВУ ПРАЙМУВАЛЬНИХ АГЕНТІВ НА ПРОРОСТАННЯ СТАРОГО НАСІННЯ ЗЛАКІВ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ .....	16
3.1. Дослідження впливу гідропраймінгу та обробки мелатоніном на проростання старих зернівок жита і тритикале .....	16
3.2. Вплив ГАМК на проростання старих зернівок пшениці і тритикале .....	23
3.3. Посилення проростання старих зернівок пшениці і тритикале праймінгом донором H <sub>2</sub> S гідросульфідом натрію .....	31
3.4. Активація проростання зернівок злаків дією донора NO – нітропрусиду натрію .....	41
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ .....	43

**Підвищення схожості насіння зернових злаків праймінгом фізіологічно  
активними речовинами  
Науково-методичні рекомендації**

---

Видавець: Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України  
Обсяг 2.7 умов. друк. арк. Підписано до друку 04.11.2024 р.