

УДК 634.8:581.1

UDC 634.8:581.1

DOI 10.30679/2219-5335-2019-4-58-58-71

DOI 10.30679/2219-5335-2019-4-58-58-71

**ВЛИЯНИЕ
НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА
НА АКТИВНОСТЬ
АНТИОКСИДАНТНЫХ
ФЕРМЕНТОВ ВИНОГРАДА**

**INFLUENCE
OF COLD STRESS
THE ACTIVITY
OF ANTIOXIDANT ENZYMES
OF GRAPES**

Луцкий Евгений Олегович
магистрант
кафедры биохимии
и физиологии

Lutsky Yevgeniy Olegovich
Master Student
of the Biochemistry
and Physiology Department

*Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего
профессионального образования
«Кубанский государственный
университет», Краснодар, Россия*

*Federal State
Budgetary Establishment
of Higher Professional
Education «Kuban State
University»,
Krasnodar, Russia*

Сундырева Мария Андреевна
канд. с.-х. наук
старший научный сотрудник
лаборатории физиологии
и биохимии растений

Sundyreva Maria Andreyevna
Cand. Agr. Sci.
Senior Research Associate
of Laboratory of Physiology
and Biochemistry of Plants

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия*

*Federal State Scientific
Budget Institution
«North-Caucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making»,
Krasnodar, Russia*

Воздействие низкотемпературного стресса представляет большой интерес для научных исследований в виноградарстве по причине относительно низкой морозостойкости винограда в условиях зоны виноградарства России, что приводит к значительному снижению урожайности. Лучшее понимание физиологических процессов, влияющих на устойчивость винограда к низким температурам, необходимо для разработки стратегий смягчения стрессового воздействия. Целью данного исследования являлось изучение изменения активности антиоксидантных ферментов сортов винограда с различной морозостойкостью

The impact of cold stress is of great importance for scientific research in viticulture due to the relatively low cold resistance of grapes under the conditions of the viticulture zone of Russia, which leads to a significant decrease in yield. A better understanding of the physiological processes that influence the resistance of grapes to low temperatures is necessary for developing strategies to mitigate stress. The aim of this research was to study the changes in the antioxidant enzymes activity in grapes of different

при воздействии низкотемпературного стресса. Материалом для исследования были выбраны лоза и почки устойчивых и неустойчивых к низкотемпературному воздействию сортов. В результате работы была выявлена различная реакция почек и тканей лозы винограда на низкотемпературное воздействие. Устойчивые к морозу сорта винограда характеризовались большим содержанием малонового диальдегида в тканях лозы и почек, чем неустойчивые. Для устойчивых к морозу сортов винограда большое значение имеет высокий уровень окислительных процессов, необходимый для активации защитных реакций. Воздействие низкотемпературного стресса приводило у исследуемых сортов винограда к повышению активности антиоксидантных ферментов. В тканях лозы устойчивых сортов активность данных ферментов была выше, чем у неустойчивых сортов. Интересно, что взаимосвязи между морозостойкостью сортов винограда и активностью антиоксидантных ферментов в почках не выявлено, кроме фенолоксилирующей пероксидазы. Для изучаемых сортов в условиях низкотемпературного стресса не происходило изменения числа изоформ пероксидазы, в то время как существенно изменялась ее общая активность, что может быть связано с повышением экспрессии этого фермента. Его активность изменялась максимально относительно контроля. Можно предположить, что увеличение активности этого фермента является одной из определяющих защитных реакций винограда на низкотемпературный стресс.

Ключевые слова: ВИНОГРАД, НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЙ СТРЕСС, ЛОЗА И ПОЧКИ, ВТОРИЧНЫЙ СТРЕСС, АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ, ДИНАМИКА

varieties with different cold- tolerance under the influence of the cold stress. Grape's shoots and buds of resistant and non-resistant varieties were chosen as research material. As the result of this work the different reactions of grape buds and shoots tissues to the low temperature's influence were observed. The resistant varieties were characterised by higher malonic dialdehyde content in vine tissues and buds than non-resistant varieties. For cold-resistant varieties the presence of high level oxidative processes are important for the activation of protective reactions. Influence of the cold stress resulted in elevation of antioxidant enzymes activity in the studied grape varieties. In the shoot's tissues of resistant varieties the activity of these enzymes was higher than that of non-resistant varieties. Interestingly, that the relationships between cold-resistivity and antioxidant enzymes activity weren't observed in studied buds, except for the peroxidase. In the studied varieties, there was no change in the number of peroxidase isoforms under conditions of low temperature stress, while its total activity significantly changed, which may be due to an increase in the expression of this enzyme. The activity of this enzyme changed drastically compared to the control. We suggest that the activity elevation of this enzyme is one of the defining protective reactions to the cold stress in grapes.

Key words: GRAPEVINE, COLD STRESS, VINE AND BUDS, SECONDARY STRESS, ANTIOXIDANT ENZYMES, DYNAMICS

Введение. Виноград является экономически важной сельскохозяйственной культурой во всем мире. Краснодарский край обладает богатейшими ресурсами сельскохозяйственных земель, в том числе чернозёмами, уникальными природно-климатическими условиями. Это позволяет региону занимать лидирующие позиции в России по производству сельскохозяйственной продукции, в том числе плодов и ягод.

В то же время Краснодарский край является зоной рискованного виноградарства, что обусловлено повторяющимися понижениями температуры в зимний период. Критические температуры ведут к повреждению и гибели растений, снижению продуктивности [1], что делает проблему исследования низкотемпературного стресса у растений винограда весьма актуальной для современного виноградарства.

Воздействие низкотемпературного стресса на различные сельскохозяйственные культуры представляет большой интерес для научных исследований по причине неспособности некоторых из них выдерживать влияние данного стресса, что приводит к значительному снижению урожайности [2-5]. Лучшее понимание физиологических процессов, влияющих на устойчивость винограда к низким температурам, необходимо для разработки стратегий смягчения стрессового воздействия.

Разные органы растения отличаются по чувствительности к воздействию критических низких температур. Так, почки европейских сортов винограда могут выдержать понижение температуры до -22 -23 °С, а однолетние и многолетние побеги погибают при -25 -32 °С [6]. Некоторые исследования были направлены на определение роли почек в устойчивости винограда к низкотемпературному стрессу [7].

Накапливаясь в избытке при разнотипных стрессовых воздействиях, активные формы кислорода (АФК) индуцируют развитие у растений активного окислительного стресса, оказывающего повреждающее действие на

растительные ткани [8, 9]. Низкотемпературный стресс способствует накоплению таких АФК, как синглетный кислород ($^1\text{O}_2$), супероксидный радикал (O_2^-), гидроксильный радикал (OH^\cdot) и перекись водорода (H_2O_2). Устойчивость растений к различным условиям окружающей среды во многом обусловлена способностью вовремя удалять образующиеся АФК, чтобы избежать дальнейшего повреждения клеток.

В процессе эволюции у растений появился спектр потенциальных приспособлений для борьбы с вторичным окислительным стрессом, минимизации повреждений и поддержания клеточного гомеостаза [10]. Растения, подверженные воздействию абиотического стресса, используют энзиматические и неэнзиматические компоненты для детоксикации АФК и устранения их негативного влияния. Такие растительные компоненты являются антиоксидантами, а в случае энзимов – антиоксидантными ферментами.

В различных исследованиях наглядно показана зависимость устойчивости растений к тем или иным абиотическим стрессовым факторам от активности антиоксидантных ферментов [11]. Поэтому довольно важным является изучение в лабораторных условиях антиоксидантной системы растений для лучшего понимания механизма природной адаптации к стрессу и разработки методов получения более устойчивых сортов и форм сельскохозяйственных растений.

Целью данного исследования являлось изучение изменения активности антиоксидантных ферментов в лозе и почках растений винограда различных по устойчивости к низким температурам сортов при воздействии низкотемпературного стресса.

Объекты и методы исследований. Объектами исследования были выбраны лоза и почки различных по морозостойкости сортов винограда, подверженные влиянию низкотемпературного стресса. Морозостойкие сорта: Достойный, Красностоп АЗОС, Кристалл. Сорта винограда с низкой морозостойкостью: Алиготе и Зариф.

Для модуляции низкотемпературного стресса подготовленные черенки винограда выдерживали в холодильной камере для адаптации при +4 °С в течение 24 ч. Затем помещали в морозильную камеру для промораживания при -20 °С для воссоздания стрессового воздействия. Финальным этапом было выдерживание опытных образцов для восстановления при +4 °С.

Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). 100 мг растительного материала гомогенизировали в 1,5 мл 20 % трихлоруксусной кислоты, центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин при 4 °С. К отобранным 0,3 мл супернатанта добавляли 1,2 мл 0,5 % тиобарбитуровой кислоты в 20 % трихлоруксусной кислоте. Реакционную смесь инкубировали 30 мин при 95 °С, охлаждали, центрифугировали 15 мин при 10000 g. Оптическую плотность супернатанта определяли при 532 нм и 600 нм. В качестве контроля использовали раствор тиобарбитуровой кислоты в трихлоруксусной кислоте [12].

Экстракция белка. 200 мг растительного материала растирали в жидком азоте. Экстракцию растворимых белков проводили 50 мМ К/Na-фосфатным буфером pH 7,8, содержащим 1 мМ дитиотриитола (DTT), 0,5 мМ фенилметилсульфонилфторида (PMSF), 2 % поливинилпирролидона (ПВП).

Определение активности супероксиддисмутазы (SOD). Ферментный препарат, полученный после экстракции белков из образцов, использовали для определения СОД. Реакционная смесь объемом 2 мл содержала 40 мкл ферментного препарата; 40 мМ Трис-НСl буфера, pH 7,8; 10мМ L-метионина; 54 мкМ нитросинего тетразолия; 0,025 % Тритон X-100 и 3 мкМ рибофлавина. Реакцию проводили при освещении люминесцентными лампами в течение 30 мин. В качестве контроля использовали реакционную смесь без ферментного препарата. Оптическую плотность раствора измеряли при 560 нм на спектрофотометре UNICO 2800 UV/VIS [12].

Определение активности аскорбатпероксидазы (APX). Реакционная смесь объемом 3 мл содержала: 50 мМ фосфатного буфера (pH 7,0),

0,5 мМ аскорбата натрия, 0,1 мМ ЭДТА, 0,1 мМ H_2O_2 и 30 мкл полученного ферментного препарата (растительный экстракт). Реакция инициировалась добавлением 0,3 % перекиси водорода, измерение оптической плотности проводилось при 290 нм в течение 3 мин [12].

Определение активности пероксидаз (POX) проводили по методу Бояркина с модификациями. Реакционная смесь содержала 980 мкл 0,2 М Na-ацетатного буфера, 20 мкл экстракта, 500 мкл 0,25 % раствора уксуснокислого бензидина. Смесь помещали в кювету спектрофотометра. Измерение проводили при длине волны 590 нм в течение 2 минут. Реакцию запускали введением 500 мкл 0,3 % перекиси водорода [13].

Определение изоформ пероксидаз. Для разделения белков использовали стандартную процедуру электрофореза в нативном полиакриламидном геле (ПААГ), 12 %. После электрофореза для обнаружения пероксидазы гель выдерживали в 0,5 % уксусной кислоте в течение 15 минут, затем на 15 минут заливали 50 мл 0,5 % уксусной кислоты, содержащей 125 мг бензидина. После этого гель промывали 0,5 % уксусной кислотой и заливали 0,1 % раствором перекиси водорода. После проявления синих полос гель сканировали [14].

Обсуждение результатов. Как показали исследования, содержание МДА в опытных образцах виноградной лозы под воздействием низкотемпературного стресса увеличивалось у морозостойких сортов (Достойный, Кристалл и Красностоп АЗОС) и снижалось у сортов с низкой морозостойкостью (Алиготе, Зариф) (рис. 1).

В почках же выбранных сортов наблюдается снижение концентрации МДА у всех сортов кроме Красностоп АЗОС. Сильнее всего содержание МДА уменьшалось у сорта Алиготе, обладающего низкой морозостойкостью (рис. 2).

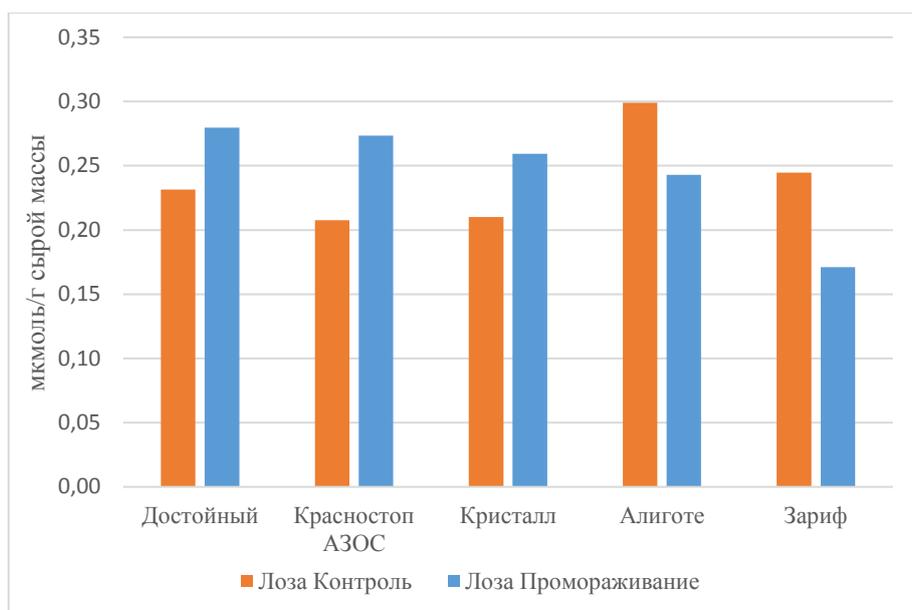


Рис. 1. Содержание МДА в образцах лозы винограда

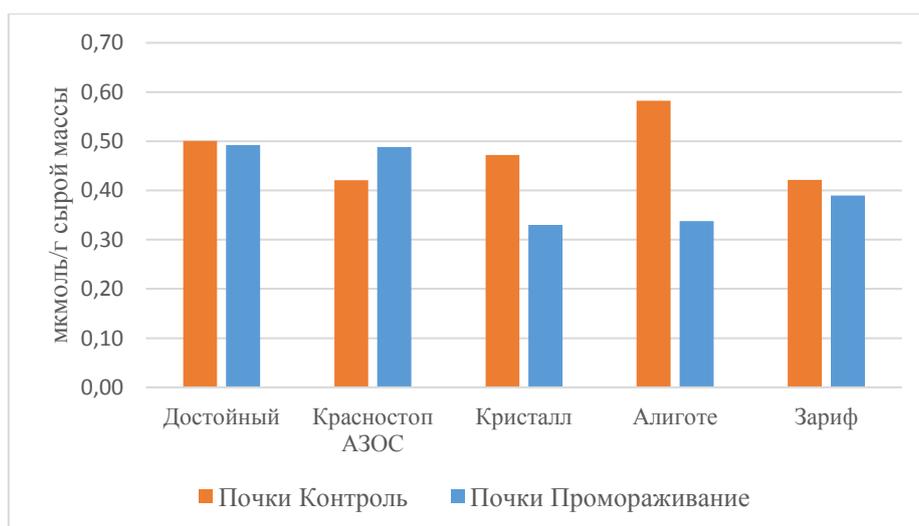


Рис. 2. Содержание МДА в образцах почек винограда

Для опытных образцов после промораживания характерно повышение активности SOD, причём наибольшая активность наблюдалась у образцов сорта Достойный (высокая морозостойкость) и Кристалл (высокая морозостойкость), однако у образцов сорта Красностоп АЗОС наблюдается снижение активности фермента относительно контроля при наличии самого высокого значения контроля. Наименьший показатель активности этого фермента у сорта Зариф (низкая морозостойкость) (рис. 3).

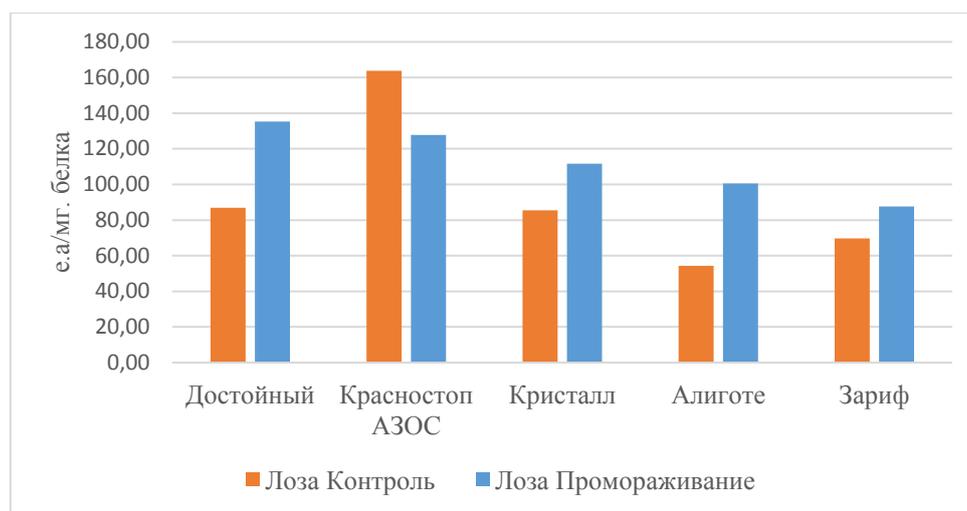


Рис. 3. Активность супероксиддисмутазы в образцах лозы винограда

В почках образцов выбранных сортов прослеживается схожая тенденция увеличения активности фермента после воздействия низкотемпературного стресса. Особенно заметно повышение активности относительно контроля у сортов Зариф и Алиготе, обладающих низкой морозостойкостью. Наименьшие изменения в активности супероксиддисмутазы наблюдаются у сортов с высокой морозостойкостью – Достойный и Кристалл (рис. 4).

Аскорбатпероксидаза (APX) является ключевым компонентом аскорбат-глутатионового цикла и выполняет важную роль в детоксикации АФК. В образцах лозы выбранных сортов винограда после промораживания наблюдается изменение активности APX относительно контроля, причём для сортов Достойный, Красностоп АЗОС и Зариф характерно увеличение активность фермента, в то время как у сорта Кристалл прослеживается её снижение. Наибольшее увеличение активности APX относительно контроля отмечено у сорта Достойный, обладающего высокой морозостойкостью (рис. 5).

В почках выбранных опытных образцов активность APX повышается у сортов Красностоп АЗОС и Зариф и снижается у сортов Достойный, Кристалл и Алиготе (рис. 6). В недавних исследованиях предполагается, что повышение активности APX, а также POX связано с проявлениями морозостойкости [15].

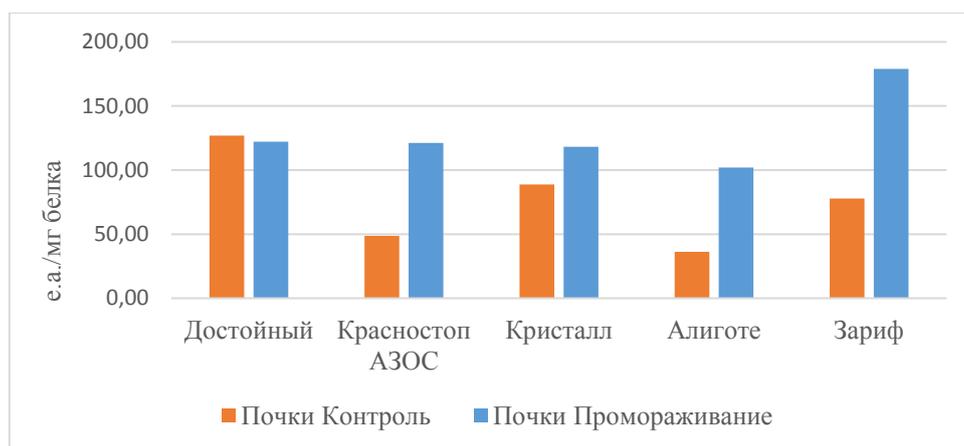


Рис. 4. Активность супероксиддисмутазы в образцах почек винограда

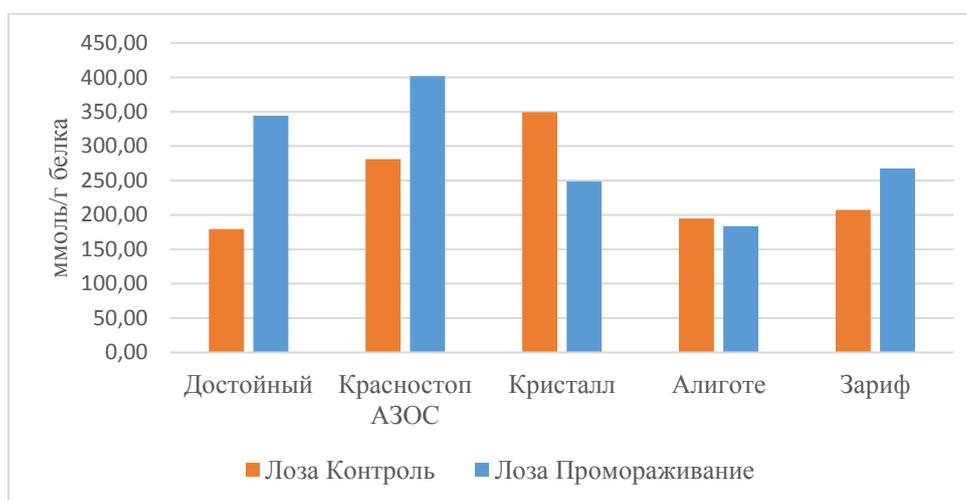


Рис. 5. Активность АРХ в образцах лозы винограда

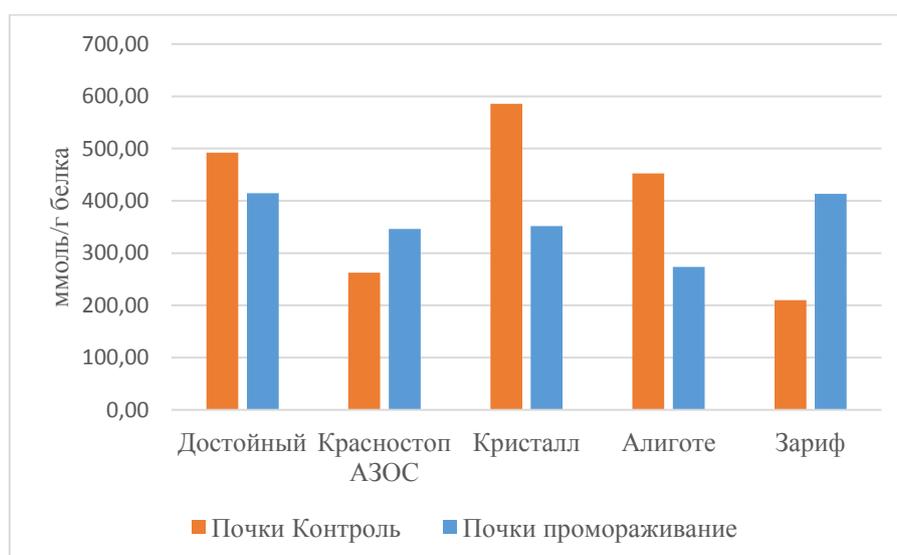


Рис. 6. Активность АРХ в образцах почек винограда

Особенно сильно заметно повышение активности пероксидаз в опытных образцах лозы винограда после воздействия низкотемпературного стресса относительно контроля. Повышение активности ферментов наблюдается во всех образцах, при наибольшем значении данного показателем у сорта Достойный. Меньше всего возрастает активность пероксидаз у сорта Зариф (рис. 7).

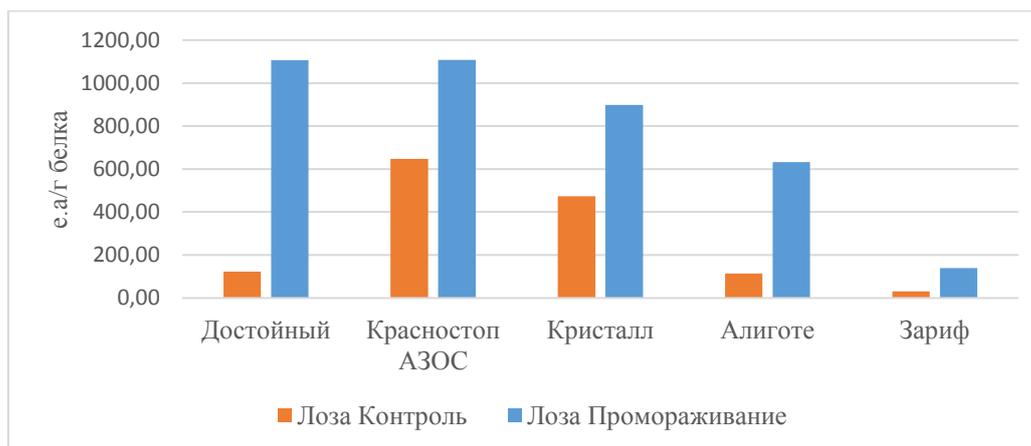


Рис. 7. Активность РОХ в образцах лозы винограда

Наименьшая исходная активность пероксидаз и в условиях низкотемпературного стресса наблюдается у неустойчивого сорта Зариф, однако существенно заметно ее повышение сорта Алиготе, который является также относительно неустойчивым в данном эксперименте. Наиболее высокие показатели активности отмечаются в лозе устойчивых сортов Достойный, Кристалл, Красностоп АЗОС (см. рис. 7).

Довольно интересным является тот факт, что в почках опытных сортов Красностоп АЗОС и Кристалл активность фермента намного выше, чем в аналогичных образцах лозы (рис. 8). В недавних исследованиях отмечается, что чем выше активность РОХ, тем эффективнее идёт удаление образующихся АФК у растений, что согласуется с полученными нами результатами [7]. Схожие результаты также можно отметить и в опытах, проведённых на *Olea europaea L*, где предполагается связь повышения активности РОХ с адаптационными изменениями к низкой температуре у растения [16].

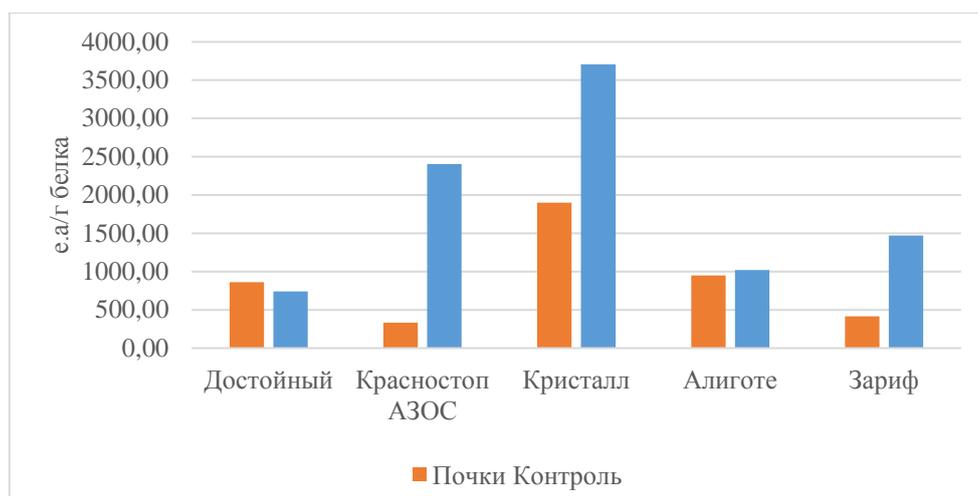
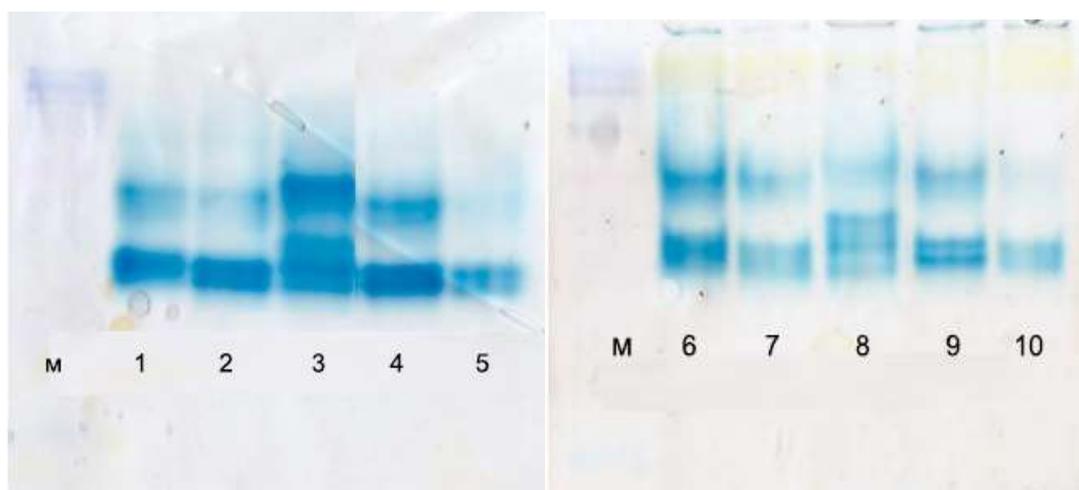


Рис. 8. Активность POX в образцах почек винограда

Следует отметить, что выраженной связи между активностью пероксидазы в почках и морозостойкостью изучаемых сортов винограда не выявлено. В условиях стрессового воздействия в качестве ответной реакции у растений могут образовываться различные изоформы ферментов. Для изучаемых сортов в условиях низкотемпературного стресса не происходило изменение числа изоформ пероксидазы (рис. 9), в то время как существенно изменялась ее общая активность, что может быть связано с повышением экспрессии этого фермента.



М-маркер молекулярного веса; 1-Достойный контроль; 2-Красностоп АЗОС контроль; 3-Кристалл контроль; 4-Алиготе контроль; 5-Зариф контроль; 6-Достойный промораживание; 7-Красностоп АЗОС промораживание; 8-Кристалл промораживание; 9-Алиготе промораживание; 10-Зариф промораживание

Рис. 9. Изоформы пероксидазы в образцах лозы винограда

Выводы. В результате исследований была выявлена различная реакция почек и тканей лозы винограда на низкотемпературное воздействие. Устойчивые к морозу сорта винограда характеризовались большим содержанием МДА в тканях лозы и почек, чем неустойчивые сорта. Окисление липидов мембран, обуславливающее повышение содержания МДА, является важным сигнальным фактором для растений, активирующим множество защитных реакций [17]. Таким образом, можно предположить, что для устойчивых к морозу сортов винограда большое значение имеет высокий уровень окислительных процессов, необходимый для активации защитных реакций.

Одним из основополагающих элементов стрессоустойчивости растений является удаление избытка активных форм кислорода при помощи антиоксидантной системы [18, 19]. Воздействие низкотемпературного стресса приводило к повышению активности антиоксидантных ферментов у исследуемых сортов. В тканях лозы устойчивых сортов активность антиоксидантных ферментов была выше, чем у неустойчивых сортов.

Интересно, что взаимосвязь между морозостойкостью сортов винограда и активностью антиоксидантных ферментов в почках выявлена только относительно фенолоксилирующей пероксидазы (РОХ). Активность последнего фермента изменялась максимально в сравнении с контролем. Можно предположить, что активность фенолоксилирующей пероксидазы является одной из определяющих защитных реакций винограда на низкотемпературный стресс.

Литература

1. Sanghera, G. S. Engineering cold stress tolerance in crop plants. // Current Genomics. 2011. Vol. 12. P. 30-43. doi: 10.2174/138920211794520178
2. Farooq M., Wani S., Hussain H, Singh N. B. [et al] Chilling tolerance in maize: agronomic and physiological approaches. // Crop & Pasture Science. 2009. Vol. 60. P. 501-516. doi: 10.1071/Cp08427
3. Nahar K., Hasanuzzaman M., Majumder R. R. Effect of low temperature stress in transplanted Aman Rice Varieties mediated by different transplanting dates// Academic Journal of Plant Sciences. 2009. Vol. 2. P. 132-138.
4. Nahar K. Screening of indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes against low temperature stress. // Botany Research International. 2009. Vol. 2. P. 295-303.

5. Zhou-Fei W [et al] Genetic control of germination ability under cold stress in rice. // Rice Science. 2009. Vol. 16. P. 173-180 doi: 10.1016/S1672-6308(08)60076-1
6. Мишуренко А.Г., Шерер В.А., Овчинникова Л.Ф. Зимостойкость винограда / Под ред. А.Г. Мишуренко. К.: Урожай, 1975. 176 с.
7. Köse C., Kaya Ö. Determination of resistance to low temperatures of winter buds according to position in Karaerik (*V. vinifera* L.) grape cultivar // Acta Physiologiae Plantarum. 2017. Vol. 39:209. doi: 10.1007/s11738-017-2513-7
8. Yin H., Chen Q. M., Yi M. F. Effects of short-term heat stress on oxidative damage and responses of antioxidant system in *Lilium longiflorum*. // Plant Growth Regulation. 2008. Vol. 54. P. 45-54 doi: 10.1007/s10725-007-9227-6
9. Hu, W. H [et al]. Changes in electron transport, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase isoenzymes in chloroplasts and mitochondria of cucumber leaves as influenced by chilling. Photosynthetica. 2008. Vol. 46. P.581-588.
10. Almeselmani M., Deshmukh P. S., Sairam R. K. High temperature stress tolerance in wheat genotypes: role of antioxidant defense enzymes // Acta Agronomica Hungarica. 2009. Vol. 57. P. 1-14 doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2015-0109
11. Babu N. R., Devraj V. R. High temperature and salt stress response in French bean (*Phaseolus vulgaris*) // Australian Journal of Crop Science. 2008. Vol. 2. P 40-48
12. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений: сб. статей / под ред. Вл. В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. 2-е изд. (эл.). М.: Лаборатория знаний, 2015. 498 с.
13. Сундырева М.А., Савченко Т.В. Методы экстракции и анализа антиоксидантных ферментов вегетативных органов винограда. // Современные инструментально-аналитические методы исследования плодовых культур и винограда. Краснодар, 2015. 115 с.
14. Ильницкая Е.Т., Сундырева М.А., Шелудько О.Н., Прах А.В. Инструментальные методы оценки исходного и селекционного материала винограда для высококачественного виноделия. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2015. 115 с.
15. Zhao, D. [et al] Relationship between activities of antioxidant enzymes and cold tolerance of postharvest tomato fruits. // Food Science. 2009. Vol. 14. P. 309-313. doi:10.7506/spkx1002-6630-200914069
16. Hashempour A. Olive. (*Olea europaea* L.) freezing tolerance related to antioxidant enzymes activity during cold acclimation and nonacclimation. // Acta Physiol Plant. 2014. Vol. 36(12). P. 3231–3241 doi: 10.1007/s11738-014-1689-3
17. Torres M.A., Dangl J.L. Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development. // Current Opinion in Plant Biology. 2005. Vol. 8. P. 397-403
18. Iba K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance // Annual Review of Plant Biology. 2002. Vol 53. P. 225-245
19. Huang M., Guo Z. Responses of antioxidant system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity // Biologia Plantarum. 2005. Vol. 49. P. 81-84.

References

1. Sanghera, G.S. Engineering cold stress tolerance in crop plants. // Current Genomics. 2011. Vol. 12. P. 30-43. doi: 10.2174/138920211794520178
2. Farooq M., Wani S., Hussain H, Singh N. B. [et al] Chilling tolerance in maize: agronomic and physiological approaches. // Crop & Pasture Science. 2009. Vol. 60. P. 501-516. doi: 10.1071/Cp08427

3. Nahar K., Hasanuzzaman M., Majumder R. R. Effect of low temperature stress in transplanted Aman Rice Varieties mediated by different transplanting dates // *Academic Journal of Plant Sciences*. 2009. Vol. 2. P. 132-138.
4. Nahar K. Screening of indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes against low temperature stress. // *Botany Research International*. 2009. Vol. 2. P. 295-303.
5. Zhou-Fei W [et al] Genetic control of germination ability under cold stress in rice. // *Rice Science*. 2009. Vol. 16. P. 173-180 doi: 10.1016/S1672-6308(08)60076-1
6. Mishurenko A.G., Sherer V.A., Ovchinnikova L.F. Zimostojkost' vinograda / pod red. A.G. Mishurenko. K.: Urozhaj, 1975. 176 s.
7. Köse C., Kaya Ö. Determination of resistance to low temperatures of winter buds according to position in Karaerik (*V. vinifera* L.) grape cultivar // *Acta Physiologiae Plantarum*. 2017. Vol. 39:209. doi: 10.1007/s11738-017-2513-7
8. Yin H., Chen Q. M., Yi M. F. Effects of short-term heat stress on oxidative damage and responses of antioxidant system in *Lilium longiflorum*. // *Plant Growth Regulation*. 2008. Vol. 54. P. 45-54 doi: 10.1007/s10725-007-9227-6
9. Hu, W. H [et al]. Changes in electron transport, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase isoenzymes in chloroplasts and mitochondria of cucumber leaves as influenced by chilling. *Photosynthetica*. 2008. Vol. 46. P.581-588.
10. Almeselmani M., Deshmukh P. S., Sairam R. K. High temperature stress tolerance in wheat genotypes: role of antioxidant defense enzymes // *Acta Agronomica Hungarica*. 2009. Vol. 57. P. 1-14 doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2015-0109
11. Babu N. R., Devraj V. R. High temperature and salt stress response in French bean (*Phaseolus vulgaris*) // *Australian Journal of Crop Science*. 2008. Vol. 2. P 40-48
12. Molekulyarno-geneticheskie i biohimicheskie metody v sovremennoj biologii rastenij: sb. statej / pod red. V. V. Kuznecova, V.V. Kuznecova, red.: G.A. Romanova. 2-e izd. (el.) . M.: Laboratoriya znaniy, 2015. 498 s.
13. Sundyрева M.A., Savchenko T.V. Metody ekstrakcii i analiza antioksidantnyh fermentov vegetativnyh organov vinograda. // *Sovremennye instrumental'no-analiticheskie metody issledovaniya plodovyh kul'tur i vinograda*. Krasnodar. 2015. 115 s.
14. Il'nickaya E.T., Sundyрева M.A., Shelud'ko O.N., Prah A.V. Instrumental'nye metody ocenki iskhodnogo i selekcionnogo materiala vinograda dlya vysokokachestvennogo vinodeliya. Krasnodar: SKZNIISiV, 2015. 115 s.
15. Zhao, D. [et al] Relationship between activities of antioxidant enzymes and cold tolerance of postharvest tomato fruits. // *Food Science*. 2009. Vol. 14. P. 309-313. doi:10.7506/spkx1002-6630-200914069
16. Hashempour A. Olive. (*Olea europaea* L.) freezing tolerance related to antioxidant enzymes activity during cold acclimation and nonacclimation. // *Acta Physiol Plant*. 2014. Vol. 36(12). P. 3231-3241 doi: 10.1007/s11738-014-1689-3
17. Torres M.A., Dangl J.L. Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development. // *Current Opinion in Plant Biology*. 2005. Vol. 8. P. 397-403
18. Iba K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance. // *Annual Review of Plant Biology*. 2002. Vol. 53. P. 225-245
19. Huang M., Guo Z. Responses of antioxidant system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity // *Biologia Plantarum*. 2005. Vol. 49. P. 81-84.