




<https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.290>

RESEARCH ARTICLE

Підвищення схожості та антиоксидантної активності старих зернівок пшениці і тритикале праймінгом гамма-аміномасляною кислотою

Іван В. ШАХОВ^{1,2} , Олександр І. КОКОРЕВ¹ , Тетяна О. ЯСТРЕБ¹ ,
Олександр П. ДМИТРИЄВ³ , Юрій Є. КОЛУПАЄВ^{1,2,4*} 

¹ Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, проспект Героїв Харкова 142, Харків 61060, Україна

² Державний біотехнологічний університет, вул. Алчевських 44, Харків 61022, Україна

³ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України, вул. Академіка Заболотного 148, Київ 03143, Україна

⁴ Полтавський державний аграрний університет, вул. Сковороди 1/3, Полтава 36003, Україна

* Автор для листування: plant_biology@ukr.net

Реферат. Під час зберігання підвищені температура і вологість спричиняють прискорене старіння і псування насіння різних видів рослин, у тому числі важливих культурних злаків — пшениці і тритикале. Проростанню старих зернівок можуть сприяти процедури праймінгу насіння фізіологічно активними речовинами, що коригують про-/антиоксидантну рівновагу, зменшуючи розвиток окиснювального стресу. Гамма-аміномасляна кислота (ГАМК) належить до регуляторних сполук, що виявляють прямі й опосередковані антиоксидантні ефекти. Однак її вплив на проростання зернівок злаків із низькою схожістю майже не досліджений. Метою роботи було дослідження впливу праймінгу ГАМК на проростання старого насіння озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* 'Scorpion') та озимого тритикале (*×Triticosecale* 'Раритет'), інтенсивність окиснювального стресу та стан антиоксидантної системи в проростках. Встановлено, що 3-годинна обробка зернівок ГАМК в оптимальній концентрації (1 мМ) спричиняла істотне (на 18–21%) підвищення показників енергії проростання та схожості насіння, а також збільшення біомаси пагонів і коренів проростків обох видів. Водночас під впливом ГАМК зменшувалися величини маркерів окиснювального стресу (генерації супероксидного аніон-радикала, вмісту гідроген пероксиду та продукту пероксидного окиснення ліпідів маленового діальдегіду). Під впливом ГАМК у проростках пшениці зростав загальний вміст фенольних сполук, а у проростках тритикале майже вдвічі збільшувався вміст антоціанів. У проростках, отриманих із зернівок, праймованих ГАМК, також істотно зростала активність каталази за відсутності істотних змін активності супероксиддисмутази і пероксидази. Зроблено висновок щодо перспективності застосування праймінгу ГАМК для підвищення схожості насіння злаків зі зниженими посівними якість.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, *×Triticosecale*, антиоксидантна система, гамма-аміномасляна кислота, окиснювальний стрес, праймінг, проростання зернівок, старіння насіння

ARTICLE HISTORY. Submitted 20 May 2024. Revised 3 July 2024. Published 30 August 2024

CITATION. 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. *Ukrainian Botanical Journal*, 81(4): 290–304. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.290>

© M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2024

© Publisher PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2024

This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Вступ

Здатність насіння до швидкого і рівномірного проростання критично важлива для формування посівів більшості сільськогосподарських культур. Неминуче зниження життєздатності насіння з віком визначає можливу тривалість його зберігання. Поліпшення цієї характеристики має першорядне значення не лише для підвищення урожайності сільськогосподарських культур, а й для збереження генетичного різноманіття диких видів (Pirredda et al., 2024). Збереження насінням схожості протягом певного часу залежить як від видових особливостей, так і від умов зберігання. Як відомо (Probert et al., 2007), підвищена вологість і температура прискорюють старіння насіння, що зрештою призводить до втрати ним життєздатності.

В Україні проблема дотримання належного зберігання зерна нині набула особливої актуальності через активні бойові дії, що відбуваються з лютого 2022 року. Також через форс-мажорні обставини можуть порушуватися регламенти пересіву насіння колекцій вітчизняних банків генетичних ресурсів. Зважаючи на це, пошук фізіологічних прийомів підвищення схожості насіння стає актуальним прикладним завданням. Водночас його вирішенню сприяють значний обсяг нових фундаментальних знань про механізми старіння насіння та інтенсивне накопичення відомостей про нові фізіологічно активні речовини (ФАР), що здатні поліпшувати посівні якості насіння (Deng et al., 2017; Kim et al., 2017; Sako et al., 2020).

Сьогодні існує досить широкий і доступний арсенал фізіологічних прийомів і сполук, застосування яких може підвищувати схожість насіння. Один з таких підходів — гідропраймінг, в основі якого лежить контрольоване зволоження з наступним висушуванням зернівок для посилення перебігу в них метаболічних процесів, необхідних для проростання (Waqas et al., 2019). Ефект гідропраймінгу може бути істотно посилений одночасним застосуванням різноманітних ФАР. Серед сполук, здатних посилювати проростання насіння та ріст проростків на ранніх стадіях розвитку за нормальних і особливо стресових умов, є класичні фітогормони, наприклад гібереліни (Kosakivska et al., 2022a) і цитокініни (Vedenicheva et al., 2022), сигнальні посередники, зокрема солі кальцію (Ashraf et

al., 2019), гідроген пероксид (Ellouzi et al., 2017), нітроген оксид (Bethke et al., 2004), гідроген сульфід (Zhou et al., 2018), а також інші молекули-медіатори — мелатонін (Jiang et al., 2016; Simlat et al., 2018), ацилгомосеринлактони (Babenko et al., 2022; Kosakivska et al., 2022b) тощо. У практиці праймінгу насіння ФАР застосовуються як технології, що передбачають висушування праймованого насіння (Waqas et al., 2019; Gelaw, Sanan-Mishra, 2024), так і висівання обробленого насіння без попереднього висушування (Mao et al., 2018).

У сучасних моделях, що описують зміни фізіологічних процесів при проростанні зернівок, проводяться паралелі між цими процесами і стресовою реакцією рослини (Kranner et al., 2010). Подібність полягає в тому, що в обох випадках відбуваються сприйняття клітинами зовнішніх сигналів (насамперед про зміни температури та вологості), активація сигнальної мережі і трансдукція сигналів у генетичний апарат (Paparella et al., 2015). Процеси проростання насіння супроводжуються посиленням генерації активних форм оксигену (АФО), які беруть участь у формуванні редокс-сигналів, необхідних для росту проростка (Kranner et al., 2010). Однак саме посилене утворення АФО у насінні може бути однією з головних причин їхнього старіння (Zhang et al., 2021). При неправильному зберіганні насіння, що спричинює його прискорене старіння, внаслідок утворення АФО активується пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ), що зрештою призводить до порушення цілісності мембран (Kurek et al., 2019). Розвиток окиснювального стресу також спричинює характерне для старіючого насіння карбонілювання білків (Rajjou et al., 2008), а в окремих випадках і пошкодження ДНК (Kurek et al., 2019; Afzal, 2023).

Зважаючи на істотний внесок окиснювального стресу в деструктивні процеси старіння насіння, можна очікувати, що застосування антиоксидантів або сполук, здатних активувати антиоксидантну систему, сприятиме нормальному проростанню зернівок. Останнім часом отримано відомості про позитивний вплив відновленого глутатіону, аскорбінової кислоти та їхньої суміші на проростання старих зернівок вівса та відновлення такими обробками нормальної функціональної активності мітохондрій клітин зародкових корінців (Xia et al., 2020). Застосування екзогенного мелатоніну,

який також має високу антиоксидантну активність, сприяло проростанню старих зернівок жита і тритикале (Kolupaev et al., 2024a).

В останні роки зріс інтерес до функцій у рослин ще одного стресового метаболіту — гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК), яка 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 з участю АФО та іонів кальцію, які призводять до активації ферментативної антиоксидантної системи (Jin et al., 2019; Kolupaev et al., 2024b). Давно встановлено і позитивний зв'язок між кількістю ендогенної ГАМК, активністю ферментів її синтезу і метаболізму в зернівках та їхньою здатністю до проростання (Galleschi, Floris, 1978). Нещодавно встановлено, що праймінг ГАМК насіння гарбуза лікарського (*Cucurbita pepo* L. subsp. *pepo*), що 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, Seuyedi, 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 (*Oryza sativa* L.) сприяв його проростанню за умов осмотичного стресу, створюваного ПЕГ, і засолення (Sheteiwy et al., 2019). Цей ефект супроводжувався зростанням у проростках вмісту транскриптів і активності антиоксидантних ферментів та ензимів метаболізму фенолів. Обробка ГАМК зернівок конюшини білої (*Trifolium repens* L.) зменшувала зниження ендогенного вмісту цієї амінокислоти, спричинюване осмотичним стресом, та підвищувала схожість 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). Проте, донині залишався не дослідженим вплив праймінгу екзогенною ГАМК на проростання старіючих зернівок пшениці, незважаючи на поширеність і продовольчу важливість цього злаку. Так само відсутні

відомості щодо впливу праймінгу ГАМК на зернівки тритикале — гібридного виду, отриманого схрещуванням пшениці й жита, що поєднує в собі цінні властивості харчової та кормової культури, проте вирізняється досить швидким зниженням схожості насіння при зберіганні за неоптимальних умов (Kolupaev et al., 2024a).

У зв'язку із викладеним, метою роботи було вивчення впливу праймінгу ГАМК на проростання зернівок пшениці (*Triticum aestivum* L.) і тритикале (\times *Triticosecale* Wittm. ex A. Camus), що зазнали природного старіння, та дії ГАМК на основні маркери стану антиоксидантної системи під час формування проростків.

Матеріали та методи

Рослинний матеріал та його обробка

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 до зниження його схожості (Martinek et al., 2013). Насіння тритикале сорту 'Раритет', як засвідчують отримані раніше дані (Kolupaev et al., 2024a), після зберігання протягом кількох років також помітно втрачає схожість. Перед проведенням експериментів насіння пшениці і тритикале протягом 3-х років зберігалось в приміщенні в неконтрольованих умовах (у літній період температура досягала 30–32 °С, в зимовий — опускалася до –6 ... –8 °С; 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 50% у пшениці і до 40% у тритикале.

Насіння всіх варіантів дослідів незаражували 5%-м 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 втримували протягом 3 год у її розчинах з концентрацією 0,2; 1 і 5 мМ у темному термостаті при 24 °С. В окремих серіях експериментів для доведення специфічної дії ГАМК на проростання насіння використовували для порівняння дві альфа-амінокислоти — гліцин і валін в концентрації 1 мМ. Всі досліджувані амінокислоти були L-ізомерами. Насіння, піддане гідропраймінгу або обробці ГАМК чи іншими амінокислотами, висушували в темному термостаті за температури 24 °С і вологості повітря 40% протягом доби. Після цього зернівки розкладали в чашки Петрі з двома шарами стерильного фільтрувального паперу, зволоженого дистильованою водою, і пророщували в темному термостаті за температури 24 °С протягом 3 діб. Через 2 доби пророщування оцінювали відносну кількість схожого насіння (показник енергії проростання) і масу стеблової та кореневої частини проростків, отриманих від нормально пророслих зернівок. На 3-ю добу пророщування оцінювали схожість (відносну кількість пророслого насіння). Пагони 3-добових проростків використовували для біохімічних аналізів.

Аналіз біохімічних показників

Визначення генерації супероксидного аніонрадикала. В основі методу взаємодія $O_2^{\bullet-}$ з нітросинім тетразолієм з утворенням формазану (Karpetts et al., 2012). По 10 пагонів однакового розміру поміщали на 1 год в бюкси з 5 мл 0,1 М К, Na-фосфатного буферу (рН 7,6), що містив 0,05% нітросинього тетразолію, 10 мкМ ЕДТА та 0,1% тритону X-100. Після закінчення експозиції пагони обережно вилучали з бюксів та вимірювали оптичну густину інкубаційного розчину за довжини хвилі 530 нм на спектрофотометрі UV-1280 (Shimadzu, Японія). Показник генерації $O_2^{\bullet-}$ розраховували в умовних одиницях ($A_{530} \cdot 1000/\text{маса сирової речовини пагонів}$).

Визначення вмісту гідроген пероксиду. Наважки рослинного матеріалу масою 300 мг на льоду гомогенізували у 5%-му розчині трихлороцтової кислоти (ТХО). Проби центрифугували при 8000 g протягом 10 хв за температури 2–4 °С на центрифугі MPW 350R (MPW MedInstruments, Польща) і в супернатанті визначали концентрацію H_2O_2 за допомогою феротіюціанатного методу (Sagisaka, 1976).

Визначення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Для аналізу продуктів ПОЛ (переважно малоновий діальдегід — МДА) наважку масою 300 мг гомогенізували у розчині 0,25% ТБК в 10% ТХО (дослідна проба) або у розчині лише 10% ТХО (контроль). Суміші кип'ятили в пробірках, закритих ковпачками з фольги, на водяній бані протягом 30 хв. Після цього охолоджували і центрифугували протягом 15 хв при 10000 g. Оптичну густину супернатанту вимірювали за довжини хвилі 532 нм (основний сигнал) та 600 нм (неспецифічне світлопоглинання, величину якого віднімали від основного результату A_{532}) (Kolupaev et al., 2024a). Вміст МДА розраховували за молярним коефіцієнтом екстинкції $1,55 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ і виражали в нмоль/г сирової речовини.

Аналіз активності антиоксидантних ферментів. При визначенні активності антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази (СОД), каталази і гваяколпероксидази наважки рослинного матеріалу гомогенізували на холоді в 0,15 М К, Na-фосфатному буфері (рН 7,6), що містив 0,1 мМ ЕДТА та 1 мМ дитіотрейтолу (Kolupaev et al., 2020). Гомогенат одразу аналізували. Активність ферментів визначали у супернатанті після центрифугування гомогенату при 8000 g протягом 10 хв при 4 °С.

Активність СОД (КФ: 1.15.1.1) аналізували при рН 7,6 за методом, в основі якого здатність ферменту до конкуренції з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніони, утворені аеробною взаємодією феназинметосульфату та НАДН. Абсорбцію вимірювали при 540 нм. Активність виражали в умовних одиницях як різницю у зміні оптичної густини контрольної (без рослинного матеріалу) і дослідної проб у розрахунку на 1 г сухої речовини і час реакції (хв).

Активність каталази (КФ 1.11.1.6) аналізували при рН 7,0 за кількістю пероксиду водню, розкладеного за одиницю часу, і виражали ммоль H_2O_2 / (г сухої речовини × хв).

Активність гваяколпероксидази (КФ 1.11.1.7) визначали з використанням гваяколу як донора водню та пероксиду водню як субстрату. Попередньо рН реакційної суміші доводили до 6,2 з використанням К, Na-фосфатного буферу. Оптичну густину тетрагваяколу визначали при 470 нм. Активність ферменту виражали в умовних одиницях/(г сухої речовини × хв).

Визначення вмісту фенольних речовин і антоціанів. Для визначення загального вмісту фенольних сполук і антоціанів 300 мг рослинного матеріалу гомогенізували в 6 мл 80%-го етанолу, екстрагували протягом 20 хв за кімнатної температури і центрифугували при 8000 g протягом 15 хв. Для оцінки вмісту фенольних сполук у реакційні пробірки вносили 0,5 мл супернатанту, 8 мл дистильованої води та 0,5 мл реактиву Фоліна, перемішували і через 3 хв додавали 1 мл 10%-го карбонату натрію. Через 1 годину абсорбцію реакційної суміші вимірювали при 725 нм (Bobo-García et al., 2015). Вміст фенольних сполук виражали у мкмоль галової кислоти на 1 г сиріої речовини.

Перед визначенням вмісту антоціанів супернатант підкислювали HCl до кінцевої концентрації 1%. Поглинання визначали при 530 нм (Nogués, Baker, 2000). Результати виражені в умовних одиницях, як абсорбція у розрахунку на 1 г рослинного матеріалу.

Статистична обробка результатів

При визначенні впливу обробки насіння ГАМК та іншими амінокислотами на проростання насіння і біомасу проростків кожна повторність складалася з 60 зернівок, а в кожному варіанті досліду було не менше 4-х повторень. Під час проведення біохімічних аналізів кожна наважка складалася щонайменше з 12 проростків, аналізи проводили у 3–4-разовому повторенні.

Значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Ст'юдента при $p \leq 0,05$, використовуючи пакет статистичного аналізу Statistica, версія 10.0. На рисунках наведені середні величини та їхні стандартні похибки. При побудові теплової карти змін досліджуваних показників всі величини (разом для обох видів) попередньо нормували від 0 до 1.

Результати

Проростання зернівок і біомаса проростків

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

Праймінг насіння пшениці ГАМК в концентраціях 0,2 і 1,0 мМ посилював накопичення біомаси коренів проростків (рис. 2В). 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 1,0 мМ.

У проростків тритикале показники накопичення біомаси коренів зростали за дії 1 і 5 мМ ГАМК (рис. 2В). 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.

У наступних серіях експериментів для доведення специфічної дії ГАМК на проростання старих зернівок порівнювали вплив 1 мМ ГАМК з дією альфа-амінокислот — гліцину і валіну в такій самій концентрації. Праймінг зернівок пшениці і тритикале цими амінокислотами не призводив до суттєвих змін енергії проростання і схожості (рис. 3А). Так само обробка зернівок гліцином і валіном істотно не впливала на накопичення біомаси коренів, пагонів і проростків у цілому (рис. 3).

Генерація АФО і вміст МДА у пагонах проростків пшениці і тритикале

Обробка насіння ГАМК спричинювала зниження генерації супероксидного аніон-радикала пагонами обох видів злаків (рис. 4А). Разом із цим під впливом ГАМК відзначалося зменшення вмісту гідроген пероксиду в пагонах проростків пшениці і тритикале (рис. 4В). Так само у проростків пшениці і тритикале, вирощених із зернівок, праймованих ГАМК, знижувався вміст продукту ПОЛ МДА (рис. 4С).

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

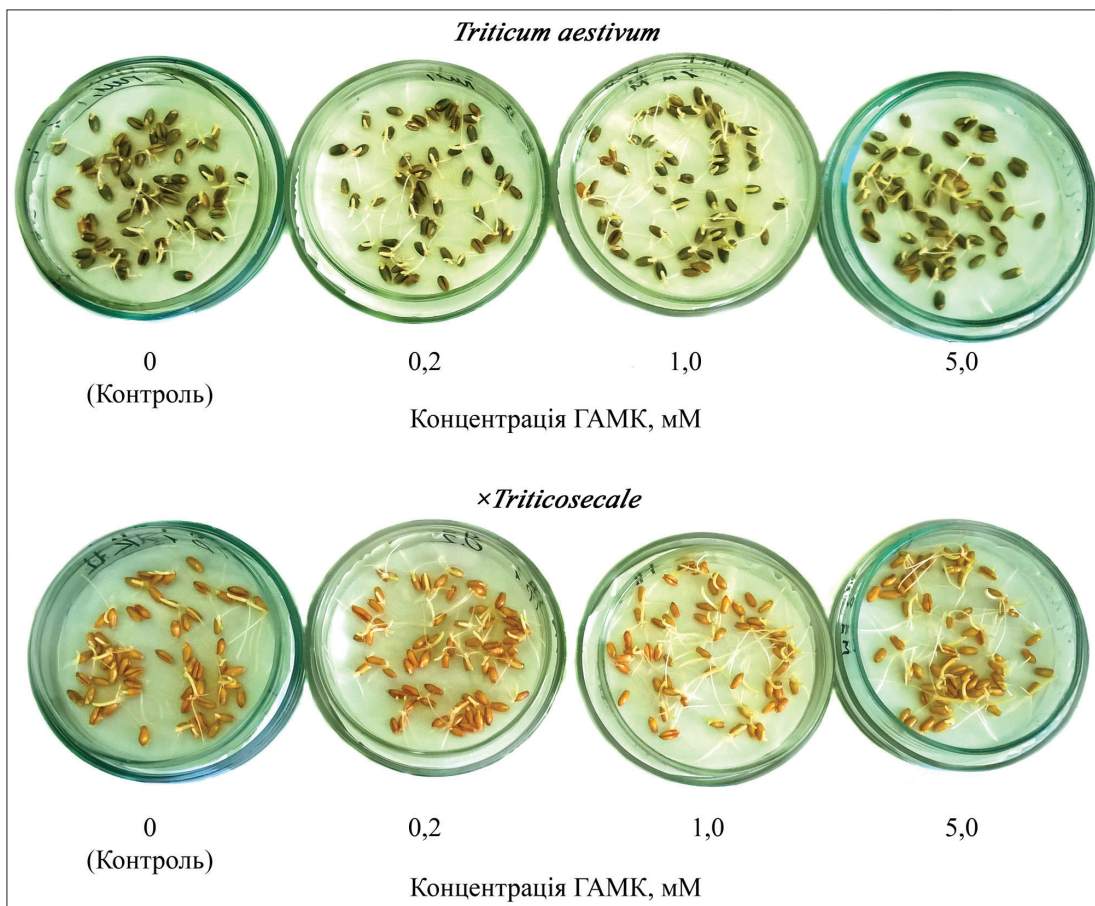


Рис. 1. Проростання зернівки пшениці і тритикале через 48 год перебування на вологому папері
Fig. 1. Germination of wheat and triticale grains after 48 h on wet paper

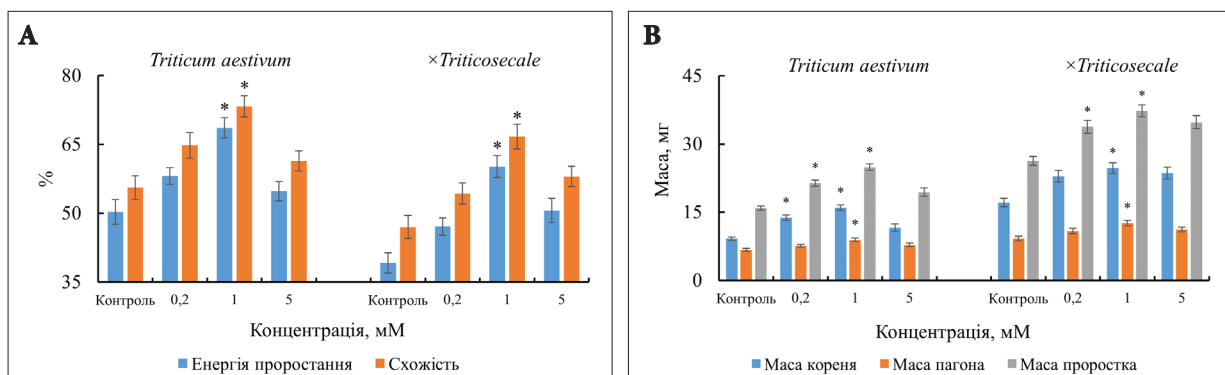


Рис. 2. Концентраційна залежність впливу праймінгу ГАМК на енергію проростання, схожість насіння (А) та біомасу органів проростків пшениці і тритикале (В). Зірочкою позначені достовірні при $p \leq 0,05$ відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

Fig. 2. Concentration dependence of the effect of GABA priming on germination energy, seed germination rates (A), and organ biomass of wheat and triticale seedlings (B). Asterisks indicate significant differences at $p \leq 0.05$ between the control and experimental groups

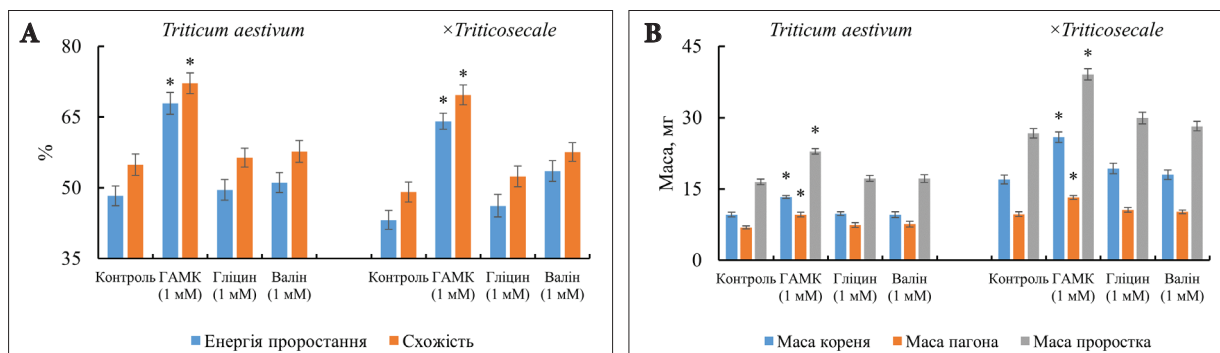


Рис. 3. Порівняння впливу праймінгу ГАМК і α-амінокислотами в концентраціях 1 мМ на енергію проростання (А) та біомасу органів проростків пшениці і тритикале (В). Зірочкою позначені достовірні при $p \leq 0,05$ відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

Fig. 3. Comparison of the effect of priming with GABA and α-amino acids at 1 mM on germination energy (A) and organ biomass of wheat and triticale seedlings (B). Asterisks indicate significant differences at $p \leq 0.05$ between the control and experimental groups

тенденція до деякого зниження активності ферменту (рис. 5А). Водночас у пагонах проростків як пшениці, так і тритикале зафіксовано значне підвищення активності каталази (рис. 5В). Активність іншого ферменту, задіяного у регуляції вмісту гідроген пероксиду — гваяколпероксидази, за обробки зернівок ГАМК в обох видів злаків залишалася без істотних змін (рис. 5С).

Вміст вторинних метаболітів у пагонах проростків пшениці і тритикале

Праймінг зернівок пшениці ГАМК спричинював помітне підвищення загального вмісту фенольних сполук (рис. 6А). 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 вдвічі) збільшення вмісту антоціанів за обробки зернівок 1 мМ ГАМК (рис. 6В).

Обговорення

Отримані результати свідчать про те, що праймінг зернівок пшениці і тритикале, які мають знижені посівні якості через тривале зберігання за несприятливих умов, спричинює 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. 1, 2, 7). Оскільки ефективними виявилися відносно високі концентрації ГАМК (оптимальна — 1 мМ), для доведення специфічності її дії ми порівнювали ефекти ГАМК під впливом праймування зернівок звичайними альфа-амінокислотами в L-формі — гліцином і валіном. Виявилось, що обидві ці амінокислоти істотно не впливали на проростання насіння та накопичення біомаси органами проростків пшениці і тритикале (рис. 3). Таким чином, є підстави вважати, що ГАМК виявляє специфічний регуляторний ефект, не пов'язаний з її використанням при проростанні зернівок як додаткового джерела нітрогену.

Як уже зазначалося, однією з основних причин зниження схожості насіння в часі (його старіння) є окиснювальні пошкодження ліпідів біомембран і, як наслідок, порушення їхньої здатності виконувати відповідні функції. Це стосується і структури та функцій мембран мітохондрій (Xia et al., 2020). Порушення функцій мембран, в яких локалізовані електрон-транспортні ланцюги, додатково підвищує ймовірність утворення АФО і розвитку окиснювального стресу. Відомо, що ГАМК здатна зменшувати окиснювальні пошкодження в мітохондріях та інших клітинних структурах (Bouché et al., 2003; Kolyraev et al., 2024c). Водночас відомо, що початок проростання зернівок супроводжується посиленням утворення АФО (Kranmer et al., 2010). При цьому обробка насіння різними

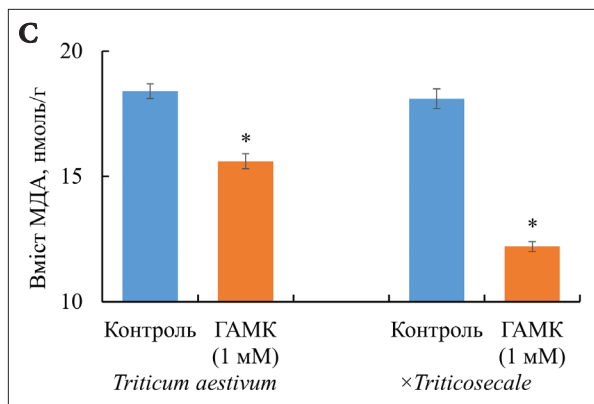
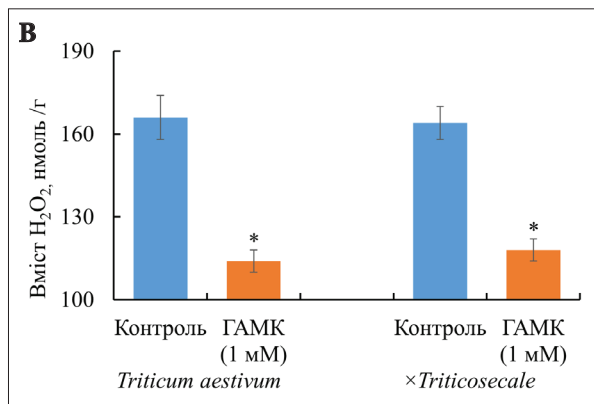
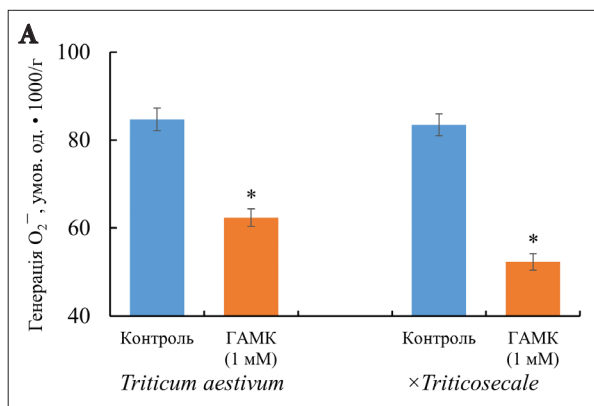


Рис. 4. Генерація супероксидного аніон-радикала (А), вміст гідроген пероксиду (В) і малонового діальдегіду (С) у пагонах проростків пшениці і тритикале. Зірочкою позначені достовірні при $p \leq 0,05$ відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

Fig. 4. Generation of superoxide anion radical (A), content of hydrogen peroxide (B) and malondialdehyde (C) in shoots of wheat seedlings and triticale. Asterisks indicate significant differences at $p \leq 0.05$ between the control and experimental groups

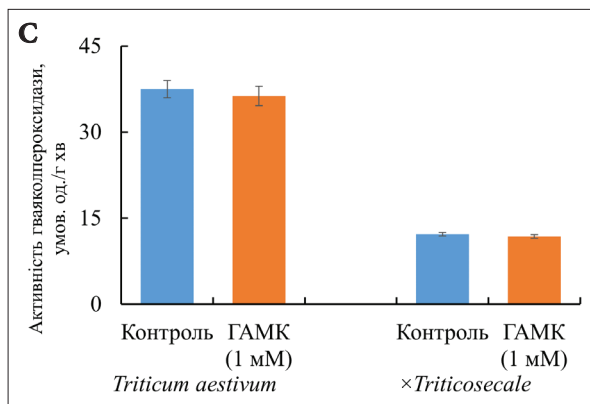
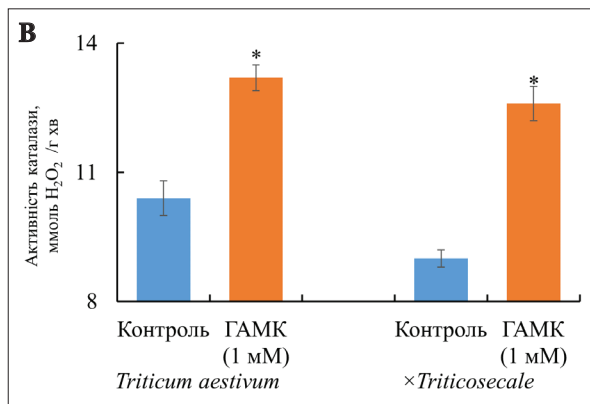
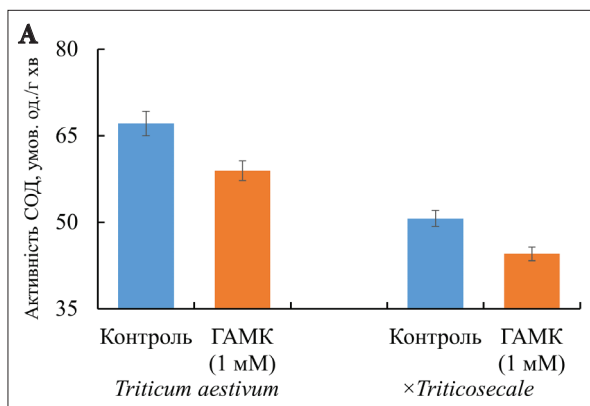


Рис. 5. Активність СОД (А), каталази (В) і гваяколероксидази (С) у пагонах проростків пшениці і тритикале. Зірочкою позначені достовірні при $p \leq 0,05$ відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

Fig. 5. Activity of SOD (A), catalase (B), and guaiacol peroxidase (C) in shoots of wheat and triticale seedlings. Asterisks indicate significant differences at $p \leq 0.05$ between the control and experimental groups

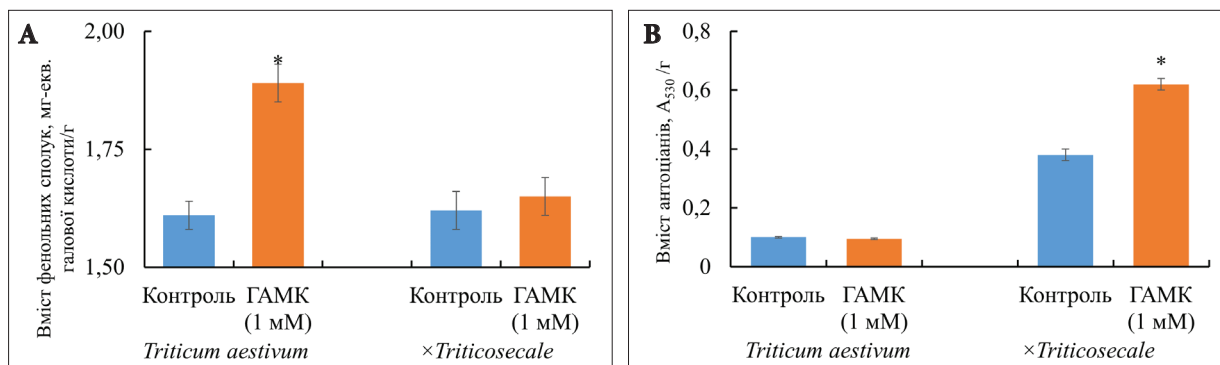


Рис. 6. Вміст фенольних сполук (А) і антоціанів (В) у пагонах проростків пшениці і тритикале. Зірочкою позначені достовірні при $p \leq 0,05$ відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

Fig. 6. Content of phenolic compounds (A) and anthocyanins (B) in shoots of wheat and triticale seedlings. Asterisks indicate significant differences at $p \leq 0.05$ between the control and experimental groups

сполуками з антиоксидантною активністю, зокрема глутатіоном, аскорбіною кислотою, мелатоніном, може підвищувати життєздатність старого насіння (Xia et al., 2020; Kolupaev et al., 2024a). Даних щодо впливу праймінгу ГАМК на проростання старого насіння поки що в літературі замало. Водночас доведено, що попередній праймінг ГАМК насіння *S. pere* значно пом'якшував негативний вплив наступного штучного старіння на жирнокислотний склад і накопичення проростками біомаси (Afshari, Seyyedi, 2020).

Однією з причин підвищення схожості і накопичення біомаси проростками під впливом ГАМК можна вважати зменшення 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. 4, 7). 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. 5, 7). Отже, можна припустити, що істотний внесок у знешкодження супероксидного аніон-радикала робили низькомолекулярні антиоксиданти, зокрема, вторинні метаболіти. У проростках пшениці в наших експериментах спостерігалось підвищення загальної кількості фенольних сполук, а у тритикале — вмісту однієї з груп флавоноїдних сполук — антоціанів (рис. 6, 7). Ці вторинні метаболіти можуть ефективно знешкоджувати АФО, передусім їхні радикальні форми, в т.

ч. і 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 в проростках пшениці і тритикале за обробки насіння ГАМК може бути зумовлено зростанням активності каталази (рис. 5, 7). 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).

З літератури відомі антиоксидантні властивості ГАМК. 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

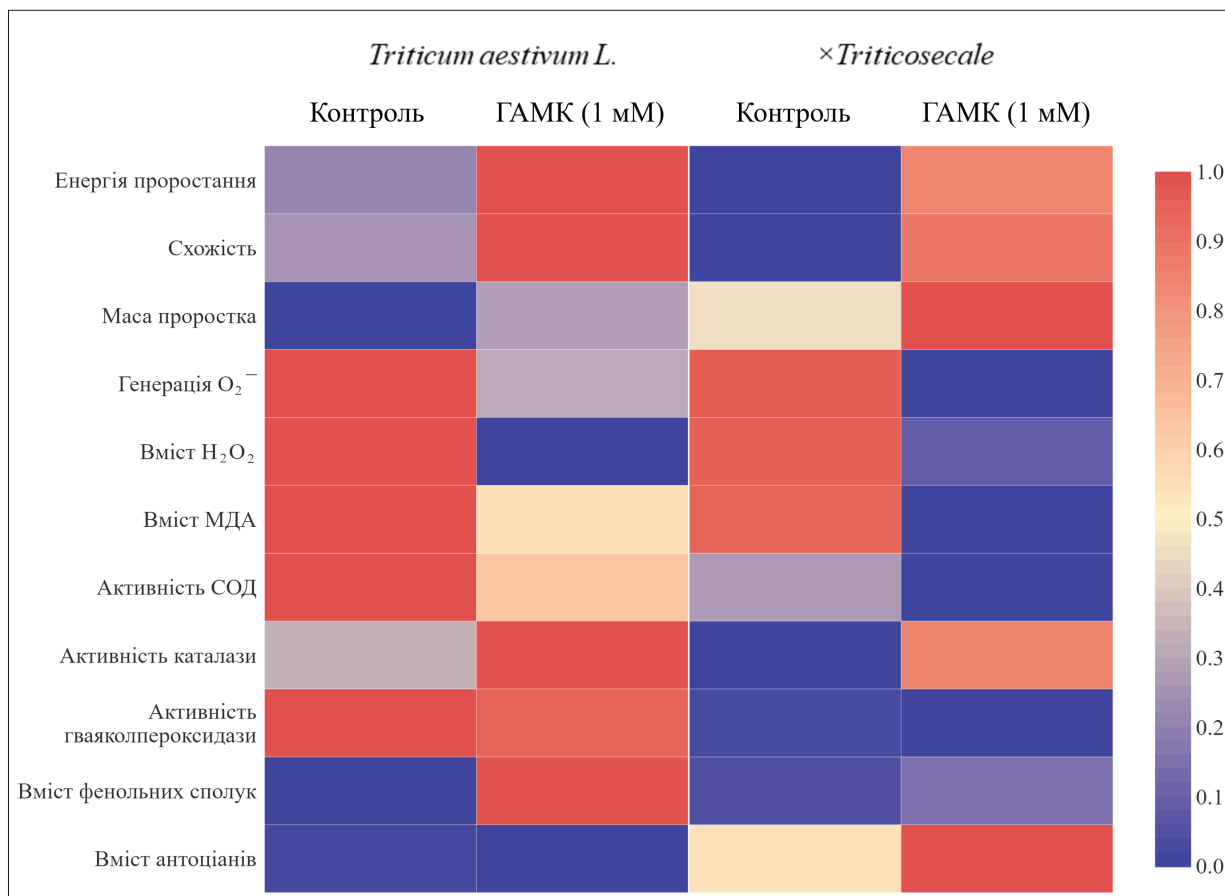


Рис. 7. Теплова карта змін ростових показників і стану антиоксидантної системи проростків пшениці і тритикале за дії 1 мМ ГАМК. Усі показники нормовані від 0 до 1

Fig. 7. Heat map of changes in growth parameters and the antioxidant system of wheat and triticale seedlings under the influence of 1 mM GABA. All values are normalized from 0 to 1

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, 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., 2024c).

У нашій роботі ми зосередили увагу на ролі ГАМК у підтриманні про-/антиоксидантної рівноваги при проростанні старих зернівок злаків. Безумовно, це не єдиний шлях впливу ГАМК на проростання зернівок. Ще однією вагомою складовою впливу ГАМК на проростання зернівок може бути посилення під її впливом експресії

генів і активності α -амілази, що показано на прикладі зернівок ячменю (Sheng et al., 2018). Такий ефект може сприяти активнішому залученню запасних вуглеводів зернівок у метаболічні процеси, що активуються при проростанні насіння.

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). Зрештою, можливі причини позитивного ефекту праймінгу насіння різними сполуками, що впливають на редокс-гомеостаз, включно з ГАМК можна розглядати і з позицій епігенетичних і транскриптомних змін, які здатні зумовлювати збереження так званої "стресової пам'яті" (Liu et al., 2022; Gelaw, Sanan-Mishra, 2024) та пом'якшувати наслідки окиснювального стресу при проростанні зернівок за рахунок швидшої активації стрес-протекторних систем. Проте участь цих процесів в реалізації впливу праймінгу ГАМК на проростання старих зернівок злаків може бути з'ясована лише у спеціальних дослідженнях.

Отже, праймінг насіння ГАМК напевно спричинює активацію широкого спектра фізіолого-біохімічних процесів, які розвиваються в часі, зокрема: посилення ГАМК-шунту в мітохондріях, що сприяє підтриманню редокс-гомеостазу і процесів генерації відновників; синтез окремих низькомолекулярних антиоксидантів та експресії генів антиоксидантних ферментів, а також викликає гідроліз запасних полімерів у зернівках. Як відомо, процеси проростання зернівок супроводжується істотними змінами гормонального балансу. Так, необхідна для проростання зародка активація клітинного циклу індукується підвищеним вмістом етилену і гіберелінів та зменшенням вмісту абсцизової кислоти (Kerczynski et al., 2017). Вплив ГАМК на ці процеси при проростанні насіння дотепер не досліджений. Водночас дані про складні перехресні зв'язки між ГАМК і основними фітогормонами інтенсивно накопичуються (Xu et al., 2021). Зокрема, виявлено ефект антагонізму між ГАМК і абсцизовою кислотою при регуляції ними стану продохів (Xu et al., 2021). Цілком ймовірно, що вплив ГАМК на проростання насіння також включає в себе функціональну взаємодію ГАМК

з ключовими гормонами, задіяними у регуляції цього процесу. Це питання виходить за рамки експериментального матеріалу, отриманого в даній роботі, але може бути перспективним напрямом подальших досліджень.

Висновки

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 аніонрадикала 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.

Подяки

Робота виконувалася за часткової підтримки проектів 14.00.02.06.П "Розробка методів праймінгу насіння зернових злаків дією донорів газотрансмітерів та сполук з гормональною активністю" (номер держреєстрації 0124U000126) та III-2-23 "Генетичні та епігенетичні механізми і фактори захисних і адаптивних реакцій рослин" (номер держреєстрації 0123U101054).

ДОТРИМАННЯ ЕТИЧНИХ НОРМ

Автори повідомляють про відсутність будь-якого конфлікту інтересів.

ORCID

І.В. Шахов: [ID https://orcid.org/0009-0009-6378-9866](https://orcid.org/0009-0009-6378-9866)
 О.І. Кокорев: [ID https://orcid.org/0000-0002-0429-0514](https://orcid.org/0000-0002-0429-0514)
 Т.О. Ястреб: [ID https://orcid.org/0000-0003-3604-9028](https://orcid.org/0000-0003-3604-9028)
 О.П. Дмитрієв: [ID https://orcid.org/0000-0003-2268-9104](https://orcid.org/0000-0003-2268-9104)
 Ю.Є. Колупаєв: [ID https://orcid.org/0000-0001-7151-906X](https://orcid.org/0000-0001-7151-906X)

СПИСОК ПОСИЛАНЬ

- Afshari R.T., Seyyedi S.M. 2020. Exogenous γ -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 Science and Technology*, 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>
- Ashraf M.A., Rasheed R., Hussain I., Iqbal M., Arif M.S. 2019. Chemical priming for multiple stress tolerance. In: *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Eds M. Hasanuzzaman, V. Fotopoulos. Springer: Singapore, pp. 385–415. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1_19
- Babenko L.M., Kosakivska I.V., Romanenko K.O. 2022. Molecular mechanisms of N-acyl homoserine lactone signals perception by plants. *Cell Biology International*, 46(4): 523–534. <https://doi.org/10.1002/cbin.11749>
- 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. *LWT — Food Science and Technology*, 90: 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.070>
- 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>
- 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 γ -aminobutyric acid (GABA), confers protection to reproductive function and yield traits under high-temperature stress environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 22: 5825. <https://doi.org/10.3390/ijms22115825>
- Bobo-García G., Davidov-Pardo G., Arroqui C., Virseda P., Marin-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? *Environmental and Experimental Botany*, 161: 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.015>
- Bouché N., Fait A., Bouchez D., Möller S.G., Fromm H. 2003. Mitochondrial succinic semialdehyde dehydrogenase of the γ -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>
- 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>
- Ellouzi H., Sghayr S., Abdelly C. 2017. H₂O₂ seed priming improves tolerance to salinity; drought and their combined effect more than mannitol in *Cakile maritima* when compared to *Eutrema salsugineum*. *Journal of Plant Physiology*, 210: 38–50. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.11.014>
- 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)
- Gelaw T.A., Sanan-Mishra N. 2024. Molecular priming with H₂O₂ and proline triggers antioxidant enzyme signals in maize seedlings during drought stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1868(7): 130633. <https://doi.org/10.1016/j.bba-gen.2024.130633>
- 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>
- Karpets Y.V., Kolupaev Y.E., Yastreb T.O., Dmitriev O.P. 2012. Possible pathways of heat resistance induction in plant cells by exogenous nitrogen oxide. *Cytology & Genetics*, 46(6): 354–359. <https://doi.org/10.3103/S0095452712060059>
- Kepeczynski J., Cembrowska-Lech D., Sznigir P. 2017. Interplay between nitric oxide, ethylene, and gibberellic acid regulating the release of *Amaranthus retroflexus* seed dormancy. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39: article 254. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2550-2>
- 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. 2014. Reactive oxygen species and stress signaling in plants. *Ukrainian Biochemical Journal*, 86(4): 18–35. [Колупаєв Ю.Є., Карпец Ю.В. Активні форми кислорода і стресовий сигналінг у рослин. *Український біохімічний журнал*, 86(4): 18–35]. <https://doi.org/10.15407/ubj86.04.018>
- Kolupaev Yu.E., Horielova E.I., Yastreb T.O., Ryabchun N.I. 2020. State of antioxidant system in triticale seedlings at cold hardening of varieties of different frost resistance. *Cereal Research Communications*, 48(2): 165–171. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00022-3>
- 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 γ -aminobutyric acid on wheat seedlings under heat stress conditions. *Cytology & Genetics*, 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 γ -aminobutyric acid in cell signaling processes and plant adaptation to abiotic stressors. *Studia Biologica*, 18(1): 125–154. [Колупаєв Ю.Є., Кокорев О.І., Шевченко М.В., Маренич М.М., Коломацька В.П. 2024c. Участь γ -аміномасляної кислоти у клітинних сигнальних процесах і в адаптації рослин до дії абіотичних стресорів. *Біологічні студії*, 18(1): 125–154]. <https://doi.org/10.30970/sbi.1801.752>
- Kosakivska I.V., Vasyuk V.A., Voytenko L.V., Shcherbatiuk M.M. 2022a. Effect of priming with gibberellic acid on acorn germination and growth of plants of *Quercus robur* and *Q. rubra* (Fagaceae). *Ukrainian Botanical Journal*, 79(4): 254–266. [Косаківська І.В., Васюк В.А., Войтенко Л.В., Щербатюк М.М. 2022a. Вплив праймування гіберелловою кислотою на проростання жолудів та ріст рослин *Quercus robur* і *Q. rubra* (Fagaceae). *Український ботанічний журнал*, 79(4): 254–266]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj79.04.254>
- Kosakivska I.V., Vasyuk V.A., Voytenko L.V., Shcherbatiuk M.M., Babenko L.M., Romanenko K.O. 2022b. Effects of exogenous bacterial quorum-sensing signal molecule/messenger N-hexanoyl-L-homoserine lactone (C6-HSL) on acorn germination and plant growth of *Quercus robur* and *Q. rubra* (Fagaceae). *Ukrainian Botanical Journal*, 79(5): 329–338. [Косаківська І.В., Васюк В.А., Войтенко Л.В., Щербатюк М.М., Бабенко Л.М., Романенко К.О. 2022b. Вплив екзогенної обробки водним розчином сигнальної молекули-медіатора бактеріального походження N-гексанойл-L-гомосеринлактону (C6-ГГЛ) на проростання жолудів і ріст рослин *Quercus robur* і *Q. rubra* (Fagaceae). *Український ботанічний журнал*, 79(5): 329–338]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj79.05.329>
- 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. Yastreb, Yu.E. Kolupaev, A.I. Yemets, Ya.B. Blume. New York: Nova Science Publishers, Inc., pp. 259–284. <https://doi.org/10.52305/TXQB2084>
- Kranmer I., Minibayeva F.V., Beckett R.P., Seal C.E. 2010. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist*, 188(3): 655–673. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03461.x>
- Kumar A., Choudhary A., Kaur H., Javed M., Mehta S. 2021. Plant performance and defensive role of γ -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
- Kurek K., Plitta-Michalak B., Ratajczak E. 2019. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process. *Plants (Basel)*, 8(6): 174. <https://doi.org/10.3390/plants8060174>
- Liu H., Able A.J., Able J.A. 2022. Priming crops for the future: rewiring stress memory. *Trends in Plant Science*, 27(7): 699–716. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.11.015>
- Mao C., Zhu Y., Cheng H., Yan H., Zhao L., Tang J., Ma X., Mao P. 2018. Nitric Oxide regulates seedling growth and mitochondrial responses in aged oat seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4): 1052. <https://doi.org/10.3390/ijms19041052>
- 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>
- Neill S.O., Gould K.S. 2003. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? *Functional Plant Biology*, 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. *Journal of Experimental Botany*, 51(348): 1309–1317. <https://doi.org/10.1093/jxb/51.348.1309>
- 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 Reports*, 34(8): 1281–1293. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y>
- Pirredda M., Fañanás Pueyo I., Oñate-Sánchez L., Mira S. 2024. Seed longevity and ageing: a review on physiological and genetic factors with an emphasis on hormonal regulation. *Plants*, 13(1): 41. <https://doi.org/10.3390/plants13010041>
- Probert R., Adams J., Coneybeer J., Crawford A., Hay F. 2007. Seed quality for conservation is critically affected by pre-storage factors. *Australian Journal of Botany*, 55: 326–335.

- Rajjou L., Lovigny Y., Groot S.P.C., Belghaz M., Job C., Job. D. 2008. Proteome-wide characterization of seed aging in *Arabidopsis*: a comparison between artificial and natural aging protocols. *Plant Physiology*, 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 Physiology*, 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 stresstolerance in plants. *Plant and Cell Physiology*, 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 γ -aminobutyric acid (GABA) shunt pathway. *Functional Plant Biology*, 50: 277–293. <https://doi.org/10.1071/FP22211>
- Scandalios J.G. 1997. *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses*. 1st ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 890 pp.
- Sheng Y., Xiao H., Guo C., Wu H., Wang X. 2018. Effects of exogenous gamma-aminobutyric acid on α -amylase activity in the aleurone of barley seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127: 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.02.030>
- Sheteiwiy M.S., Shao H., Qi W., Hamoud Y.A., Shaghaleh H., Khan N.U., Yang R., Tang B. 2019. GABA-alleviated oxidative injury induced by salinity, osmotic stress and their combination by regulating cellular and molecular signals in rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22): 5709. <https://doi.org/10.3390/ijms20225709>
- Simlat M., Ptak A., Skrzypek E., Warcho M., Moraska E., Pirkowska E. 2018. Melatonin significantly influences seed germination and seedling growth of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *PeerJ*, 6: e5009. <https://doi.org/10.7717/peerj.5009>
- 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)
- Vedenicheva N., Futorna O., Shcherbatyuk M., Kosakivska I. 2022. Effect of seed priming with zeatin on *Secale cereale* L. growth and cytokinins homeostasis under hyperthermia. *Journal of Crop Improvement*, 36(5): 656–674. <https://doi.org/10.1080/15427528.2021.2000909>
- 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: *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Eds M. Hasanuzzaman, V. Fotopoulos. Singapore: Springer, pp. 11–41. 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 Biology*, 20(1): 104. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-2321-x>
- Xu B., Sai N., Gilliam M. 2021. The emerging role of GABA as a transport regulator and physiological signal. *Plant Physiology*, 187(4): 2005–2016. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab347>
- 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. *Frontiers in Plant Science*, 9: 1288. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01288>
- 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 Physiology and Biochemistry*, 158: 475–485. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.031>
- Zhou M., Hassan M.J., Peng Y., Liu L., Liu W., Zhang Y., Li Z. 2021. γ -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. *Frontiers in Plant Science*, 12: 776939. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.776939>

Increasing germination and antioxidant activity of aged wheat and triticale grains by priming with gamma-aminobutyric acid

I.V. SHAKHOV ^{1,2}, A.I. KOKOREV ¹, T.O. YASTREB ¹, A.P. DMITRIEV ³, Yu.E. KOLUPAEV ^{1,2,4*}

¹ Yuriev Institute of Plant Production, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, 142 Heroiv Kharkova Ave., Kharkiv 61060, Ukraine

² State Biotechnological University, 44 Alchevskykh Str., Kharkiv 61022, Ukraine

³ Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, 148 Akademika Zabolotnogo Str., Kyiv 03143, Ukraine

⁴ Poltava State Agrarian University, 1/3 Skovorody Str., Poltava 36003, Ukraine

Abstract. During storage, elevated temperature and humidity cause accelerated aging and deterioration of seeds of various plant species, including important cultivated cereals, such as wheat and triticale. Germination of old seeds can be facilitated by seed priming with physiologically active substances that correct the pro/antioxidant balance and reduce the development of oxidative stress. Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a regulatory compound with direct and indirect antioxidant effects. However, its effect on the germination of grains of cereals with low germination has not been extensively studied. The objective of this study was to examine the impact of GABA priming on the germination of aged grains of winter bread wheat (*Triticum aestivum* 'Scorpion') and winter triticale (\times *Triticosecale* 'Raritet'). the extent of oxidative stress and the state of the antioxidant system in seedlings. The results indicated that a three-hour treatment of grains with GABA at the optimal concentration (1 mM) resulted in a significant (18–21%) increase in germination energy and seed germination rate, as well as an increase in the biomass of shoots and roots of seedlings of both species. Concomitantly, the influence of GABA resulted in a reduction in oxidative stress markers, including the generation of superoxide anion radicals, hydrogen peroxide content, and the product of lipid peroxidation malondialdehyde. In wheat seedlings, the total content of phenolic compounds increased, while in triticale seedlings, the content of anthocyanins increased almost twofold. In seedlings derived from GABA-primed grains, catalase activity was also significantly elevated in the absence of notable alterations in superoxide dismutase and peroxidase activity. It was postulated that GABA priming is a promising approach for enhancing the germination of cereal seeds with diminished sowing quality.

Keywords: antioxidant system, gamma-aminobutyric acid, oxidative stress, priming, seed aging, seed germination, \times *Triticosecale*, *Triticum aestivum*