

УДК 581.132:632.954:633.15

ПРОГРАМОВАНА ЗАГИБЕЛЬ КЛІТИН ПРИ ПАТОГЕНЕЗИ, ІНДУКОВАНОМУ В РОСЛИНАХ ГЕРБІЦИДАМИ

Є.Ю. МОРДЕРЕР, М.П. РАДЧЕНКО, А.М. СИЧУК

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17*

Обговорено дані щодо механізмів патогенезу, індукованого в рослинах гербіцидами. Схарактеризовано сучасні відомості про особливості програмованої загибелі клітин (ПЗК) у рослинах, зокрема стосовно ролі в індукції цього процесу активних форм кисню (АФК). Наведено докази участі програмованої загибелі клітин за дії гербіцидів, фітотоксичний ефект яких зумовлений впливом на фотосинтез та утворенням АФК. Розглянуто дані щодо участі АФК-залежної ПЗК у патогенезі, індукованому гербіцидами інгібіторами ацетил-КоА-карбоксилази.

Ключові слова: індукований гербіцидами патогенез, активні форми кисню, програмована загибель клітин.

Розробка селективних гербіцидних препаратів для контролювання бур'янів у посівах сільськогосподарських культур, що базується на використанні явища вибіркої фітотоксичності, започаткувала новий напрям фундаментальних досліджень у галузі патофізіології рослин — фізіології дії гербіцидів [9]. Досі головну увагу в них приділяли визначенню специфічних сайтів, взаємодія з якими забезпечує високу фізіологічну активність гербіцидів. Встановлення молекулярної природи цих сайтів уможливило проведення напівемпіричного скринінгу з використанням залежностей типу структура—активність, що значно пришвидшило пошук нових сполук із високою гербіцидною активністю. Дослідження механізмів надходження, транслокації та метаболічної детоксикації були спрямовані на вивчення процесів, які детермінують концентрацію діючої речовини гербіциду в сайті його дії, що в переважній більшості випадків зумовлює селективність гербіциду. В результаті визначення сайтів дії окремих груп гербіцидів і встановлення систем, що відповідають за їх детоксикацію, досягнуто принципово нового рівня вибіркої фітотоксичності та ефективності контролювання бур'янів створенням генно-інженерними методами трансгенних культурних рослин, стійких до дії гербіцидів [3]. Незважаючи на ці безсумнівні досягнення, залишається чимало питань, відповідь на які неможливо знайти в межах згаданих вище уявлень. Так, відомо, що ефективність застосування ауксиноподібних гербіцидів (АПГ) великою мірою залежить від температури. За спаду температури нижче від певного рівня фізіологічна активність цих гербіцидів практично втрачається [10]. У разі потрапляння рослин у стресовий стан, зокрема в умови посухи, істотно зменшується ефективність контролювання злакових бур'янів гербіцидами з групи інгібіторів ацетил-КоА-карбоксилази (АКК) [1]. В обох цих випадках ос-

лаблення фітотоксичної дії неможливо пояснити зниженням концентрації гербіцидів у сайті дії. Особливостями АКК у пластидах рослин родини тонконогових (злакових) зумовлено те, що гербіциди інгібітори згаданого ферменту діють виключно на рослини цієї родини, тому їх об'єднали у групу так званих грамініцидів [25]. У зв'язку з обмеженістю спектра дії постала потреба комплексування грамініцидів з іншими гербіцидами, ефективними проти дводольних бур'янів. Однак з'ясувалось, що у сумішах із переважною більшістю таких гербіцидів фітотоксична дія грамініцидів антагоністично ослаблюється [1]. В окремих випадках, зокрема в разі комплексування з АПГ, ефективність дії грамініцидів може зменшитись практично до нуля [24, 30, 49, 51]. При цьому встановлено, що антагоністичне ослаблення фітотоксичної дії у сумішах не пов'язане зі змінами в надходженні, транслокації й метаболізмі діючої речовини, а також зі зменшенням інгібування АКК [16].

З наведених даних випливає, що остаточна сила фітотоксичної дії не обов'язково детермінована концентрацією гербіциду в сайті дії та ступенем його впливу на функціональну активність цього сайту, а може визначатись перебігом подальших подій, ініційованих взаємодією гербіциду із сайтом його дії. Для опису сукупності цих подій, початком яких є взаємодія гербіциду із сайтом дії, а кінцевим результатом — пошкодження або загибель рослини, ми пропонуємо застосовувати термін «патогенез, індукований дією гербіцидів».

Оскільки більшість визначених сайтів дії гербіцидів є ферментами, які контролюють активність важливих метаболічних шляхів, логічно припустити, що процес індукованого патогенезу реалізується внаслідок послідовного пригнічення інших метаболічних шляхів і фізіологічних систем, функціонування яких потребує метаболітів, утворення котрих пригнічується дією гербіциду. Безсумнівно, таке послідовне пригнічення відбувається, однак є підстави вважати, що цими пасивними подіями процес патогенезу не вичерпується, в ньому беруть участь певні активні реакції. На користь такої думки свідчить хоча б той факт, що в разі комплексування гербіцидів із різними механізмами дії приблизно у 75 % випадків спостерігається антагоністичне пригнічення фітотоксичності, і тільки у 25 % — взаємодія має адитивний чи синергічний характер [64]. Складно уявити, як саме за пасивного розвитку патогенезу дія одного гербіциду може заважати дії іншого. Участь активних процесів у індукованому патогенезі підтвердили також дані щодо особливостей дії гербіцидів, фітотоксичність яких пов'язана з впливом на процес фотосинтезу. Характерною особливістю всіх цих гербіцидів є залежність фітотоксичності від інтенсивності освітлення: при затіненні фітотоксична дія ослаблюється, при посиленні освітлення — зростає [22]. Якби процес патогенезу був цілком пасивним і залежав виключно від виникнення дефіциту продуктів фотосинтезу, все мало б бути навпаки: затінення збільшувало б дефіцит цих продуктів і тим самим посилювало фітотоксичну дію. Відомо кілька механізмів реалізації фітотоксичної дії шляхом впливу на фотосинтез: інгібування транспорту електронів у ФС II хлоропластів (симтриазини, триазинони, фенілкарбамати, піридазинони, нітрили, бензотіазидоли, заміщені сечовини), перехоплення електронів від природного акцептора у ФС I (похідні біпіридилію), інгібування ферменту протопорфіриногеноксидази (ПРОТО) (дифенілові ефіри, триазинони), пригнічення синтезу каротиноїдів інактивуванням фітоендесатураз (піридинкарбоксаміди) та внаслідок зниження активності

4-гідроксифенілпіруватдіоксигенази (трикетони, ізоксазоли, піразоли) [22]. З'ясовано, що до згаданих вище гербіцидів можна додати також глюфосинат, який є інгібітором глутамінсинтази. Встановлено, що дія глюфосинату не пов'язана з накопиченням токсичної концентрації амонію, як вважали раніше, а зумовлена дезорганізацією фотодихання, що невідомим чином пригнічує фотосинтез [22]. Доведено, що незалежно від первинного сайту дії всі гербіциди, механізм фітотоксичності яких пов'язаний із фотосинтезом, призводять до утворення активних форм кисню (АФК), унаслідок чого пришвидшуються вільнорадикальні реакції пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Чинником загибелі рослин у цьому разі вважали безпосереднє пошкодження найважливіших для функціонування рослинного організму біополімерів вільними радикалами або пошкодження мембранних структур клітин унаслідок пришвидшення реакцій ПОЛ [22]. Однак відомо, що крім безпосереднього пошкодження біополімерів і мембран АФК, які утворюються під дією різноманітних чинників біотичної чи абіотичної природи, здатні індукувати процес програмованої загибелі клітин [17, 28, 31].

Програмована загибель клітини є генетично контрольованим процесом її самоліквідації [23, 42, 44]. Ця подія може відбуватись у разі остаточного виконання клітиною своїх цільових функцій, надпродукування клітин, їх ураження патогенами для запобігання поширенню запальної реакції у тваринних організмів [63], при реакції гіперчутливості у рослин для перешкоджання розвитку патогена та ушкодження ним інших клітин [35]. У різних груп організмів цей процес як фізіологічно нормальний відбувається при загибелі тканин і клітин під час ембріогенезу і морфогенезу [41].

Для визначення процесу самоліквідації клітин шляхом активації ендогенних систем було запропоновано термін «апоптоз», що протиставлявся «некрозу», за якого клітини гинули виключно під дією зовнішнього чинника [63]. Сам термін «апоптоз» давньогрецького походження, означає — «опадання листків», то ж, безсумнівно, цей процес бере активну участь у життєдіяльності рослин, хоча був відкритий і детальніше досліджений у тваринних клітинах. У рослин ПЗК відіграє ключову роль у багатьох процесах: старінні листків, ксилогенезі, відмиранні клітин кореневого чохла, перфорації листової пластинки, соматичному й зиготичному ембріогенезі, гіперчутливій відповіді за інфікування патогенами [15].

Вважалось, що апоптоз є активним енергозалежним процесом, який реалізується запуском генетично запрограмованого каскаду реакцій. Навпаки, за некрозу процес неконтрольований і не потребує витрат власної енергії клітини [53]. У результаті досліджень встановлено головні відмінності між апоптозом і некрозом. Зокрема шляхом апоптозу гинуть окремі клітини, а шляхом некрозу — велика їх кількість. Визначено також основні морфологічні й біохімічні особливості обох процесів. Морфологічні ознаки апоптозу виявляються як на світлооптичному, так і на ультраструктурному рівнях. Найхарактернішими морфологічними ознаками апоптозу є конденсація хроматину й утворення так званих апоптозних тілець. Хроматин конденсується по периферії, під мембраною ядра, при цьому утворюються чітко окреслені щільні маси різних форм і розмірів. Ядро може розділятися на два і більше фрагменти. В апоптотичній клітині формуються глибокі впинання клітинної мембрани, що призводить до відокремлення фрагментів клітини, тобто формування

оточених мембраною апоптозних тілець, які складаються з цитоплазми і щільно упакованих органел з або без фрагментів ядра. На відміну від тваринної рослинна клітина оточена клітинною стінкою, то ж мертві рештки як продукти апоптозу не можуть захоплюватись іншими клітинами, тобто процес фагоцитозу не відбувається [6]. У процесі ПЗК клітинна стінка може або потовщуватись і тим самим заважати потраплянню патогену всередину клітини чи його переміщенню до інших клітин, або ж руйнуватись гідролітичними ферментами.

Головними біохімічними ознаками апоптозу є вихід цитохрому *c* з мітохондрій у цитоплазму клітин, поява фосфатидилсерину у зовнішньому шарі фосфоліпідів плазмалеми та фрагментація ДНК по моно-олігонуклеосомах, унаслідок чого електрофореграма ДНК має вигляд «драбини» [12, 23, 47]. Хоча формування «драбини» ДНК вважається найнадійнішим критерієм ідентифікації апоптичного шляху загибелі клітин, траплялись випадки, коли за наявності інших ознак апоптозу фрагментація ДНК не відбувалась по нуклеосомах [62].

Зроблено припущення, що загибель клітин шляхом апоптозу чи некрозу може залежати від інтенсивності стресового чинника. Так, у культурі клітин моркви через 3–5 год після теплової обробки за 55 °С спостерігалась фрагментація ДНК, а в клітинах, підданих впливу вищих температур, ДНК деградувала хаотично [45]. Встановлено також, що за низьких концентрацій пероксид водню індукує апоптоз, за високих — некроз [40]. Подальшими дослідженнями молекулярних механізмів апоптозу й некрозу доведено, що відмінність між цими процесами в багатьох випадках має кількісний, а не якісний характер. Усвідомлення цього стимулювало формування концепції ПЗК, яка поєднала в собі ендогенні механізми, задіяні у процесах апоптозу, некрозу, аутофагії та гіперчутливої відповіді [33, 43, 46, 52, 56], хоча в окремих випадках термін «апоптоз» продовжують вживати як синонім ПЗК. При цьому дуже важливо наголосити, що відсутність принципових відмінностей між апоптозом і некрозом не заперечує використання характерних ознак апоптозу для визначення участі ПЗК у загибелі клітин.

Процес ПЗК поділяють на три стадії: сигнальну, ефекторну та деструктивну [41]. Важливо підкреслити, що протягом сигнальної та ефекторної стадій процес ПЗК зворотний, і тільки при входженні в деструктивну стадію загибель клітин стає незворотною. Чіткою ознакою деструктивної стадії є міжнуклеосомна фрагментація ДНК [50], тому значну увагу приділяють вивченню ендонуклеаз, які відповідають за деградацію ДНК. У рослин виявлено до 30 типів ендонуклеаз, причетних до ПЗК [57].

Розрізняють три можливі механізми активації ПЗК: рецептор-опосередкований, ядерний та мітохондріальний [39]. Важливо, що вони не є абсолютно незалежними і на певних стадіях можуть перекриватись та доповнювати один одного [36]. За рецептор-опосередкованого механізму активація ПЗК у тваринних організмів відбувається під час зв'язування рецепторів фактора некрозу пухлин (TNF) і Fas-рецепторів зі специфічними лігандами. Це призводить до активації специфічного домену смерті (DED), який запускає в дію каскад специфічних цистеїнових протеаз — так званих каспаз [11]. Відомо, що в індукуванні ПЗК рослин можуть брати участь ліпоксигеназна, НАДФН-оксидазна та NO-синтазна сигнальні системи, здатні активуватись під час взаємодії G-білків плазмалеми з елісаторами чи іншими сигнальними факторами [7]. У

функціонуванні ядерного механізму ПЗК основну роль відіграє білок р53, що є фактором транскрипції. Активація р53 індукує активність проапоптотичних факторів *bax* і рецепторів TNF. Крім того, р53 може переміщуватись із ядра в мітохондрії й ініціювати низку проапоптотичних подій, характерних для цих органел [14]. За мітохондріальним механізмом ПЗК активується внаслідок вивільнення в цитозоль цитохрому *c*, який з'єднується з адапторним білком Араф-1, активує прокаспазу-9, разом вони утворюють комплекс апоптосому, що в свою чергу ініціює активацію каспаз-3, -6 і -7 [65]. Вихід цитохрому *c* з мітохондрій контролюють білки родини *Bcl-2*, частина яких є антиапоптотичними (*bcl-2*), а частина — проапоптотичними (*bax*) [36].

Незважаючи на те що молекулярні механізми ПЗК у рослинних організмів вивчені значно менше, ніж у тваринних, подібність морфологічних і біохімічних ознак ПЗК свідчить про наявність у природі цього процесу багатьох спільних моментів [15, 23, 35]. Так, введення рослинного гомолога антиапоптотичного гена *dad1* в чутливі до температури клітини хом'яка *tsBN7* блокувало індукцію ПЗК температурою, яка в нормальних клітинах призводила до їх загибелі [32]. Ці дані свідчать про подібність принаймні механізмів супресії ПЗК у тварин і рослин.

Хоча в геномі рослин не виявлено генів, гомологічних тим, які кодують каспази тварин, є багато прямих і непрямих доказів участі каспазоподібної активності в розвитку ПЗК рослин [54, 55]. Так, інгібітори тваринних каспаз-1 і -3 (Ac-YVAD-смк, Ac-DEVD-CHO) здатні ослаблювати спричинену бактеріями і вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ) гіперчутливу реакцію в листках тютюну [29]. Крім того, антиапоптотичний білок р35 бакуловірусу та ІАР (інгібітор апоптозу), що, як відомо, пригнічує тваринні каспази, також ефективні в запобіганні загибелі рослинних клітин, індукованої бактеріальними, грибовими і вірусними захворюваннями [38]. Згадані вище інгібітори тваринних каспаз запобігали загибелі клітин тютюну, індукованої ізофеніладенозином [48], і були ефективними в інгібуванні клітинної загибелі від менадіоніндукованого апоптозу в протопластах тютюну [58]. Інгібітор каспази-1 — Ac-YVAD-смк супресує NO-індуковану ПЗК у культурі *Arabidopsis thaliana* [21]. Виділено ядерні серинові протеази та Ca^{2+}/Mg^{2+} -залежні нуклеази із клітин зерна пшениці, в яких відбувалась ПЗК [26]. Активування каспазо-3- та каспазо-6-подібної протеази виявлено під час ПЗК, індукованої тепловим шоком у клітинах тютюну [59]. За дії високої температури каспазо-3- та каспазо-9-подібні протеази активувались також у плодах томатів [37]. У геномі рослин знайдено гени, які кодують протеази, подібні до каспаз тварин, так звані метакаспази [60]. В рослині тютюну і рису ідентифіковано каспазоподібну протеазу, названу фітаспазою [20]. На відміну від тваринних каспаз процесинг фітаспази відбувався автокаталітично, але не у цитоплазмі, а в апопласті. За індукування ПЗК фітаспаза з апопласту надходила у цитоплазму клітин [8].

АФК-опосередкована ПЗК у рослин за дії гербіцидів. Універсальною особливістю ПЗК у різних видів організмів є участь в індукції цього процесу АФК [28, 31]. Тому цілком очікувано перші докази участі ПЗК в індукованому патогенезі отримано для гербіцидів, фітотоксичність яких пов'язана з процесом фотосинтезу й опосередкована утворенням АФК. Встановлено, що за введення тваринного антиапоптотичного гена *Bcl-2* у хлоропласти тютюну підвищувалась їх стійкість до гербіцидів параквату (перехоплювач електронів від природного акцептора ФС I), ацифлуор-

фену, сульфентразону (інгібітори ПРОТО). Тоді як контрольні рослини тютюну за дії цих гербіцидів гинули з ознаками апоптозу, трансгенні рослини виживали без прояву жодних апоптозних ознак [19]. Гербіцид паракват викликав входження з апопласту в цитоплазму фітаспази [20]. За введення методом біобалістики у геном рослин маракуйї антиапоптозного гена *p53* бакуловірусу підвищувалась стійкість рослин до гербіциду глюфосинату [27]. Обробка рослин сої, середньостійких до гербіциду лактофену (інгібітор ПРОТО), супроводжувалась появою некротичних плям у зоні контакту, а загибель клітин — їх аутофлуоресценцією, подібно до того, як за реакції гіперчутливості. Виявлено також індукцію гомолога гена *Hsr203j*, який є геном-маркером гіперчутливої відповіді тютюну [34].

Вивчення природи патогенезу, індукованого грамініцидами, показало, що цей процес опосередкований утворенням АФК. Першим свідченням можливої участі АФК були дані щодо ослаблення фітотоксичної дії грамініцидів екзогенними антиоксидантами [13]. Оскільки в разі обробки антиоксидантами цілих рослин захисний ефект можна було пов'язати з побічним впливом грамініцидів на фотосинтез [18], дослідження з вивчення участі АФК у патогенезі, індукованому грамініцидом галоксифоп-*R*-метилом (ГМ), проводили на етіологованих проростках кукурудзи. Встановлено, що за дії ГМ антиоксидант іонол гальмував, а пероксид водню пришвидшував появу некрозів у меристемах коренів. Після обробки гербіцидом у меристемах короткочасно зростав вміст перексиду водню й пролонговано збільшувався вміст супероксидних аніон-радикалів. У разі обробки антиоксидантом іонолом зменшувалась, а пероксидом водню — збільшувалась інтенсивність утворення АФК за дії ГМ [5]. Нашими дослідженнями показано, що характер взаємодії грамініцидів з гербіцидами, ефективними проти дводольних видів бур'янів, детермінований впливом останніх на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги: у разі підвищення активності антиоксидантних систем взаємодія була антагоністичною, за інтенсифікації окиснювальних процесів — синергічно посилювалась фітотоксична дія. Останній висновок підтверджено також даними щодо впливу специфічного інгібітору активності антиоксидантного ферменту супероксиддисмутази (СОД) діетилдитіокарбаматнатрію тригідрату на характер взаємодії в антагоністичній суміші грамініциду феноксапроп-*p*-етилу (ФП) та гербіциду інгібітору ацетолактатсинтази амідосульфурону. Обробка рослин інгібітором СОД змінювала антагоністичний характер взаємодії ФП з амідосульфуроном на адитивний. Сукупність отриманих даних однозначно свідчила про участь АФК в індукованому грамініцидами патогенезі. Оскільки поява у меристемах злакових рослин некрозів, індукованих грамініцидами, не супроводжувалась пришвидшенням реакцій ПОЛ [2], а баланс між генеруванням і знешкодженням АФК може бути вирішальним для розвитку ПЗК [28], логічно припустити, що роль АФК у розвитку фітотоксичної дії грамініцидів полягає в індукції ПЗК.

До останнього часу питання щодо можливої участі ПЗК в індукованому грамініцидами патогенезі не поставало. Ми знайшли тільки одну роботу, результати якої можна вважати свідченням такої можливості. Доведено, що за синергічного посилення фітотоксичної дії похідних 2,6-динітроаніліну (інгібітори полімеризації мікротрубочок) грамініцидами у проростках ячменю та редьки з'являлись окремі ознаки ПЗК. Зокрема, у разі застосування специфічних барвників було виявлено аци-

дофікацію цитоплазми, а методом TUNEL встановлено наявність фрагментації ДНК *in situ* [4]. Проте ці дані отримано для суміші гербіцидів, тому неможливо визначити, чи пов'язана індукція ПЗК саме з дією грамініцидів. Крім того, доцільність застосування методу TUNEL для виявлення міжнуклеосомної фрагментації ДНК залишається дискусійною. Оскільки найнадійнішим маркером ПЗК є міжнуклеосомна фрагментація ДНК [50], для визначення участі ПЗК в індукованому грамініцидами патогенезі ми дослідили характер фрагментації ДНК у меристемах коренів проростків кукурудзи за дії грамініциду ГМ. Результати досліджень показали, що в контрольному варіанті ДНК залишалась інтактною протягом усього періоду спостережень. За дії ГМ електрофореетичне розділення ДНК не відрізнялось від контрольного варіанта протягом 1- та 2-ї доби пророщування. На 3-тю добу за дії гербіциду спостерігалась часткова фрагментація ДНК, але без ознак розділення на олігонуклеосомні частини. Починаючи з 4-ї доби, за дії ГМ на електрофореграмі ДНК з'являлись смужки, що відповідали фрагментам із молекулярною масою приблизно кратною 180—200 пн. Електрофореграма ДНК, виділеної з меристем коренів проростків кукурудзи за дії грамініциду, була аналогічною електрофореграмі ДНК, виділеної нами з листків гороху за дії гербіциду диквату. Для гербіциду параквату, аналогічного диквату, факт індукції ПЗК можна вважати встановленим [19]. Отже, отримані нами результати цілком підтвердили, що в патогенезі, індукованому гербіцидами інгібіторами АКК, задіяний процес ПЗК.

На сьогодні чітко встановлено, що процес ПЗК бере участь у патогенезі, індукованому гербіцидами, які впливають на фотосинтез, а також гербіцидами інгібіторами АКК. Є всі підстави очікувати, що ці гербіциди не є винятком і ПЗК може бути залучена в патогенез, індукований гербіцидами з іншими механізмами фітотоксичності. Головний висновок, який випливає з встановлення факту участі ПЗК, полягає в тому, що індукований гербіцидами патогенез — складний, багатостадійний процес, який неодмінно включає активну стадію. Необхідністю активації задіяних у ПЗК енергозалежних систем можна пояснити залежність фітотоксичної дії гербіцидів від умов середовища, зокрема втрату активності ауксиноподібних гербіцидів за низьких температур. Переважання антагоністичної вдаємодії в разі комплексування гербіцидів також може бути пов'язане з активним характером індукованого патогенезу. Подальші дослідження особливостей молекулярних механізмів ПЗК можуть відкрити нові шляхи регуляції вибіркової фітотоксичності гербіцидів. Сполуки, здатні посилювати проапоптозні фактори, чинитимуть більшу фітотоксичну дію на бур'яни, а активація антиапоптозних систем, навпаки, сприятиме підвищенню стійкості культурних рослин до гербіцидів. Можливість впливу на стійкість рослин до різноманітних стресорів, у тому числі й до гербіцидів, унаслідок зміни активності окремих ланок ПЗК підтверджують дані щодо активації антиапоптозних білків у рослин з нокдауном генів каталази і цитозольної аскорбатпероксидази (*apx1/cat2*). Ці рослини набували стійкості до ДНК-ушкоджувальних чинників, окиснювального стресу та до дії гербіциду норфлуразолу (інгібітор синтезу каротиноїдів) [61]. Отже, є безперечною важливість подальшого вивчення участі ПЗК в індукованому гербіцидами патогенезі для подальшого вдосконалення хімічного методу контролювання бур'янів і розширення наших уявлень про механізми стійкості рослин до стресорів.

1. Мордерер Є.Ю., Мережинський Ю.Г. Гербициди. Механізми дії та практика застосування. — К.: Логос, 2009. — Т. 1. — 379 с.
2. Мордерер Є.Ю., Паланиця М.П., Родзевич О.П. Дослідження участі вільнорадикальних окиснювальних реакцій у розвитку фітотоксичної дії грамініцидів // Физиология и биохимия культ. растений. — 2008. — **40**, № 1. — С. 56–62.
3. Мордерер Є.Ю. Сучасний стан, проблеми та перспективи розвитку хімічного методу боротьби з бур'янами // Там само. — № 6. — С. 492–502.
4. Ожередов С.П., Емец А.И., Литвин Д.И. и др. Антимитотическое действие новых производных 2,6-динитроанилина и их синергическая активность в композициях с граминицидами // Цитология и генетика. — 2010. — № 5. — С. 54–59.
5. Паланиця М.П., Трач В.В., Мордерер Є.Ю. Генерування активних форм кисню за дії грамініцидів і модифікаторів їх активності // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — **41**, № 4. — С. 328–334.
6. Самуилов В.Д. Программируемая клеточная смерть // Биохимия. — 2000. — **65**, № 8. — С. 1029–1046.
7. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. — М.: Наука, 2002. — 294 с.
8. Тужиков А.И. Структура и свойства фитаспазы *Nicotiana tabacum*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 2011. — 20 с.
9. Федтке К. Биохимия и физиология действия гербицидов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 222 с.
10. Чкаников Д.И., Соколов М.С. Гербицидное действие 2,4-Д и других галоидфеноксикислот. — М.: Наука, 1973. — 215 с.
11. Ashkenazi A., Dixit V.M. Death receptors: signaling and modulation // Science. — 1998. — **281**. — P. 1305–1308.
12. Balk J., Leaver C.J., McCabe P.F. Translocation of cytochrome c from the mitochondria to the cytosol occurs during heat-induced programmed cell death in cucumber plants // FEBS Lett. — 1999. — **463**. — P. 151–154.
13. Banas A., Johansson G., Stenlid G., Stymne S. Free radical scavengers and inhibitors of lipoxygenases as antagonists against the herbicides haloxyfop and alloxymid // Swed. J. Agr. Res. — 1993. — **23**. — P. 65–67.
14. Bates S., Vousden K.H. Mechanisms of p53-mediated apoptosis // Cell Mol. Life Sci. — 1999. — **55**. — P. 28–37.
15. Beers E.P. Programmed cell death during plant growth and development // Cell Death Differ. — 1997. — **4**. — P. 649–661.
16. Bjelk L., Monaco T. Effect of chlorimuron and quizalofop on fatty acid biosynthesis // Weed Sci. — 1992. — **40**. — P. 1–6.
17. Breusegem F.V., Dat J.F. Reactive oxygen species in plant cell death // Plant Physiol. — 2006. — **141**. — P. 384–390.
18. Chandrasena J., Sagar G. Effect of fluazifop-butyl on the chlorophyll content, fluorescence and chloroplast ultrastructure of *Elymus repens* leaves // Weed Res. — 1987. — **27**. — P. 103–112.
19. Chen H.M., Zhou J., Dai Y.R. Cleavage of lamin-like proteins in in vivo and in vitro apoptosis of tobacco protoplasts induced by heat shock // FEBS Lett. — 2000. — **480**. — P. 165–168.
20. Chichkova N.V., Shaw J., Galiullina R.A. et al. Phytaspase, a relocatable cell death promoting plant protease with caspase specificity // EMBO J. — 2010. — **29**. — P. 1149–1161.
21. Clarke A., Desikan R., Hurst R.D. et al. NO way back: nitric oxide and programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures // Plant J. — 2000. — **24**. — P. 667–677.
22. Dan Hess F. Light-dependent herbicides: an overview // Weed Sci. — 2000. — **48**. — P. 160–170.
23. Danon A., Delorme V.G., Mailhac N., Gallois P. Plant programmed cell death: A common way to die // Plant Physiol. Biochem. — 2000. — **38**. — P. 647–655.
24. Dechamps J.A., Hsiao A.I., Quick W.A. Antagonistic effect of MCPA on fenoxaprop activity // Weed Sci. — 1990. — **38**. — P. 62–66.
25. Delye C. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update // Ibid. — 2005. — **53**. — P. 728–746.
26. Dominguez F., Cejudo F. Identification of a nuclear-localized nuclease from wheat cells undergoing programmed cell death that is able to trigger DNA fragmentation and apoptotic morphology on nuclei from human cells // Biochem. J. — 2006. — **397**. — P. 529–536.
27. de Freitas D., Coelho M., Souza M. Introduction of anti-apoptotic baculovirus p35 gene in passion fruit induces herbicide tolerance, reduced bacterial lesions, but does not inhibit passion fruit woodiness disease progress induced by cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) // Biotechnol. Lett. — 2007. — **29**. — P. 79–87.

28. *De Pinto M., Locato V., de Gara L.* Redox regulation in plant programmed cell death // *Plant Cell Environ.* — 2012. — **35**. — P. 234–244.
29. *Del Pozo O., Lam E.* Caspases and programmed cell death in the hypersensitive response of plants to pathogens // *Curr. Biol.* — 1998. — **8**. — P. 1129–1132.
30. *Fletcher R.A., Drexler D.M.* Interaction of diclofop-methyl and 2,4-D in cultivated oats (*Avena sativa* L.) // *Weed Sci.* — 1980. — **28**. — P. 363–366.
31. *Gadjev I., Stone J.M., Gechev T.S.* Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide // *Int. Rev. Cell and Mol. Biol.* — 2008. — **270**. — P. 87–144.
32. *Gallois P., Makishima T., Hecht V. et al.* An *Arabidopsis thaliana* cDNA complementing a hamster apoptosis suppressor mutant // *Plant. J.* — 1997. — **11**. — P. 1325–1331.
33. *Golstein P., Kroemer G.* Cell death by necrosis: towards a molecular definition // *Trends in Biochem. Sci.* — 2006. — **32**, N 1. — P. 37–43.
34. *Graham M.Y.* The diphenylether herbicide lactofen induces cell death and expression of defense-related genes in soybean // *Plant Physiol.* — 2005. — **139**. — P. 1784–1794.
35. *Greenberg J.T.* Programmed cell death: a way of life for plants // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1996. — **93**. — P. 12094–12097.
36. *Gross A., McDonnell J.M., Korsmeyer S.J.* BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis // *Genes Dev.* — 1999. — **13**. — P. 1899–1911.
37. *Gui-Qin Qu, Xiang Liu, Ya-Li Zhang et al.* Evidence for programmed cell death and activation of specific caspase-like enzymes in the tomato fruit heat stress response // *Planta.* — 2009. — **229**, N 6. — P. 1269–1279.
38. *Hansen G.* Evidence for *Agrobacterium*-induced apoptosis in maize cells // *Mol. Plant Microbe Interact.* — 2000. — **13**, N 6. — P. 649–657.
39. *Hengartner M.O.* The biochemistry of apoptosis // *Nature.* — 2000. — **407**. — P. 770–776.
40. *Houot V., Etienne P., Petitot A.S. et al.* Hydrogen peroxide induces programmed cell death features in cultured tobacco BY-2 cells, in a dose-dependent manner // *J. Exp. Bot.* — 2001. — **52**. — P. 1721–1730.
41. *Jacobson M.D., Weil M., Raff M.C.* Programmed cell death in animal development // *Cell.* — 1997. — **88**. — P. 347–354.
42. *Jones A.M.* Programmed cell death in development and defense // *Plant Physiol.* — 2001. — **125**. — P. 94–97.
43. *Kroemer G., Galluzzi L., Vandenabeele P. et al.* Nomenclature Committee on Cell Death — Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death // *Cell Death Differ.* — 2009. — **16**, N 1. — P. 3–11.
44. *Lam E.* Controlled cell death, plant survival and development // *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* — 2004. — **5**. — P. 305–315.
45. *McCabe P.F., Levine A., Meijer P.-J. et al.* A programmed cell death pathway activated in carrot cells cultured at low cell density // *Plant J.* — 1997. — **12**, N 2. — P. 267–280.
46. *Melino G.* The meaning of death // *Cell Death Differ.* — 2002. — **9**, N 4. — P. 347–348.
47. *Mittler R., Simon L., Lam E.* Pathogen-induced programmed cell death in tobacco // *J. Cell. Sci.* — 1997. — **110**. — P. 1333–1344.
48. *Mlejnek P., Prochazka S.* Activation of caspase-like proteases and induction of apoptosis by isopentenyladenosine in tobacco BY-2 cells // *Planta.* — 2002. — **215**, N 2. — P. 158–166.
49. *Mueller T., William W., Barret M.* Antagonism of johnsongrass control with fenoxaprop, haloxyfop and sethoxydim by 2,4-D // *Weed Technol.* — 1989. — **3**. — P. 86–89.
50. *O'Brien I.E., Baguley B.C., Murray B.G. et al.* Early stages of the apoptotic pathway in plant cells are reversible // *Plant J.* — 1998. — **13**. — P. 803–814.
51. *Olson W.A., Nalewaja J.D.* Antagonistic effects of MCPA on wild oat (*Avena fatua* L.) control with diclofop // *Weed Sci.* — 1981. — **29**. — P. 566–571.
52. *Proskuryakov S.Y., Konoplyannikov A.G., Gabai V.L.* Necrosis: a specific form of programmed cell death? // *Exp. Cell Res.* — 2003. — **283**, N 1. — P. 1–16.
53. *Reape T.J., Molony E.M., McCabe P.F.* Programmed cell death in plants: distinguishing between different modes // *Exp. Bot.* — 2008. — **59**. — P. 435–444.
54. *Rotari V.I., He R., Gallois P.* Death by proteases in plants: who dun it // *Physiol. plant.* — 2005. — **123**. — P. 376–385.
55. *Solomon M., Belenghi B., Delledonne M. et al.* The involvement of cysteine proteases and protease inhibitor genes in the regulation of programmed cell death in plants // *Plant Cell.* — 1999. — **11**. — P. 431–444.
56. *Sperandio S., de Belle I., Bredesen D.* An alternative non apoptotic form of programmed cell death // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2000. — **97**. — P. 14376–14381.
57. *Sugiyama M., Ito J., Aoyagi S., Fukuda H.* Endonucleases // *Plant Mol. Biol.* — 2000. — **44**. — P. 387–397.
58. *Sun Y.L., Zhao Y., Hong X., Zhai Z.H.* Cytochrome *c* release and caspase activation during menadione-induced apoptosis in plants // *FEBS Lett.* — 1999. — **462**, N 3. — P. 317–321.

59. Tian R., Zhang G.Y., Yan C.H., Dai Y.R. Involvement of poly (ADP-ribose) polymerase and activation of caspase-3-like protease in heat shock-induced apoptosis in tobacco suspension cells // *Ibid.* — 2000. — **474**. — P. 11–15.
60. Uren A.G., O'Rourke K., Aravind L.A. et al. Identification of paracaspases and metacaspases: two ancient families of caspase-like proteins, one of which plays a key role in MALT lymphoma // *Mol. Cell.* — 2000. — **6**. — P. 961–967.
61. Vanderauweera S. Extranuclear protection of chromosomal DNA from oxidative stress // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2011. — **108**, N 4. — P. 1711–1716.
62. Vaux P.L. Cell death in development // *Cell.* — 1999. — **96**. — P. 245–254.
63. Wyllie A.H., Kerr J.F., Currie A.R. Cell death: the significance of apoptosis // *Int. Rev. Cytol.* — 1980. — **68**. — P. 251–306.
64. Zhang J., Hamill A.S., Weaver S. Antagonism and synergism between herbicides: trends from previous studies // *Weed Technol.* — 1995. — **9**. — P. 86–90.
65. Zou H., Li Y., Liu X., Wang X. An APAF-1 cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9 // *J. Biol. Chem.* — 1999. — **274**. — P. 11549–11556.

Отримано 16.05.2013

ПРОГРАММИРОВАННАЯ ГИБЕЛЬ КЛЕТОК ПРИ ПАТОГЕНЕЗЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ В РАСТЕНИЯХ ГЕРБИЦИДАМИ

Е.Ю. Мордерер, М.П. Радченко, А.М. Сычук

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Обсуждены данные по механизмам патогенеза, индуцированного в растениях гербицидами. Охарактеризованы современные данные об особенностях программированной гибели клеток (ПГК) в растениях, в частности о роли в индукции этого процесса активных форм кислорода (АФК). Приведены доказательства участия программированной гибели клеток при действии гербицидов, фитотоксический эффект которых обусловлен влиянием на фотосинтез и образованием АФК. Рассмотрены данные об участии АФК-зависимой ПГК в патогенезе, индуцированном гербицидами ингибиторами ацетил-КоА-карбоксилазы.

PROGRAMMED CELL DEATH IN THE PATHOGENESIS, INDUCED BY HERBICIDES IN PLANTS

Ye.Yu. Morderer, M.P. Radchenko, A.M. Sychuk

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The data about mechanisms of the pathogenesis induced by herbicides in plants are reviewed. The novel data about features of programmed cell death (PCD) in plants has been characterised, specifically about reactive oxygen species (ROS) role in induction of this process. The evidence of the participation of programmed cell death in herbicides action, which phytotoxicity realize by influence on photosynthesis and ROS formation is given. The data about the participation of ROS-dependent PCD in the pathogenesis induced by herbicides inhibitors of acetyl-CoA-carboxylase are presented.

Key words: pathogenesis induced by herbicides, reactive oxygen species, programmed cell death.