

УДК 581.1

## **КАЛЬЦИЙ И СТРЕССОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ**

© 2007 г. Ю. Е. Колупаев

*Харьковский национальный аграрный университет им. В. В. Докучаева  
(Харьков, Украина)*

В обзоре рассматривается роль ионов кальция в формировании ответных реакций растений на стрессовые воздействия, связь сигналов кальция с другими внутриклеточными мессенджерами, задействованными в стресс-реакциях. Основное внимание уделяется взаимосвязи между изменениями кальциевого статуса клеток и образованием активных форм кислорода (АФК). На основании анализа литературных данных показана неоднозначность таких связей: в одних случаях  $\text{Ca}^{2+}$  индуцирует образование АФК в растительных клетках; в других – АФК вызывают выход кальция в цитозоль; нередко подобные эффекты наблюдаются одновременно. Обосновывается предположение, что  $\text{Ca}^{2+}$  и АФК являются ключевыми компонентами (мессенджерами) единой сети, объединяющей сигнальные системы растительных клеток. На разных этапах ее функционирования возможно взаимное усиление действия этих мессенджеров.

**Ключевые слова:** *кальций, стресс, активные формы кислорода, внутриклеточные мессенджеры, сигнальные системы*

В настоящее время кальций рассматривается как химический элемент, принимающий участие практически во всех функциях растительного организма. Он является одним из наиболее распространенных элементов живой материи. Содержание кальция в растениях составляет около 0,2%, а в старых листьях до 1% сухой массы. При этом распределение кальция в клетках крайне неравномерное. В цитоплазме его концентрация чрезвычайно мала и составляет  $10^{-8}$ - $10^{-7}$  М. Однако в хлоропластах, митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме она равна  $10^{-4}$ - $10^{-3}$  М, а в вакуоли и клеточных стенках может достигать  $10^{-2}$  М [119].

Общеизвестна роль ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в поддержании коллоидно-химических свойств протоплазмы, регуляции ее гидратации и вязкости. К достаточно специфическим функциям кальция относится его участие в формировании структуры срединной пластинки клеточной стенки.

Вполне естественно значение кальция в стрессовых реакциях растений. На многих объектах показано повышение устойчивости растительных тканей и интактных растений к на-

греву [2, 57, 58], охлаждению [60, 90], осмотическому [97, 117] и солевому стрессам [61], анаэробии [3], избытку ультрафиолета В [131], возбудителям болезней [125] и другим неблагоприятным факторам под действием экзогенного кальция.

Долгое время роль ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в повышении устойчивости растений к разнообразным стрессовым факторам связывали с его способностью поддерживать стабильность белков [1] и мембран [63]. Еще в работах 50-70 гг. прошлого столетия были накоплены данные о протекторном действии кальция на многие ферменты и другие белки растений, животных и микроорганизмов при нагреве, воздействии уксусной кислоты, этанола и прочих денатурирующих агентов. Подобные защитные эффекты кальция были воспроизведены и на клеточном уровне. Так, было показано повышение теплоустойчивости клеток эпидермиса листьев традесканции после их инкубации в растворах  $\text{CaCl}_2$  [2]. При этом эффекты хлорида кальция были сопоставимы с действием кратковременных тепловых закалок и не суммировались с ним. Высказано предположение о способности  $\text{Ca}^{2+}$  быстро и обратимо связываться с белками и тем самым повышать их термостабильность [1].

---

*Адрес для корреспонденции:* Колупаев Юрий Евгеньевич, Харьковский национальный агроуниверситет, п/о «Коммунист», Харьков, 62483, Украина  
e-mail: plant\_biology@agrouniver.kharkov.com

## **КАЛЬЦИЙ И СТРЕССОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ**

Известны данные и о способности ионов  $\text{Ca}^{2+}$  взаимодействовать с полярными группами фосфолипидов [56], что важно для стабилизации мембранных структур.

Имеется немало сведений о роли  $\text{Ca}^{2+}$  как обязательного компонента многих ферментативных систем растительной клетки как стимулируемых кальмодулином, так и действующих без его участия. Особенно много кальцийзависимых энзиматических систем находится в митохондриях и хлоропластах [103].

В то же время в течение трех последних десятилетий накапливались сведения об эффектах кальция, которые невозможно было объяснить лишь его локальным действием на ферменты либо способностью стабилизировать мембраны и защищать белки от денатурации. Так, было показано, что ионы кальция повышали устойчивость растений к очень широкому спектру стрессоров, в т. ч. тех, действие которых прямо не связано с денатурацией белков [40, 125].

В начале 80-х годов прошлого столетия Расмуссеном была сформулирована концепция, согласно которой кальций выполняет функцию вторичного мессенджера при проведении сигналов, поступающих из внешней и внутренней среды организма [105] (цит. по [29]). Ныне роль кальция как универсального триггера клеточных реакций растительных и животных организмов практически не вызывает сомнений [29, 74]. Именно цитозольный кальций может служить связующим звеном для многих сигнальных путей, содействуя формированию сигнальной сети растительной клетки [32, 74].

В последние годы вышел ряд детальных обзоров с анализом функций ионов  $\text{Ca}^{2+}$  как вторичного посредника при передаче сигналов в растительных клетках [29, 95, 103, 106]. Тем не менее, сведения о некоторых функциях кальция в условиях стрессов остаются весьма противоречивыми, во многом неясна последовательность кальцийзависимых событий, возникающих при стрессовом ответе растительных клеток, связь сигналов кальция с другими внутриклеточными мессенджерами, задействованными в стресс-реакциях, в частности, активными формами кислорода (АФК). До сих пор, несмотря на обширную феноменологию влияния кальция на устойчивость растений, мало исследованными остаются конкретные защитные реакции, индуцируемые ионами  $\text{Ca}^{2+}$  в условиях действия стресс-факторов различной природы.

Анализ данных, связанных с этими вопросами, и явился основной целью настоящего обзора.

### ***Кальциевая сигнальная система***

Современные представления о кальциевой сигнальной системе детально изложены в ряде недавно вышедших обзоров [29, 32, 103]. В связи с этим приведем ее описание в обобщенном виде и акцентируем внимание на невыясненных моментах, связанных с функционированием при передаче стрессовых сигналов.

Повышение концентрации ионов кальция в цитозоле является одной из наиболее ранних реакций клетки на различные внешние воздействия, в т.ч. стрессовые. Как правило, подобное явление носит кратковременный характер и сменяется снижением цитозольного содержания кальция. Однако такой кальциевой вспышки может быть достаточно для запуска глубоких метаболических изменений в клетке. Декодирование кальциевого сигнала происходит с участием большого количества кальцийсвязывающих белков. Среди них особую роль играют кальмодулин и протеинкиназы. Различают несколько типов протеинкиназ, регулируемых непосредственно ионами кальция либо кальмодулином. Последний приобретает свойства регуляторного белка после связывания с четырьмя ионами  $\text{Ca}^{2+}$  [29]. Кальмодулин не проявляет энзиматической активности, однако участвует в регуляции активности многих ферментов, в т.ч. протеинкиназ. Протеинкиназы как кальмодулинзависимые, так и кальмодулиннезависимые, но зависимые от ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , осуществляют фосфорилирование белков – факторов регуляции транскрипции. Преимущественно с помощью различных протеинкиназ и передается сигнал на геном, приводящий к активации экспрессии генов, кодирующих белки, важные для защитного ответа клетки на действие стрессора [32].

*Кальциевые каналы и регуляция их состояния.* Поступление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль происходит благодаря открыванию кальциевых каналов различных типов. Такие каналы выявлены в плазмалемме, тонопласте, мембранах эндоплазматического ретикулума, хлоропластов и ядерной мембране [50, 121]. Кальциевые каналы разделяют на две основные группы – потенциалзависимые и лигандуправляемые, открывающиеся, соответственно, при изменении мембранного потенциала или в результате взаимодействия определенного лиганда (вторичного мессенджера, гормона) со специфическим рецептором [29]. Такая классификация

каналов весьма условна, поскольку для многих потенциалзависимых каналов показана прямая регуляция рецепторами, а активность лиганд-управляемых каналов может зависеть от величины мембранного потенциала [29]. Возможна также прямая регуляция состояния  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов механическим раздражением, фосфорилированием, дефосфорилированием [4, 50, 126]. В передаче сигналов абиотических стрессоров и элиситоров могут быть задействованы различные типы кальциевых каналов и разные механизмы их регуляции [8, 22].

Открытие кальциевых каналов в значительной степени связано с активацией фосфолипазы С и накоплением в результате этого продуктов гидролиза фосфатидилинозитолбисфосфата ( $\text{ИФ}_2$ ), выполняющих роль вторичных мессенджеров – диацилглицерола (ДАГ) и инозитол-1,4,5-трифосфата ( $\text{ИФ}_3$ ). ДАГ может активировать мембранные  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые протеникиназы С, контролирующие состояние потенциалзависимых кальциевых каналов [10], а  $\text{ИФ}_3$  принимает непосредственное участие в открывании кальциевых каналов плазмалеммы, тонопласта и эндоплазматической сети [32]. Участие именно такого, связанного с активацией фосфолипазы С, способа регуляции состояния кальциевых каналов показано при реакции растительной клетки на элиситоры. Считается, что элиситоры связываются с рецепторами плазмалеммы, после чего элиситорный импульс трансмембранно передается на G-белки, а от них – на фосфолипазу С [32]. По-видимому, стрессиндуцируемая активация фосфолипазы С возможна и при действии на растения абиотических стрессоров [74]. Так, в ответ на охлаждение в колеоптилях кукурузы показано быстрое снижение концентрации  $\text{ИФ}_2$  [23], связанное с превращением последнего в  $\text{ИФ}_3$ . Значительное (в 15 раз) увеличение содержания  $\text{ИФ}_3$  показано и при действии солевого и осмотического стрессов на суспензионную культуру клеток моркови [54]. Подобные эффекты были кратковременными и сохранялись в течение 10 мин. Правда, в этих экспериментах не регистрировались изменения концентрации цитозольного кальция. В то же время, достаточно давно показано, что холодное закаливание растений может тормозиться блокаторами кальциевых каналов [94]. Открытым остается вопрос о природе рецептора холодного стресса. Возможно, что этот рецептор находится в плазмалемме и связан с G-белками, активирующими фосфолипазу С [23].

По-видимому, способов регуляции состояния кальциевых каналов, связанных с реакцией на температурные стрессы, может быть несколько. Так, на примере растений капусты показано, что начальными этапами процесса трансдукции холодного сигнала являются изменения текучести плазматической мембраны, приводящие к активации механочувствительных кальциевых каналов [4]. По-видимому, такие  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы могут быть задействованы и реакции растительных клеток на осмотический стресс [52]. Считается, что именно повышение концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  обеспечивает реализацию комплекса реакций, приводящих к адаптации к засухе [93].

В опытах с полосками эпидермиса листьев табака было показано, что механическое воздействие либо низкотемпературный шок вызывали в цитозоле кальцийзависимую люминесценцию акворина. При этом происходило немедленное уменьшение открытости устьиц [128]. Примеры аналогии действия холода и механического раздражения, вызывающего открытие потенциалзависимых кальциевых каналов, приводят и другие авторы [71].

Концентрация цитозольного кальция благодаря открыванию кальциевых каналов, как правило, повышается в десятки раз [32]. Это явление используется клеткой в качестве сигнального интермедиата. Важной особенностью кальция является его низкая скорость диффузии в клетках. Она является одним из факторов, обеспечивающих специфичность  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнала, поскольку позволяет локально повысить уровень ионизированного кальция в определенных участках цитоплазмы в течение времени, достаточного для передачи сигнала с помощью белков-сенсоров [29]. Принципы формирования и распространения кальциевого сигнала подробно описаны в обзорах [29, 74]. Отметим лишь, что локальные  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналы не только непосредственно влияют на клеточные процессы вблизи активированных каналов, но и способны воздействовать на разные типы кальциевых каналов, инициировать масштабное возрастание уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в форме  $\text{Ca}^{2+}$ -волн и  $\text{Ca}^{2+}$ -осцилляций, что вызывает более глобальные преобразования в клетке. Большую роль в возникновении кальциевых волн могут играть АФК [82], о чем подробнее будет сказано далее.

*Кальцийсвязывающие белки.* При взаимодействии ионов кальция с остатками аминокислот  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих центров кальцийсвязывающие белки приобретают способность взаи-

## КАЛЬЦИЙ И СТРЕССОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ

модействовать с другими белками и модулировать их функции, что используется для передачи сигнала на последующие звенья сигнальной цепи [32]. Количество  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих белков, по видимому, весьма велико. Так, у арабидопсиса найдено более 150 таких белков [106]. Среди них 34 являются протеинкиназами [43].

Кинетический анализ показал, что разные изоформы кальцийзависимых протеинкиназ имеют разную субстратную специфичность и разный порог активации ионами  $\text{Ca}^{2+}$  [5]. Эти особенности протеинкиназ, наряду с различиями в их клеточной локализации, вероятно, обеспечивают возможность специфической «трансляции» кальциевых потоков, устремляющихся в цитоплазму в ответ на действие стрессоров, в определенные физиологические ответы растений [5].

Чрезвычайно важным высоко консервативным рецептором кальция является кальмодулин [45]. Он причастен к регуляции не только активности протеинкиназ, но и многих других белков, участвующих в работе сигнальных цепей и в стрессовых реакциях. К ним, в частности, относятся: НАД-киназа, белки цитоскелета, шапероны, белки, принимающие участие в передаче гормональных сигналов [106, 115, 132].

Большую роль также играют кальцийзависимые фосфолипазы – фосфолипаза С и фосфолипаза D [123]. Первая, как уже упоминалось, гидролизует мембранные фосфолипиды, участвует в образовании вторичных мессенджеров, которые регулируют кальциевый гомеостаз. Активация фосфолипазы D приводит к накоплению в клетках фосфатидной кислоты, являющейся вторичным мессенджером липидной природы [124]. Однако при этом сама по себе фосфатидная кислота принимает участие в повышении концентрации цитозольного кальция, выполняя роль ионофора [30].

К важным, но менее исследованным Са-связывающим белкам относится и кальцийнейрин. Этот белок рассматривают как  $\text{Ca}^{2+}$ - и кальмодулинзависимую протеинфосфатазу [100]. Показана роль этого белка в адаптации растений и дрожжей к действию стресс-факторов, в частности, участие в трансдукции сигнала солевого стресса [100]. У арабидопсиса выделена группа протеинкиназ, специфически взаимодействующих с кальцийнейрин. В-подобными  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающими белками, которые дифференциально регулируются различными стрессовыми воздействиями [5, 46].

Ныне в растительных клетках, как и в клетках животных, обнаружены белки, связывающие кальций и фосфолипиды – аннексины. Это семейство белков с общей структурой, включающей от 4 до 8 повторяющихся последовательностей, содержащих кальций- и фосфолипидсвязывающие участки. Аннексины животных могут функционировать как кальциевые каналы. Обнаружено, что они являются субстратом фосфорилирования для многих мембранносвязанных рецепторов, воспринимающих внеклеточные сигналы. Синтез этих белков усиливается при холодовом закаливании растений. Предполагается, что аннексин с Mr 39 кД может быть фосфорилирован рецептор-подобной серин/треониновой киназой, также в свою очередь индуцируемой рядом внешних воздействий (холод, высушивание, засоление, действие АБК), и транслоцирован в плазмалемму в кальцийнезависимом положении, в котором он, подобно аннексинам животных, может действовать как особый кальциевый канал [5].

*Выведение  $\text{Ca}^{2+}$  из цитоплазмы.* Следующее за «кальциевой вспышкой» снижение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле является обязательным условием функционирования кальциевой сигнальной системы. Более того, длительное сигналиндуцируемое повышение концентрации ионов кальция может привести к гибели клеток [32, 53]. Доказано, что  $\text{Ca}^{2+}$  является обязательным участником программированной гибели клеток [38]. Как уже указывалось, часть кальция связывается с белками, многие из которых являются сенсорами, ретрансляторами кальциевого сигнала. Имеется также группа белков, выполняющих функции своеобразного буфера, поддерживающего низкий уровень  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле [30]. При связывании ионов  $\text{Ca}^{2+}$  с такими белками не происходит значительных изменений их структуры. По-видимому, они не участвуют в трансдукции кальциевого сигнала, а, скорее, обеспечивают гашение «кальциевой вспышки».

В то же время основную роль в снижении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме играют закрытие кальциевых каналов в результате гидролиза ИФ<sub>3</sub> специфическими фосфатазами и активация  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз, переносящих ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в обратном направлении против градиента концентрации [32].  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы выкачивают цитозольный кальций из клетки либо закачивают в его в вакуоль или эндоплазматический ретикулум [104].

На основании результатов анализа аминокислотных последовательностей  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы растительных клеток делят на кальциевые помпы плазмалемного типа (ПВ) и кальциевые помпы типа эндоплазматического ретикулума (ПА) [29]. В растительных клетках помпы типа ПВ находятся не только в плазмалемме, но и в тонопласте, эндоплазматическом ретикулуме и других мембранах [118].

Примечательно, что  $\text{Ca}^{2+}$ -помпы ПВ типа активируются кальмодулином [29]. Вероятно, кальциевый гомеостаз поддерживается системой, состоящей из  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы типа ПВ, кальмодулина и  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых протеинкиназ. Показано [69] (цит. по [29]), что при низких концентрациях кальция в цитозоле одна из кальцийзависимых протеинкиназ – СРК1 подавляла активность локализованной в эндоплазматическом ретикулуме  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы путем фосфорилирования серина. При повышении концентрации кальция активируется кальмодулин, который связывается с автоингибиторным доменом  $\text{Ca}^{2+}$ -помпы и снимает ингибирование кальцийзависимой протеинкиназы. Таким образом, поток ионов кальция из цитоплазмы в эндоплазматический ретикулум и, соответственно уровень ионизированного кальция в цитозоле, определяется соотношением активности кальмодулина и протеинкиназ, имеющих разное сродство к ионам  $\text{Ca}^{2+}$ .

Регуляция  $\text{Ca}^{2+}$ -помп типа IAA (нечувствительные к кальмодулину) изучена меньше. Известно, однако, что в растительных клетках они локализованы не только в эндоплазматическом ретикулуме, но и в тонопласте и плазмалемме [118].

Еще один механизм снижения содержания ионов кальция в цитозоле – их выведение с помощью  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортеров. Они локализованы преимущественно в тонопласте [65], не исключена также их локализация в плазмалемме [72] (цит. по [29]).

При стрессовых воздействиях возможна инактивация систем активного выведения  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля. Она может быть причиной индуцируемого кальцием усиления повреждений клеток [73]. Так, у растений кукурузы холодной шок инактивировал  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазу, вследствие чего происходило торможение поступления  $\text{Ca}^{2+}$  через плазмалемму в апопласт и его перемещение из цитозоля во внутриклеточные депо [27].

### **Роль ионов $\text{Ca}^{2+}$ в регуляции образования и элиминации активных форм кислорода**

Усиление образования активных форм кислорода (АФК), как и увеличение концентрации цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  (обычно кратковременное), относится к ранним реакциям растительных и животных клеток на воздействие стрессоров различной природы [48, 98, 113]. В связи с этим вполне естественен интерес исследователей к связи между образованием АФК и кальциевым статусом клеток, а также между сигнальными функциями ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и АФК [80, 95, 109].

Во многих работах показано, что увеличение концентрации кальция в цитозоле приводит к усилению образования АФК в растительных клетках. Особенно детально подобные эффекты исследовались на примере реакций, вызываемых патогенами либо элиситорами. Так, у арабидопсиса, пораженного *Pseudomonas syringae* pv. tomato, во время реакции сверхчувствительности наблюдалось длительное увеличение концентрации цитозольного кальция, сопровождающееся генерацией  $\text{H}_2\text{O}_2$ . При этом накопление перекиси водорода и реакция сверхчувствительности подавлялись блокаторами кальциевых каналов [59]. Действие экзогенной олигогалактуроновой кислоты на клетки арабидопсиса вызывало быстрый всплеск концентрации цитозольного кальция, а генерация  $\text{H}_2\text{O}_2$  наблюдалась лишь через 60 мин после обработки элиситором [68]. При этом блокаторы  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов подавляли оба процесса, а ингибитор НАДФН-оксидазы – только окислительный всплеск. На основании этих результатов авторы делают вывод о первичности кальциевого всплеска по отношению к усилению генерации АФК. Подобные реакции во многом связаны с активацией под действием ионов кальция НАДФН-оксидазы – одного из важных ферментов, участвующих в генерации супероксида [109]. Субъединица 91 кД НАДФН-оксидазы имеет два  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих участка [77]. Именно НАДФН-оксидаза является стартовым ферментом супероксидсинтазной сигнальной системы [109].

Вопрос о том, какой же сигнал в стрессовых реакциях растительной клетки более ранний – увеличение содержания внутриклеточного кальция или усиление образования АФК, по видимому, не стоит ставить так категорично. Известно, что по крайней мере часть кальциевых каналов (потенциалзависимые, регулируе-

## **КАЛЬЦИЙ И СТРЕССОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ**

мые гиперполяризацией – hyperpolarization regulated Ca-permeable channel) находится под контролем редокс-потенциала, т.е. зависит от АФК [82, 95, 101, 109]. На примере клеток корней арабидопсиса показано, что свободные кислородные радикалы активировали поступление  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль через низкоселективные катионные каналы [49]. В культуре клеток растений томата экспрессия  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой протеинкиназы активировалась элиситорами и экзогенной  $\text{H}_2\text{O}_2$  [44].

Высказываются предположения, что механочувствительные кальциевые каналы также могут регулироваться АФК [95]. Вероятно, что АФК, появляющиеся вследствие активации НАДФН-оксидазы, могут взаимодействовать с некоторыми функциональными группами актина или других белков цитоскелета, ассоциированных с плазматической мембраной. Таким образом, от состояния этих белков может прямо или опосредованно зависеть состояние механочувствительных  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов [95].

Одним из механизмов контроля над кальциевыми каналами, по-видимому, может быть соотношение между восстановленным и окисленным глутатионом. Добиться его изменения в экспериментальных условиях можно путем обработки растительного материала экзогенной перекисью водорода [107]. Последняя приводит к развитию каскада кальцийзависимых реакций, в том числе активации экспрессии генов антиоксидантной защиты.

Как уже отмечалось, многие авторы считают, что связующим звеном между АФК и ионами  $\text{Ca}^{2+}$  может быть НАДФН-оксидаза [82, 95, 109]. Этот фермент может активироваться патогенами, элиситорами, действием АБК и других факторов и приводит к накоплению АФК. Последние вызывают открытие кальциевых каналов, регулируемых гиперполяризацией. Одним из доказательств существования такого механизма регуляции может быть ингибирование антиоксидантом дитиотрептолом открывания кальциевых каналов, индуцируемого действием на проростки томата грибного элиситора [95]. Особо важной роль мембранной НАДФН-оксидазы может быть в локальной активации образования АФК и последующего кальциевого каскада. В целом же, накопление перекиси водорода и других АФК может быть индуктором различных  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых реакций, в том числе вызываемых абиотическими стрессорами [38]. Одним из классических примеров таких реакций является закрытие устьиц, индуцируемое осмотическим и солевым стрес-

сами. Оно сопровождается накоплением АБК, которая вызывает усиление генерации АФК с участием НАДФН-оксидазы [95]. Накапливаемые АФК вызывают открытие кальциевых каналов [51]. Увеличение концентрации цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  приводит к каскаду реакций, обеспечивающих закрытие устьичной щели [38]. Доказательством роли индукции генерации АФК в вызываемом АБК закрытии устьиц является снятие такого эффекта АБК с помощью ингибитора НАДФН-оксидазы дифенилиодониума [102]. Примечательны данные об индуцировании закрытия устьиц у арабидопсиса как АФК, так и хитозаном. Оба эффектора стимулировали НАДФН-зависимый гиперполяризационно активируемый приток ионов кальция к замыкающим клеткам [78]. Подобные примеры, по-видимому, можно рассматривать как свидетельство первичности сигнала АФК по отношению к состоянию  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов.

Имеется довольно много данных о роли флуктуации концентрации ионов кальция в цитозоле как до активации окислительного стресса, так и после нее [40, 82].

Как указывалось выше, повышение содержания цитозольного кальция может приводить к каскаду реакций, составляющих окислительный стресс. Более того, усиления образования АФК в растениях можно достичь действием экзогенного кальция. Так, на примере корней [31] и колеоптилей [20] пшеницы показано усиление генерации супероксидного радикала при обработке их 5-10 мМ  $\text{CaCl}_2$ . Показано также, что при действии экзогенного кальция возможно увеличение содержания перекисей в растительных тканях [19]. Более того, на примере колеоптилей пшеницы зарегистрировано усиление перекисного окисления липидов ПОЛ под действием высоких (50 мМ) и умеренных (5 мМ) концентраций  $\text{CaCl}_2$  [13, 15]. Важно, что подобные эффекты экзогенного  $\text{Ca}^{2+}$  нивелировались блокаторами кальциевых каналов [14, 31]. Это позволяет полагать, что действие экзогенного кальция прямо либо опосредованно (второй путь может быть даже более вероятным) приводило к флуктуациям его внутриклеточной концентрации.

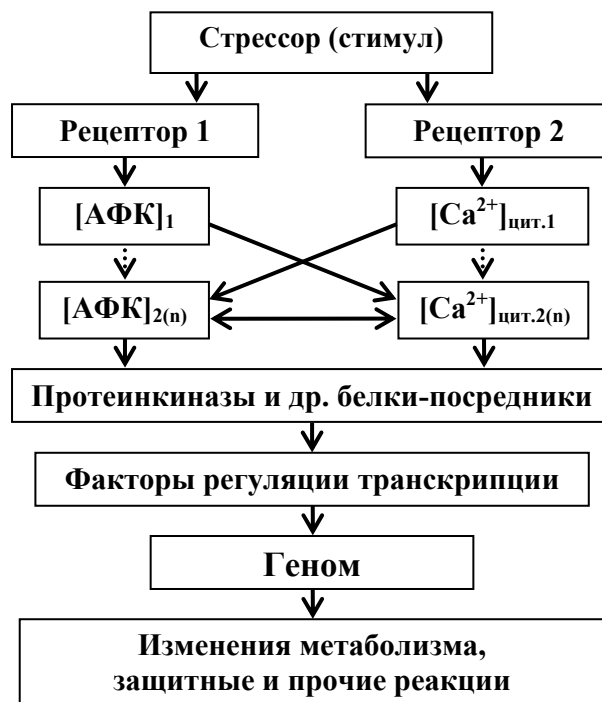
О причастности  $\text{Ca}^{2+}$  к процессам ПОЛ свидетельствуют и результаты экспериментов с растениями табака, трансформированными геном  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортера арабидопсиса. Экспрессия этого гена приводила к изменениям накопления продукта ПОЛ в листьях в зависимости от содержания  $\text{Ca}^{2+}$  в питательной среде [28].

Возможно, что вызываемые экзогенными ионами кальция явления окислительного стресса или, по крайней мере, их начальная стадия связаны с активацией ряда  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых ферментов. Кроме уже упомянутой НАДФН-оксидазы, к ним, вероятно, относятся фенолпероксидазы [35] и липоксигеназа [87]. Примечательно, что ингибитор пероксидазы и липоксигеназы (салицилгидроксамовая кислота) снимал усиление ПОЛ, индуцируемое экзогенными ионами  $\text{Ca}^{2+}$  [14]. Интересно, что в колеоптилях пшеницы, предварительно обработанных  $\text{CaCl}_2$ , практически сразу после нагрева происходило резкое повышение активности ионносвязанной гваяколпероксидазы во фракции клеточных стенок [15]. Известно, что именно эта фракция фермента в наибольшей мере причастна к генерированию АФК [114].

В то же время подобные эффекты экзогенного кальция следует, по-видимому, рассматривать лишь как возможность индуцирования им окислительного стресса, а не свидетельство первичности эффектов кальция в интактной клетке по отношению к АФК.

Выяснение вопроса о связи между реакциями, индуцируемыми  $\text{Ca}^{2+}$  и АФК, осложняется наличием пула первого в различных компартментах клетки и возможностью образования АФК ферментами многих мембран. Так, действие экзогенной  $\text{H}_2\text{O}_2$  на проростки арабидопсиса увеличивало концентрацию ионов кальция как в цитозоле, так и в митохондриях [91]. Авторы делают вывод о наличии автономного сигнального пути в клетках растений для митохондриального  $\text{Ca}^{2+}$ . Предполагается, что он, повышая активность дегидрогеназ трикарбоновых кислот, может увеличивать образование АФК в процессе дыхания.

Таким образом, взаимосвязь между образованием АФК и изменениями кальциевого статуса клеток неоднозначна: в одних случаях  $\text{Ca}^{2+}$  индуцирует образование АФК; в других – АФК вызывают выход кальция в цитозоль. Нередко подобные эффекты наблюдаются одновременно. Можно полагать, что и  $\text{Ca}^{2+}$ , и АФК являются ключевыми компонентами (мессенджерами) единой сигнальной сети [40, 74]. На разных этапах ее функционирования возможно взаимное усиление действия этих мессенджеров. Взаимоотношения между  $\text{Ca}^{2+}$  и АФК в условиях действия на растительную клетку стимулов стрессовой, а возможно и иной природы можно проиллюстрировать схемой (рисунок).



Возможная связь между ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и АФК как вторичными мессенджерами растительной клетки.

Внешний стимул оказывает воздействие на рецепторы, прямо связанные с регуляцией содержания  $\text{Ca}^{2+}$  либо АФК. Примерами первых, по-видимому, могут быть механочувствительные кальциевые каналы [74], состояние которых изменятся в ответ на действие механических раздражителей, осмотического, солевого и холодового стрессов, а также фосфолипаза С [54], активация которой при биотических и абиотических стрессах приводит к появлению сигнальных молекул-посредников, открывающих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы.

В то же время появление в клетке избытка АФК в результате незначительного метаболического дисбаланса либо вследствие локальной активации мембранных ферментов, генерирующих АФК (например, НАДФН-оксидазы, которая, вероятно, связана с G-белками [75]), может активировать кальциевые каналы, по крайней мере потенциалзависимые. Появление в клетке «первичной» волны АФК (на рисунке  $[\text{АФК}]_1$ ) и первичное локальное повышение концентрации ионов цитозольного кальция ( $[\text{Ca}]_{\text{цит.1}}$ ), вероятно, может приводить к последующим вторичным и повторяющимся волнам образования АФК ( $[\text{АФК}]_{2(n)}$ ) и открытию различных типов  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов ( $[\text{Ca}]_{\text{цит.2(n)}}$ ) [74]. Дальнейшее развитие событий включает в себя передачу кальциевого сигнала на белки-мишени, последующее фосфорилирование

факторов регуляции транскрипции и изменение экспрессии генов, обеспечивающих метаболический и физиологический ответ клетки (см. рисунок).

Не исключено, что одним из механизмов влияния АФК на кальциевый статус клеток может быть индуцируемое активным кислородом перекисное окисление липидов (ПОЛ) мембран. Продукты ПОЛ, количество которых при действии стрессоров может увеличиваться, способны действовать как  $\text{Ca}^{2+}$ -ионофоры и приводить к повышению концентрации цитозольного кальция [20], в т.ч., по-видимому до токсичных уровней. Косвенным свидетельством взаимной регуляции эффектов  $\text{Ca}^{2+}$  и АФК могут быть опыты по изучению совместного действия экзогенных  $\text{Ca}^{2+}$  и перекиси водорода на показатели прооксидантно-антиоксидантного равновесия в колеоптилях пшеницы и их теплоустойчивость [20]. Так, если раздельное воздействие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$  на колеоптиль вызывало лишь временное (обратимое) усиление в них процесса ПОЛ после теплового стресса, то в отрезках, обработанных их комбинацией, после нагрева имело место необратимое усиление ПОЛ. При этом в отдельности  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$  повышали выживание отрезков после повреждающего нагрева, а при совместном применении – снижали. По-видимому, сочетание действия экзогенных  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  и нагрева приводило к глубокому разбалансированию кальциевого гомеостаза и, вероятно, к проявлению цитотоксических эффектов ионов  $\text{Ca}^{2+}$  [99].

Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  могут не только индуцировать образование АФК, но и способствовать их обезвреживанию путем активации антиоксидантных систем. Накоплено немало сведений об активации экзогенным кальцием антиоксидантных ферментов и связи этого эффекта с изменениями концентрации ионов кальция в цитозоле. Многими авторами зарегистрировано повышение активности растительных СОД под влиянием кальция как *in vivo*, так и *in vitro*. Например, добавление  $\text{Ca}^{2+}$  увеличивало *in vitro* активность СОД у *Taxus baccata*, *Pinus sylvestris*, *Medicago rigidula* и *Zea mays* [36]. При этом повышалась и термостабильность фермента. На примере кукурузы показано повышение активности СОД в колеоптилях проростков, полученных из семян, которые намачивали в  $10^{-5}$  М  $\text{CaSO}_4$  [37].  $\text{CaCl}_2$  повышал активность СОД в культуре клеток солодки. Особенно заметным этот эффект был при действии осмотического стресса [26]. Снижение генера-

ции супероксида и повышение активности СОД отмечалось под действием  $\text{Ca}^{2+}$  в проростках баклажана при высокотемпературном стрессе [42]. Этот эффект кальция сопровождался также снижением содержания в тканях продукта ПОЛ малонового диальдегида (МДА) [26, 42]. Повышение активности СОД под влиянием экзогенного  $\text{Ca}^{2+}$  зарегистрировано и в отрезках колеоптилей пшеницы [15]. Однако такой эффект наблюдался на фоне окислительного стресса, проявляющегося в повышенном содержании в тканях (МДА). Позднее проявления окислительного стресса в колеоптилях, обработанных 5 мМ  $\text{CaCl}_2$ , угасали, а активность СОД оказывалась выше, чем в контроле. Важно, что для повышения активности СОД под влиянием экзогенных ионов кальция необходимо его поступление в цитозоль через кальциевые каналы. Об этом свидетельствует снятие эффектов  $\text{Ca}^{2+}$  блокаторами кальциевых каналов [55].

Многими авторами показано, что одновременно с СОД под действием ионов  $\text{Ca}^{2+}$  наблюдалось также повышение активности каталазы, которая, как правило, действует с СОД как единая ферментативная система [15, 26, 37, 55].

Имеются данные и о стимулирующем влиянии кальция на активность ферментов глутатионового цикла [70, 107]. Кальций выступает как посредник в увеличении активности антиоксидантных ферментов в ответ на действие агентов окислительного стресса на растительные ткани. Обработка проростков арабидопсиса перекисью водорода запускала двухфазное увеличение содержания  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле и последующую экспрессию гена глутатион-S-трансферазы [107].

Воздействие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на растительные объекты также вызывало увеличение активности различных пероксидаз [15, 37, 70]. Правда, давать оценку физиологической роли изменения активности этой группы ферментов довольно сложно, поскольку они могут быть причастны не только к элиминации, но и к образованию АФК. Последнее, как уже указывалось, относится прежде всего к фенолпероксидазам [114]. Вероятно, на разных стадиях стрессовой реакции может быть физиологически целесообразным как увеличение, так и снижение активности пероксидаз. Так, понижение активности пероксидазы в ответ на обработку ионами кальция выявлено в проростках арахиса [117].

Таким образом, ионы  $\text{Ca}^{2+}$  причастны к регуляции прооксидантно-антиоксидантного



равновесия. При этом они могут прямо или опосредованно выступать как в роли индукторов (активаторов) ферментов, участвующих в генерации АФК, так и вызывать повышение активности антиоксидантных ферментов. Не исключено, что подобные эффекты кальция реализуются с участием самих АФК. Именно при избытке последних, вероятно, происходит индуцирование активности антиоксидантных ферментов. Важно, что активация систем, генерирующих АФК, подавлялась антагонистами  $Ca^{2+}$  [59]. В то же время и активация антиоксидантных ферментов требует участия кальциевых каналов [55, 84].

### *Ионы $Ca^{2+}$ и функционирование других сигнальных систем*

Взаимодействие сигнальных систем между собой возможно на разных уровнях – от взаимопревращения стартовых сигнальных соединений, принадлежащих различным сигнальным системам [96], до влияния на состояние факторов регуляции транскрипции, которые могут модифицироваться протеинкиназами, активируемыми разными сигнальными системами [64].

Рассмотрим возможное влияние интермедиатов различных сигнальных систем на кальциевый статус растительной клетки. Вполне естественной представляется его зависимость от состояния мембран и образования соединений, изменяющих активность кальциевых каналов или являющихся  $Ca^{2+}$ -ионофорами. Такими соединениями могут быть различные продукты деградации липидов. Одним из механизмов образования сигнальных продуктов превращения липидов является липоксигеназный каскад или липоксигеназная сигнальная система. Ее название связано с ферментами, катализирующими присоединение молекулярного кислорода к одному из атомов углерода цис, цис-пентадиенового радикала жирных кислот [32]. Субстратами липоксигеназ (ЛОГ) могут быть не только свободные ненасыщенные жирные кислоты, но и находящиеся в составе мембранных фосфолипидов. В то же время, по видимому, активации ЛОГ чаще предшествует появление свободных ненасыщенных жирных кислот, происходящее в результате активации мембранносвязанной фосфолипазы А. Последняя изменяет свою активность вследствие взаимодействия первичного сигнала с рецептором плазмалеммы и считается стартовым ферментом липоксигеназного каскада [6]. Впоследствии активируется ЛОГ. Накапливающиеся в

результате этого оксигенированные производные жирных кислот оксипирины, в т.ч. жасмоноиды, проявляют широкую физиологическую активность и могут рассматриваться как сигнальные вещества. Гепоксилины и триоксилины способны сами по себе регулировать концентрацию цитозольного кальция, а также освободить арахидоновую кислоту [11]. Последняя может влиять на высвобождение ионов  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных компартментов.

В свою очередь функционирование липоксигеназной сигнальной системы во многом зависит от кальция. Так ионы  $Ca^{2+}$  могут повышать активность фосфолипазы А [83] и липоксигеназ [92]. Кроме того, ионы кальция и кальмодулин необходимы для передачи липоксигеназного сигнала и его автокаталитического усиления [6, 87].

При расщеплении фосфолипидов (фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и фосфатидилглицерола) фосфолипазой D (стартовый фермент фосфатидокислотной сигнальной системы) образуется фосфатидная кислота – вторичный мессенджер, участвующий в передаче в растительной клетке различных сигналов, в т.ч. стрессовых [32, 96]. Недавно было показано, что фосфатидная кислота обладает функцией кальциевого ионофора [30]. Предполагается, что она может участвовать в системе кальциевой сигнализации, инициируя транспорт ионов  $Ca^{2+}$  по градиенту концентрации и тем самым активируя кальцийрегулируемые процессы [30]. Кроме того, фосфатидная кислота способна активировать  $Ca^{2+}$ -зависимую и  $Ca^{2+}$ -независимую протеинкиназы [110, 122]. В то же время известно, что активность фосфолипазы D регулируется ионами кальция [32].

Кальциевая сигнальная система тесно связана с аденилатциклазной. Ключевой ее фермент, катализирующий образование цАМФ – аденилатциклаза – активируется относительно низкими концентрациями  $Ca^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ -кальмодулином, но ингибируется относительно высокими [32]. Комплекс  $Ca^{2+}$ -кальмодулин может стимулировать не только приходную часть баланса цАМФ, но и расходную, активируя фосфодиэстеразу цАМФ. Взаимодействие цАМФ и  $Ca^{2+}$  возможно и на этапах регулирования состояния факторов регуляции транскрипции. Так, цАМФ-стимулируемая протеинкиназная активность в листьях гороха зависела от концентрации ионов кальция [12].

Менее изучена связь кальциевой и NO-синтазной сигнальных систем растений. В то

## КАЛЬЦИЙ И СТРЕССОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ

же время уже накоплены сведения, которые позволяют полагать, что в трансдукции сигнала оксида азота у растений задействован цГМФ (быстро образуется в ответ на обработку NO). Молекулы цГМФ стимулируют активность АДФ-рибозоциклазы и образование циклической АДФ-рибозы (цАДФР), которая открывает  $Ca^{2+}$ -каналы внутриклеточных кальциевых депо, в результате чего повышается концентрация ионов кальция в цитозоле [32].

Чрезвычайно тесным является взаимодействие кальциевой сигнальной системы с супероксидсинтазной (НАДФН-оксидазной). Есть мнение о том, что они взаимодействуют параллельно [62]. Так, как уже упоминалось,  $Ca^{2+}$  входит в состав НАДФН-оксидазы [77]. Кальмодулинзависимая НАД-киназа стимулирует превращение цитозольного НАД в НАДФ, обеспечивая достаточную интенсивность функционирования супероксидсинтазной сигнальной системы [32].

Взаимосвязь  $Ca^{2+}$  и АФК как мессенджеров НАДФН-оксидазной и других сигнальных систем была описана выше. В заключение следует упомянуть о взаимодействии ионов кальция и салициловой кислоты как сигнальных веществ. Считается, что салициловая кислота играет большую роль в функционировании НАДФН-оксидазной сигнальной системы. Ее образование индуцируется элиситорами или экзогенной перекисью водорода [32, 86]. Вероятно, эндогенное увеличение концентрации  $H_2O_2$  вследствие активации супероксидсинтазной сигнальной системы также может приводить к активации синтеза салициловой кислоты из фенилаланина под влиянием фенилаланин-аммиак-лиазы. Образующаяся салициловая кислота, по-видимому, усиливает эффект окислительной вспышки, ингибируя каталазу [41] и активируя некоторые ферменты, причастные к генерации АФК [16].

Проявления окислительного стресса могут быть вызваны и экзогенной салициловой кислотой. При этом индуцируемый ею окислительный стресс может приводить к повышению устойчивости растений не только к биотическим стрессорам, но и к абиотическим, в т.ч. солевому и температурным [16, 34, 47, 66]. В таких процессах, по-видимому, также принимает участие цитозольный кальций и, возможно, кальмодулин. Так, на примере колеоптилей пшеницы нами показано, что вызываемое салициловой кислотой усиление генерации «внешнего» супероксида подавлялось действием блокатора  $Ca^{2+}$ -каналов верапамила и антагониста

кальмодулина хлорпромазина [18]. В реализации таких эффектов салициловой кислоты может быть задействовано несколько ферментов, по крайней мере, некоторые из них являются кальцийзависимыми. В то же время кальциевый всплеск не обязательно предшествует накоплению всего спектра АФК. По мнению Kawano, Muto [76], накопление перекиси водорода под действием салицилата за счет ингибирования каталазы является первичным процессом, приводящим к последующей активации ею кальцийзависимых сигнальных путей и кальмодулиновой системы, которые, в свою очередь, регулируют изменения в пероксидазном статусе. Активация салициловой кислотой некоторых пероксидаз, имеющих кальцийсвязывающие участки [67], и обуславливает усиление генерации АФК, в частности, супероксида [76]. Естественно, что в этом процессе может быть задействована и кальцийзависимая НАДФН-оксидаза.

### *Некоторые защитные реакции, индуцируемые ионами $Ca^{2+}$*

Ионы  $Ca^{2+}$  совместно с АФК и другими внутриклеточными мессенджерами принимают участие в индуцировании конкретных защитных реакций на действие абиотических и биотических стрессоров. На некоторых из них – индуцировании синтеза стрессовых белков, накоплении осмолитов при абиотических стрессах и усилении синтеза каллозы и фитоалексинов при биотических – остановимся подробнее.

*Синтез стрессовых белков.* Не вызывает сомнения участие цитозольного кальция в активации экспрессии генов, кодирующих белки, родственные кальмодулину [57]. Выше упоминалась роль ионов  $Ca^{2+}$  в активации и индукции синтеза некоторых антиоксидантных ферментов.

Значение кальция в синтезе других белков, в частности, причастных к устойчивости растений к неблагоприятным факторам, изучено слабее. Показано, что холодовая акклиматизация сеянцев *Populus tomentosa* в сочетании с обработкой  $CaCl_2$  повышала содержание в них общих белков и кальмодулина [90].

На примере клеток животных еще в 80-е годы прошлого столетия было показано, что искусственное повышение внутриклеточной концентрации кальция с помощью ионофоров может индуцировать синтез некоторых белков теплового шока (БТШ) при нормальной температуре [108, 129]. В то же время в суспезионной

культуре клеток *Beta vulgaris* синтез БТШ при высокой температуре практически не зависел от наличия ионов кальция в среде. Исключение составил БТШ96, синтез которого подавлялся ЭГТА и возобновлялся при добавлении в среду экзогенного  $\text{Ca}^{2+}$  [33]. Тем не менее, доказано, что индивидуальные БТШ, синтез которых регулируется ионами кальция, необходимы для развития теплоустойчивости растительных клеток [120]. На примере клеток кукурузы недавно показано, что  $\text{Ca}^{2+}$  и кальмодулин влияют на ДНК-связывающую активность фактора регуляции транскрипции БТШ [88]. Авторы полагают, что  $\text{Ca}^{2+}$  и кальмодулин участвуют в экспрессии генов БТШ.

**Синтез пролина.** Пролин относится к полифункциональным защитным соединениям растительных клеток, участвующим в осморегуляции, мембранопротекции, защите белков от действия денатурирующих агентов [25]. Часть эффектов пролина может быть связана с его антиоксидантными свойствами [111].

Роль кальция в синтезе пролина у растений изучалась на разных объектах. Так, показана способность  $\text{Ca}^{2+}$  усиливать накопление пролина у клевера при осмотическом стрессе, что сочеталось с уменьшением генерации супероксида и содержания МДА [130]. Идентичные результаты получены и при действии соли кальция на сеянцы *Casuarina equisetifolia* [89]. С другой стороны, предобработка проростков баклажана экзогенным  $\text{CaCl}_2$ , повышая активность антиоксидантных ферментов, снижала содержание в них пролина в условиях теплового стресса, а увеличение его количества вызывали антагонисты кальмодулина [42]. Не исключено, что в этом случае предобработка кальцием могла индуцировать различные механизмы устойчивости (синтез антиоксидантных ферментов, повышение термостабильности белков и белково-липидных комплексов и пр.), вследствие чего предобработанные кальцием растения обладали большей теплоустойчивостью и использованная стрессовая температура оказалась недостаточной для запуска синтеза пролина. Следует также заметить, что сам по себе тепловой стресс не всегда вызывает накопление пролина в растительных объектах [17]. На примере колеоптилей пшеницы нами показано, что экзогенный кальций вызывал увеличение содержания в них пролина, при последующем тепловом стрессе количество этой аминокислоты в тканях как контрольных, так и обработанных хлоридом кальция отрезков уменьшалось. Однако в варианте с  $\text{Ca}^{2+}$  абсо-

лютные величины содержания пролина превышали контроль [17].

У растений *Arabidopsis thaliana* было показано подавление экспрессии гена *At-p5ct*, кодирующего  $\Delta^1$ -пироллин-5-карбоксилатсинтезазу, – ключевой фермент биосинтеза пролина [112] – при обработке растений солью лантана или ЭДТА, предшествовавшей осмотическому стрессу [79]. Это свидетельствует о роли внутриклеточного кальция в индукции синтеза пролина, вызываемой осмотическим стрессом. Вполне возможно, что синтез пролина индуцируется ионами кальция с участием АФК. Так, вызываемое экзогенным  $\text{Ca}^{2+}$  накопление пролина в отрезках колеоптилей пшеницы подавлялось антиоксидантом ионолом [21].

**Синтез каллозы и фитоалексинов** относится к важным защитным реакциям растения на патоген. Каллоза способствует механическому упрочнению клеточных стенок. Фитоалексины являются антибиотиками, которые синтезируются в растениях *de novo* в ответ на микробную инфекцию [9]. Такие реакции чаще всего запускаются элиситорами – метаболитами патогена, которые распознаются растением. Так, показана элиситориндуцированная экспрессия гена каллозосинтезазы. Образование и накопление различных фитоалексинов происходит благодаря индукции патогенами и элиситорами экспрессии генов, кодирующих ферменты фенилпропаноидного метаболизма [32]. При этом в первую очередь активируется фенилаланин-аммиак-лиаза.

Синтез каллозы и фитоалексинов зависит от кальциевого статуса клетки. Показано, что образование этих соединений в клетках лука в ответ на действие элиситора подавлялось ЭГТА, связывающим внешний кальций, и блокаторами различных типов  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов [8]. В то же время обработка клеток кальциевым ионофором A23187 индуцировала образование фитоалексинов и каллозы даже в отсутствие патогена [8]. Действие элиситора также усиливал теofilлин – агонист цАМФ. При этом эффект теofilлина подавлялся блокатором кальциевых каналов верапамилом. На основании полученных данных авторы полагают, что взаимодействие элиситора с рецептором плазмалеммы приводит к активации синтеза цАМФ, а затем к активации цАМФ-зависимых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов плазмалеммы [8]. Данные о роли внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  и цАМФ в синтезе фитоалексинов, индуцируемом элиситорами, получены также на примере культуры клеток моркови

и картофеля [81, 133]. По-видимому, кальциевый всплеск, возникающий при инфицировании растений, приводит к активации  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых протеинкиназ [85], которые участвуют в фосфорилировании факторов регуляции транскрипции и активации экспрессии генов, обеспечивающих защитные реакции на патоген.

Примечательно, что синтез каллозы у растений может индуцироваться не только элиситорами, но и некоторыми абиотическими стрессорами, что свидетельствует об участии одних и тех же сигнальных систем в ответ на действие факторов различной природы. Так, под влиянием солей алюминия в кончиках корней пшеницы происходил синтез каллозы. Его индуцирование, по-видимому, происходило с участием цитозольного кальция [39]. Показано, что синтез каллозы, хотя и в меньшем количестве, запускала обработка корней  $\text{Ca}^{2+}$ -ионофором A23187.

### Заклучение

Кальцию принадлежит ведущая роль в регуляции жизненно важных процессов, связанных с развитием и дифференциацией клеток, трансдукцией гормональных сигналов, тропизмов, запрограммированной гибелью клетки. Большая часть названных функций кальция не рассматривалась в настоящей статье, этому посвящены вышедшие недавно специальные обзоры [29, 109, 119]. Не умаляя значения ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в регулировании процессов в физиологически нормальных условиях, все же, по-видимому, следует отметить, что особенно ярко потенциал кальция как вторичного мессенджера проявляется в стрессовых условиях, когда необходимо своеобразное перепрограммирование метаболизма. Именно цитозольный кальций может служить связующим звеном для многих сигнальных путей, способствуя формированию сигнальной сети растительной клетки, которая, объединяя различные сигнальные системы, позволяет наиболее адекватно включать ответные реакции на изменение условий среды [29]. Важными партнерами кальция являются другие вторичные мессенджеры. Среди них особое значение имеют АФК. Если кальциевая сигнальная система функционирует благодаря хранению  $\text{Ca}^{2+}$  во внеклеточном пространстве и внутриклеточных компартментах и быстрому его высвобождению, то АФК выполняют сигнальную роль, по-видимому, благодаря быстрому образованию и короткому времени жизни [7]. Интенсивность образования, продолжи-

тельность существования и локализация АФК определяются соответственно продуцирующими и элиминирующими их (антиоксидантными) системами клетки. И те, и другие тесно связаны с кальциевой сигнальной системой, а ее функции, в свою очередь, могут реализовываться при посредничестве АФК. До сих пор сигнальные системы растений остаются изученными лишь в общих чертах, представления о них во многом являются результатом логических рассуждений, не всегда подкрепленных конкретными экспериментами. Наименее выясненным остается вопрос, как одни и те же вторичные мессенджеры, в т. ч.  $\text{Ca}^{2+}$  и АФК, избирательно запускают различные реакции. Выяснению этих вопросов могло бы способствовать более широкое использование  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительных флуоресцентных зондов в физиологических исследованиях и разработка внутриклеточных АФК-сенсоров [7].

### ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура. – Л.: Наука, 1975. – 329 с.
2. Барабальчук К.А. Влияние ионов кальция, марганца, магния и калия на устойчивость растительных клеток // Цитология. – 1970. – Т. 12, № 5. – С. 609-621.
3. Валяевская М.Б. Влияние аноксии на липидный состав мембран растений при действии ионов кальция: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – СПб: С.-Петербург. гос. ун-т, 2002. – 17 с.
4. Гималов Ф.Р., Баймиев А.Х., Матниязов Р.Т. и др. Начальные этапы низкотемпературной индукции экспрессии гена белка холодового шока капусты // Биохимия. – 2004. – Т. 69, вып. 5. – С. 706-711.
5. Гималов Ф.Р., Чемерис А.В., Вахитов В.А. О восприятии растением холодового сигнала // Успехи соврем. биологии. – 2004. – Т. 124, № 2. – С. 185-196.
6. Гречкин А.Н., Тарчевский И.А. Липоксигеназная сигнальная система // Физиология растений. – 1999. – Т. 45, № 1. – С. 132-142.
7. Дмитрієв О.П., Кравчук Ж.М. Активні форми кисню та імунітет рослин // Цитология и генетика. – 2005. – Т. 39, № 4. – С. 64-75.
8. Дячок Ю.В., Дмитриев А.П., Гродзинский Д.М. Роль  $\text{Ca}^{2+}$  как вторичного мессенджера в индукции синтеза фитоалексинов и каллозы в культуре клеток *Allium cepa* L. // Физиология растений. – 1997. – Т. 44, № 3. – С. 385-391.

9. Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джаванхия В.Г., Багирова С.Ф. Общая и молекулярная фитопатология. – М.: О-во фитопатологов, 2001. – 302 с.
10. Жерелова О.М., Чайлахян Л.М. Са-каналы растительных клеток и их регуляция // Успехи соврем. биологии. – 1994. – Т. 114, вып. 5. – С. 608-619.
11. Ильинская Л.И., Озерецковская О.Л. Продукты липоксигеназного окисления жирных кислот как сигнальные молекулы в индуцировании устойчивости растений (обзор) // Прикл. биохимия и микробиология. – 1998. – Т. 34, № 5. – С. 467-479.
12. Каримова Ф.Г., Жуков С.Н. Влияние цАМФ на фосфорилирование белков листьев гороха при низкой положительной температуре // Докл. АН СССР. – 1991. – Т. 316, № 5. – С. 1277-1279.
13. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Влияние экзогенного кальция на интенсивность пероксидного окисления липидов в колеоптилях озимой пшеницы и их теплоустойчивость // Физиология и биохимия культ. растений. – 2003. – Т. 35, № 1. – С. 68-74.
14. Колупаев Ю.Е., Акинина Г.Е. Изменение теплоустойчивости растительных клеток, вызываемое модификаторами интенсивности окислительных процессов // Там же. – 2005. – Т. 37, № 1. – С. 66-72.
15. Колупаев Ю.Е., Акинина Г.Е., Мокроусов А.В. Индукция теплоустойчивости колеоптилей пшеницы ионами кальция и ее связь с окислительным стрессом // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 2. – С. 227-232.
16. Колупаев Ю.Е., Акинiна Г.С. Вплив салiцилової кислоти на теплостiйкiсть колеоптилiв пшеницi у зв'язку зi змiнами окиснювального метаболiзму // Физиология и биохимия культ. растений. – 2005. – Т. 37, № 6. – С. 524-529.
17. Колупаев Ю.Е., Акинiна Г.С. Вплив Са<sup>2+</sup> на компоненти системи антиоксидантного захисту в колеоптилях пшеницi за умов теплового стресу // Живлення рослин: теорiя i практика. – К.: Логос, 2005. – С. 71-81.
18. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Салицилатиндуцируемая генерация супероксида колеоптилями пшеницы зависит от кальциевого статуса их клеток // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2006. – Вип. 1 (8). – С. 51-57.
19. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Супрессия антиоксидантом ионолом повышения теплоустойчивости проростков пшеницы, индуцируемого ионами кальция // Там же. – 2006. – Вип. 2 (9). С. 21-30.
20. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Сумісний вплив іонів Са<sup>2+</sup> та пероксиду водню на окислювальний метаболізм і теплостійкість колеоптилів пшениці // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, № 1. – С. 66-72.
21. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Роль активных форм кислорода в индуцируемом экзогенным кальцием накоплении пролина в отрезках колеоптилей пшеницы // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2007. – Вип. 1 (10). – С. 122-125.
22. Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В. и др. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. – Киев: Наукова думка, 2003. – 277 с.
23. Кравець В.С., Нохрина К.П. Реакція метаболізму поліфосфатидилінозитолів на дію холодового шоку // Доп. НАН України. – 1998. – № 11. – С. 166-169.
24. Кравець В.С. Розвиток уявлень про природу холодо- та морозостійкості рослин // Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. – К., 2001. – С. 163-176.
25. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролін при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 321-336.
26. Ли М., Ван Г., Лин Ц. Кальций способствует адаптации культивируемых клеток солодки к водному стрессу, индуцированному полиэтиленгликолем // Там же. – 2004. – Т. 51, № 4 – С. 575-581.
27. Лукаткин А. С., Еремкина Т.Н. Активность Са<sup>2+</sup>-АТФазы в листьях растений кукурузы под влиянием охлаждения и в последствии // С.-х. биология. Сер. Биология растений. – 2002. – № 3. – С. 73-76.
28. Майор П. С., Вемкожон Л. Г., Захарова В. П. Вплив кальцію на пероксидне окиснення ліпідів у трансгенних рослинах тютюну, що експресують ген кальцієвого переносника // Фактори експериментальної еволюції організмів. – К.: Логос, 2006. – С. 604-607.
29. Медведев С.С. Кальциевая сигнальная система растений // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 2. – С. 283-305.
30. Медведев С.С., Танкелюн О.В., Батов А.Ю. и др. Ионофорные функции фосфатидной кислоты в растительной клетке // Там же. – 2006. – Т. 53, № 1. – С. 45-53.
31. Минабаева Ф.В., Рахматуллина Д.Ф., Гордон Л.Х., Вылежанина Н.Н. Роль супероксида в формировании неспецифического адаптации

## КАЛЬЦИЙ И СТРЕССОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ

- онного синдрома корневых клеток // Докл. АН [Россия]. – 1997. – Т. 355, № 4. – С. 554-556.
32. *Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
  33. *Трофимова М.С., Андреев И.М., Кузнецов Вл.В.* Кальций как внутриклеточный регулятор синтеза БТШ96 и термотолерантности клеток растений при гипертермии // Физиология растений. – 1997. – Т. 44, № 4. – С. 511-516.
  34. *Шакирова Ф.М.* Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. – Уфа: Гилем, 2001. – 160 с.
  35. *Bakardjieva N. T., Izvorska N. D., Hristova N.* Influence of  $Ca^{2+}$  on the activity and release of peroxidase from tobacco callus tissues // Докл. Бълг. АН – 1987. – V. 40, № 8. – P. 84-88.
  36. *Bakardjieva N. T., Christov K. N., Christova N. V.* Effect of calcium and zinc on the activity and thermostability of superoxide dismutase // Biol. Plant. – 2000. – V. 43, N 1. – P. 73-78.
  37. *Bakarjjeva N., Stefanov B., Cristova N.* Effect of calcium ions and 4-PU-30 cytokinin on the protein quantity and the activities of peroxidase, superoxide dismutase and catalase in etiolated maize coleoptiles // Докл. Бълг. АН – 2001. – V. 54, N 4. – P. 85-88.
  38. *Bhattacharjee S.* Reactive Oxygen Species and Oxidative Burst: Roles in Stress, Senescence and Signal Transduction in Plants // Current Sci. – 2005. – V. 89. – P. 1113-1121.
  39. *Bhuja P., McLachlan K., Stephens J., Taylor G.* Accumulation of 1,3- $\beta$ -D-glucans, in response to aluminum and cytosolic calcium in *Triticum aestivum* // Plant and Cell Physiol. – 2004. – V. 45. – P. 543-549.
  40. *Bolwer C., Fluhr R.* The role calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance // Trends Plant Sci. – 2000. – V. 5, N 6. – P. 241-246.
  41. *Chen Z., Silva H., Klessing D.F.* Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid // Science. – 1993. – V. 262, №12. – P. 1883 – 1886.
  42. *Chen G., Jia K., Han L., Ren L.* Effects of calcium and calmodulin antagonist on antioxidant systems of eggplant seedlings under high temperature stress // Agr. Sci. China. – 2004. – V. 3, N 2. – P. 101-107.
  43. *Cheng S.-H., Willmann M.R., Chen H.-C., Sheen J.* Calcium signaling through protein kinases // Plant Physiol. – 2002. – V. 129. – P. 469-485.
  44. *Chico J.M., Marcela R., Tellez-Inon M.T., Uiiola R.M.* A calcium-dependent protein kinase is systematically induced upon wounding in tomato plants // Ibid. – 2002. – V. 128. – P. 256-270.
  45. *Chin D., Means A.R.* Calmodulin: a Prototypical Calcium Sensor // Trends Cell. Biol. – 2000. – V. 10. – P. 322-327.
  46. *Chinnusamy C., Schumacher K., Zhu J.-K.* Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signaling in plants // J. Exp. Bot. – 2004. – V. 55, N 395. – P. 225-236.
  47. *Dat J.F., Delgado H.L., Foger C.H., Scott I.M.* Parallel changes in  $H_2O_2$  and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings // Plant Physiol. – 1998. – V. 116. – P. 1351 – 1357.
  48. *Dat J., Vandenabeele S., Vranova E. et al.* Dual Action of the Active Oxygen Species During Plant Stress Responses // Cell. Mol. Life Sci. – 2000. – V. 57. – P. 779-795.
  49. *Demidchik V., Shabatla S.N., Coutts K.B. et al.* Free oxygen radicals regulate plasma membrane  $Ca^{2+}$ - and  $K^+$ -permeable channels in plant root cells // J. Cell Sci. – 2003. – V. 116. – P. 81-88.
  50. *Demidchik V., Davenport R.J., Tester M.* Nonselective Cation Channels in Plants // Annu. Rev. Plant Biol. – 2002. – V. 53. – P. 67-107.
  51. *Desikan R., Cheung M.-K., Bright J. et al.* ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells // J. Exp. Bot. – 2004. – V. 55, N 355. – P. 205-212.
  52. *Ding J.P., Pickard B.G.* Mechanosensory Calcium-Selective Cation Channels in Epidermal Cells // Plant. J. – 1993. – V. 3. – P. 83-110.
  53. *Drew M.C., He C.-J., Morgan P.W.* Programmed Cell Death and Aerenchyma Formation in Roots // Trends Plant Sci. – 2000. – V. 5. – P. 123-127.
  54. *Drobak B.K., Watkins P.A.C.* Inositol-1, 4, 5-trisphosphate production in plant cell: An early response to salinity and hyperosmotic stress // FEBS Lett. – 2000. – V. 481, N 3. – P. 240-244.
  55. *Gao H., Guo S., Liu Y. et al.* Influence of  $Ca^{2+}$ ,  $La^{3+}$  and EGTA on the metabolism of reactive oxygen forms in melon plantlets under hypoxia stress // J. Nanjing Agr. Univ. – 2005. – V. 28, N 2. – P. 17-21.
  56. *Gomes-Lepe B. E., Lee-Stadelmann O. K. J., Polta J. P., Stadelmann E. S.* Effect of octyleguanidine on cell permeability and of her protoplasmic properties of *Allium cepa* epidermal cells // Plant Physiol. – 1979. – V. 64, N 1. – P.136-138.
  57. *Gong M., Li Y.J Dai Xum Tian Mei, Li Z.-G.* Involvement of Calcium and Calmoduline in the Acquisition of Heat-shock Induced Termotolerance in

- Maize Seedlings // *J. Plant Physiol.* - 1997.- V. 150. - P. 615-621.
58. *Gong M., Van der L. A. H., Knight M. R. Trewavas A. J.* Heat-shock – induced changes in intracellular  $Ca^{2+}$  level in tobacco seedling in relation to thermotolerance // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 116, N 1. – P.429-437.
  59. *Grant M., Brown I., Adams S. et al.* The RPM1 plant disease resistance gene facilitates a rapid and sustained increase in cytosolic calcium that is necessary for the oxidative burst and hypersensitive cell death // *Plant J.* – 2000. – V. 23, N 4. – P. 441-450.
  60. *Guo L.-H., Chen S.-N., Gong M.* Influence of heat shock and calcium on corn plantlets chilling resistance // *J. Yunnan Univ. Natur. Sci.* – 2003. – V. 25, N 5. - P. 449-452.
  61. *Guo L.-H., Chen S.-N., Gong M.* Calcium influence on the plantlets corn multiresistance in connection with the glutathione reductase // *Acta Bot. Yunnanica.* – 2004. – V. 26, N 1. - P. 111-117.
  62. *Heo W.D., Lee S.H., Kim M.C. et al.* Involvement of specific calmodulin isoforms in salicylic acid-independent activation of plant disease resistance responses // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – V. 96. – P. 766-771.
  63. *Hepler P. K., Wayne R.O.* Calcium and Plant Development // *Annu. Rev. Plant Physiol.* – 1985. – V. 36. – P. 327-334.
  64. *Hill C.S., Treisman R.* Transcriptional regulation by extracellular signals: Mechanism and specificity // *Cell.* – 1995. – V. 80. – P. 199-212.
  65. *Hirschi K., Zhen R.G., Cunnuingham K.W. et al.* CAX1: An  $H^+$ /  $Ca^{2+}$ -antiporter from Arabidopsis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1996. – V. 93. – P. 8782-8786.
  66. *Horvath E., Janda T., Szalai G., Paldi E.* In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance // *Plant Sci.* - 2002. – V. 163. – P. 1129-1135.
  67. *Hu C., Lee D., Chibbur R.N., Huystee R.B.*  $Ca^{2+}$  and peroxidase derived from cultured peanut cells // *Physiol. Plant.* – 1987. – V. 70. – P.99-102.
  68. *Hu X.Y., Neill S.J., Cai W.M., Tang Z.C.* Induction of defence gene expression by oligogalacturonic acid requires increases in both cytosolic calcium and hydrogen peroxide in Arabidopsis thaliana // *Cell. Res.* – 2004. – V. 14, N 3. – P. 234-240.
  69. *Hwang I., Sze H., Harper J. F.* A Calcium-Dependent Protein Kinase Can Inhibit a Calmodulin-Stimulated  $Ca^{2+}$  Pump (ACA2) Located in the Endoplasmic Reticulum of Arabidopsis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – V. 97. – P. 6224-6229.
  70. *Jiang Y., Huang B.* Effect of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cold-season grasses // *J. Exp. Bot.* - 2001. – V. 52, N 355. –P. 341-342.
  71. *Kacperska A.* Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity? // *Physiol. Plant.* – 2004. – V. 122. – P. 159-168.
  72. *Kasai N., Muto S.*  $Ca^{2+}$  Pump and  $Ca^{2+}/H^+$  Antiporter in Plasma Membrane Vesicles Isolated from Aqueous Two-Phase Partitioning form Maize Leaves // *J. Membr. Biol.* – 1990. – V. 114. – P. 133-142.
  73. *Kasamo K., Yamaguchi M., Nakamura Y.* Mechanism of the Chilling-Induced Decrease in Proton Pumping across the Tonoplast of Rice Cells // *Plant Cell Physiol.* – 2000. – V. 41. – P. 840-849.
  74. *Kaur N. Gupta A.K.* Signal transduction pathways under abiotic stresses in plant // *Curr. Sci.* – 2005. - V. 88, N 11. - P. 1771-1780.
  75. *Kauss H., Jeblis W.* Pretreatment of parsley suspension cultures with salicylic acid enhances spontaneous and elicited production of  $H_2O_2$  // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 108. – P. 1171-1178.
  76. *Kawano T., Muto S.* Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture // *J. Exp. Bot.* – 2000. – V. 51. – N 345. – P. 685-693.
  77. *Keller T., Damude H.G., Verner D. et al.* A plant homologue of the neutropil NADPH oxidase gp91 phox subunit gene encodes a plasma membrane protein with  $Ca^{++}$  binding motifs // *Plant Cell.* – 1998. – V. 10, N 2. – P. 255-266.
  78. *Klusner B., Young J.J., Murata Y et al.,* Convergence of calcium signaling pathways of pathogenic elicitors and abscisic acid in Arabidopsis guard cells // *Plant Physiol.* – 2002. - V. 130. – P. 2152-2163.
  79. *Knight H., Trewavas A.J., Knight M.R.* Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity // *Plant J.* – 1997. - V. 12. – P. 1067-1078.
  80. *Knight H.* Calcium Signalling during Abiotic Stress in Plants // *Intern. Rev. Cytol.* – 2000. – V. 195. – P. 269-324.
  81. *Kurosaki F., Tsurusawa Y., Nishi A.* The Elicitation of Phytoalexins by  $Ca^{2+}$  and Cyclic AMP in Carrot Cells // *Phytochemistry.* – 1987. – V. 26. – P. 1919-1923.

## КАЛЬЦИЙ И СТРЕССОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ

82. Kwak J.M., Nguyen V., Schroeder J.I. The Role of Reactive Oxygen Species in Hormonal Responses // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 323-329.
83. Kwang M. J., Dae K.K. Purification and Characterization of a Membrane-Associated 48-kilodalton Phospholipase A<sub>2</sub> in Leaves of Broad Bean // *Ibid.* – 2000. – V. 123. – P. 1057-1067.
84. Larkindale J., Knight M.R. Protection against heat stress-induced oxidative damage in Arabidopsis involves calcium, abscisic acid, ethylene and salicylic acid // *Ibid.* – 2002. – V. 128. – P. 682-695.
85. Lee J., Rudd J.J. Calcium-Dependent Protein Kinases: Versatile Plant Signalling Components Necessary for Pathogen Defense // *Trends Plant Sci.* – 2002. – V. 7. – P. 97-98.
86. Leon J., Lawton M.A., Raskin I. Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in Tobacco // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 108. – P. 1673-1678.
87. Leshem Y.Y. Membrane phospholipids catabolism and Ca<sup>2+</sup> activity in control of senescence // *Physiol Plant.* – 1987. – V. 69. – P. 551-559.
88. Li B., Liu H.-T., Sun D.-Ye., Zhou R.-G. Ca<sup>2+</sup> and calmodulin modulate DNA-binding activity of maize heat shock transcription factor in vitro // *Plant and Cell Physiol.* – 2004. – V. 45, N 5. – P. 627-634.
89. Liang J., Li Yu-H., Zhang R.-R.-F. Zhu Z. Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> influence on the physiological characteristics grafted seedlings of Casuarina equisetifolia under NaCl-stress // *Acta ecol. Sin.* – 2004. - V. 24, N 5. – P. 1073-1077.
90. Lin S., Zhang Z. Effect of cold acclimation and CaCl<sub>2</sub> on total soluble protein, CaM and freezing resistance of Populus tomentosa seedlings // *Forest Stud. China.* – 2002. – V. 4, N 1. – P. 5-12.
91. Logan D.C., Knight M.R. Mitochondrial and cytosolic calcium dynamics are differentially regulated in plants // *Plant Physiol.* – 2003. - V. 133. – P. 21-24.
92. Macri F., Braidot E., Petrusa E., Vianello A. Lipoxygenase Activity Associated to Isolated Soybean Plasma Membranes // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1994. – V. 1215. – P. 109-114.
93. Mauler C. Aquaporins and water permeability of plant membranes // *Annu. Rev. Plant Physiol.* - 1997. – V. 48. – P. 399-429.
94. Monroy A.F., Dhindsa R.S. Low temperature signal transduction: induction of cold acclimation-specific genes of alfalfa by calcium at 25<sup>0</sup>C // *Plant Cell.* - 1995. – V. 7. - P. 321-331.
95. Mori I. C., Schroeder J.S. Reactive Oxygen Species Activation of plant Ca<sup>2+</sup> Channels. A signaling Mechanism in Polar Growth, Hormone Transduction, Stress signaling, and Hypothetically Mechano-transduction // *Plant Physiol.* – 2004. – V. 135. – P. 702-708.
96. Munnik T. Phosphatidic acid: an emerging plant lipid second messenger // *Trends Plant Sci.* – 2001. – V. 6, N 5. - P. 227-233.
97. Nayyar H., Kaushal S.K. Alleviation of negative effects of water stress in two contrasting wheat genotypes by calcium and abscisic acid // *Biol. Plant.* – 2002. – V. 45, N 1. – P. 65-70.
98. Neill S.T., Desikan R., Clarke A. et al. Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide as Signalling Molecules in Plants // *J. Exp. Bot.* 2002. - V. 53. - P. 1237-1247.
99. Orrenius S., McConkey D.J., Bellomo G., Nicoletta P. Role of Ca<sup>2+</sup> in Toxic Cell Killing // *Trends Pharmacol. Sci.* – 1989. – V. 10. - P. 281-287.
100. Pardo J. M., Reddy M.P., Vang S. et al. Stress signaling thorough Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein phosphatase salt adaptation in plant // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1998. – V. 95. – P. 9681-9686.
101. Pastori G., Foyer C.H. Common Component, Networks, and Pathways of cross-Tolerance to Stress. The Central Role of “Redox” and Abscisic Acid-Mediated controls // *Plant Physiol.* – 2002. – V. 129. – P. 460-468.
102. Pei Z.-M., Murata Y., Benning G. et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cells // *Nature.* – 2000. - V. 406. – P. 731-734.
103. Plieth C. Calcium: Just Another Regulator in the Machinery of Life? // *Ann. Bot.* – 2005. – V. 96. – P. 1-8.
104. Pittman J.K., Hirshi K.D. Don't Shoot the (Second) Messenger: Endomembrane Transporters and Binding Proteins Modulate Cytosolic Ca<sup>2+</sup> Levels // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2003. – V. 6. – P. 257-262.
105. Rasmussen H. Calcium and cAMP As a Synarchic Messengers. - N. Y.: Wiley. – 1981. – 370 p.
106. Reddy A.S.N. Calcium: Siler Bullet in Signaling // *Plant Sci.* – 2001. – V. 160. – P. 381-404.
107. Rentel M.C., Knight M.R. Oxidative stress-induced calcium signaling in Arabidopsis // *Plant Physiol.* – 2004. - V. 135. - P. 1471-1479.
108. Resendes E. J., Attenello J.T., Grafsky A. et al. Calcium Ionophore A23187 Induces Expression of Glucose-Regulated Genes and their Heterologous Fusion Genes // *Mol. Cell. Biol.* – 1985. – V. 5. – P. 1212-1218.



109. *Sagi M., Fluhr R.* Production of Reactive Oxygen Species by Plant NADPH Oxidases // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 336-340.
110. *Sang Y., Cui D., Wang X.* Phospholipase D and phosphatidic acid-mediated signal-transduction pathways of higher plants // *Ibid.* – 2001. – V. 126. – P. 1449-1458.
111. *Saradhi P.P., Arora S., Prasad V.V.* Proline Accumulation in Plants Exposed to UV Radiation Protects them Against Induced Peroxidation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1995. – V. 290. – P.1-5.
112. *Savoure A., Jauoa S., Hua X.-J.* Isolation, characterization, and chromosomal location of a gene encoding the  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase in *Arabidopsis thaliana* // *FEBS Lett.* – 1995. – V. 372. – P. 13-19.
113. *Scandalios J.G.* Oxidative Stress: Molecular Perception and Transduction of Signals Triggering Antioxidant Gene Defenses // *Braz. J. Med. and Biol. Res.* – 2005. – V. 38, № 7. – P. 995-1014.
114. *Shannon L.M.* Plant Isoenzymes // *Annu. Rev. Plant Physiol.* – 1986. – V. 5. – P. 187-204.
115. *Snedden W.A., Fromm H.* Calmodulin As a Versatile Calcium Signal Transducer in plants // *New Phytol.* – 2001. – V. 151. – P. 35-66.
116. *Sulochana Ch., Young J.J., Murata Y. et al.* Convergence of calcium signaling pathways of pathogenic elicitors and abscisic acid in *Arabidopsis* guard cells // *Plant Physiol.* – 2002. – V. 130, N 4. – P. 2152-2163.
117. *Sulochana Ch. Savithramma N.* Influence of calcium in amelioration of water stress thorough calmodullin,  $Ca^{2+}$  and peroxidase activity during seedling growth of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars // *Plant Arch.* – 2002. – V. 2. – P. 309-315.
118. *Sze H., Liang F., Hwang I. et al.* Diversity and Regulation of Plant  $Ca^{2+}$  Pumps: Insights from Expression in Yeast // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2000. – V. 51. – P. 433-462.
119. *Trewavas A.J., Malho R.*  $Ca^{2+}$  Signalling in Plant Cells: the Big Network! 1998 // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 1998. – V. 1. – P. 428-433.
120. *Trofimova M.S., Andreev I.M., Kuznetsov V.V.* Calcium is involved in regulation of the synthesis of HSPs in suspension cultured sugar beet cell under hyperthermia // *Physiol. Plant.* – 1999. – V. 105. – P. 67-73.
121. *Very A.-A., Sentenac H.* Cation Channels in the *Arabidopsis* Plasma Membrane // *Trends Plant Sci.* – 2002. – V. 7. – P. 168-175.
122. *Wang X.* The role of phospholipase D in signaling cascade // *Plant Physiol.* – 1999. – V. 120. – P. 645-651.
123. *Wang X.* Plant Phospholipases // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2001. – V. 6. – P. 211-231
124. *Wang X.* Lipid Signaling // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2004. – V. 7. – P. 329-336.
125. *Wei S., Lin Ye-hao, Qu H. et al.* Influence of nitrogen and calcium on a polyphenoloxidase, peroxidase and resistance to the pink leaf blight // *J. Anhui Agr. Univ.* – 2002. – V. 29, N 1. – P. 78-81.
126. *White P.J.* Calcium Channels in Higher Plants // *Biochim. Biophys. acta.* – 2002. – V. 1564. – P. 171-189.
127. *White P.J., Bowen H. C., Demidchik V. Et al.* Genes for Calcium-Permeable Channels in the Plasma Membrane of Plant Root Cells // *Ibid.* – V. 1564. – P. 299-309.
128. *Wood N., T., Allan A.C., Haley A. et al.* The characterization of differential calcium signaling in tobacco guard cells // *Plant J.* – 2000. – V. 24, N 3. – P. 335-344.
129. *Wu F.S., Park Y.-C., Roufa D., Martinosi A.* Selective Stimulation of the Systhesis of an 80.000-Dalton Protein by Calcium Ionophores // *J. Biol. Chem.* – 1981. – V. 256. – P. 5309-5315.
130. *Zhang J., Ju M., Liu W.*  $Ca^{2+}$  influence on damage by active oxygen and membranous lipids peroxidation of leaves at osmotic stress // *J. Xuzhou Norm. Univ. Natur. Sci. Ed.* – 2002. – V. 20, N 3. – P. 58-60.
131. *Zhou Q., Huang X., Shi G., Dai Y.* Calcium influence on biological characteristics of wheat plantlets at the stress caused by the ultraviolet-B irradiating // *Chin. J. Environ. Sci.* – 2001. – V. 22, N 6. – P. 79-82.
132. *Zielinski R.E.* Calmodulin and Calmodulin-Binding Protein in Plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1998. – V. 49. – P. 697-725.
133. *Zook M.N., Push J.S., Kuc J.A.* A role for  $Ca^{2+}$  in the Elicitation of Rishitin and Lubimin Accumulation in Potato Tissues // *Plant Physiol.* – 1987. – V. 84. – P. 520-525.

Поступила в редакцию  
17.02.2007 г.

## **КАЛЬЦИЙ И СТРЕССОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ**

### **CALCIUM AND STRESS REACTIONS OF PLANTS**

Yu. Ye. Kolupaev

*V. V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University  
(Kharkiv, Ukraine)*

In the review the role of calcium ions in formation of plant responses on stress influences, calcium signals relation with others intracellular messengers, involved in stress-reactions is surveyed. The major attention is given interrelation between changes of the cells calcium status and formation of reactive oxygen species (ROS). On the basis of literary data analysis wobble of such relation is shown: in one cases  $\text{Ca}^{2+}$  induces ROS formation in plant cells; in others - ROS cause the yield of calcium in the cytosol; quite often similar effects are observed simultaneously. The assumption proves that  $\text{Ca}^{2+}$  and ROS are key components (messengers) of the uniform network combineing signaling systems of plant cells. At different stages of its functioning the relative intensifying action of these messengers is possible.

**Key words:** *calcium, stress, reactive oxygen species, intracellular messengers, signaling systems*

## **КАЛЬЦІЙ І СТРЕСОВІ РЕАКЦІЇ РОСЛИН**

Ю. Є. Колупаєв

*Харківський національний аграрний університет ім. В. В. Докучаєва  
(Харків, Україна)*

В огляді аналізується роль іонів кальцію в формуванні реакцій рослин у відповідь на стресові впливи, зв'язок сигналів кальцію з іншими внутрішньоклітинними месенджерями, що беруть участь в стрес-реакціях. Основна увага приділяється взаємозв'язку між змінами кальцієвого статусу клітин і утворенням активних форм кисню (АФК). На підставі аналізу літературних даних показана неоднозначність таких зв'язків: в одних випадках  $\text{Ca}^{2+}$  індукує утворення АФК в рослинних клітинах; в інших – АФК спричиняють вихід кальцію в цитозоль; нерідко подібні ефекти спостерігаються одночасно. Обґрунтовується припущення, що  $\text{Ca}^{2+}$  і АФК є ключовими компонентами (месенджерями) єдиної мережі, що об'єднує сигнальні системи рослинних клітин. На різних етапах її функціонування можливе взаємне посилення впливу цих месенджерів.

**Ключові слова:** *кальцій, стрес, активні форми кисню, внутрішньоклітинні месенджери, сигнальні системи*