

О Г Л Я Д И

УДК 581.1

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В РАСТЕНИЯХ ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОРОВ: ОБРАЗОВАНИЕ И ВОЗМОЖНЫЕ ФУНКЦИИ

© 2007 г. Ю. Е. Колупаев

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

Приводятся сведения о механизмах образования активных форм кислорода (АФК) в растениях и возможных причинах усиления их генерации в условиях стресса. Обобщены данные о роли АФК как сигнальных интермедиатов, причастных к запуску защитных реакций растений при действии абиотических и биотических стрессоров. Среди реакций, которые могут индуцироваться АФК, не только активация антиоксидантной системы, но и накопление растениями низкомолекулярных протекторов (пролин, полиамины, сахара), синтез широкого спектра стрессовых белков. АФК и продукты пероксидного окисления липидов причастны к регуляции состояния ионных каналов, в т.ч. кальциевых, активности мембранно-связанных ферментов.

Ключевые слова: *активные формы кислорода (АФК), супероксидный радикал, пероксид водорода, пероксидное окисление липидов, окислительный стресс, кальций, антиоксидантные системы, низкомолекулярные протекторы, стрессовые белки*

Термин «активные формы кислорода» (АФК) означает совокупность взаимопревращающихся реакционно-способных форм кислорода, большинство из которых имеет короткое время существования. Усиление образования АФК является одной из наименее специфических реакций живых организмов на действие биотических и абиотических стрессоров. Явление сдвига тканевого баланса антиоксидантов и прооксидантов в сторону последних называют «окислительным стрессом» [20]. Самые разнообразные неблагоприятные влияния, в т.ч. противоположные по характеру действия, вызывают различное по продолжительности увеличение содержания АФК во многих компартаментах растительных клеток. Это – засуха и засоление среды [66, 88, 107, 158], низкие [82, 133] и высокие [71, 72] температуры, действие тяжелых металлов [72, 153], гербицидов [118],

УФ радиации [124, 148], загрязнение воздуха [94], гипоксия [10].

Усиление генерации АФК вызывают и биотические стрессоры – поражение растений бактериями, грибами, микоплазмами [40, 49, 57, 63]. Совокупность имеющихся данных позволяет считать, что роль АФК в условиях действия патогенов полифункциональна. Благодаря АФК растение может уничтожить патоген путем окислительного взрыва и в результате реакции сверхчувствительности сформировать вокруг него зону из мертвых растительных клеток, насыщенных антимикробными соединениями [40]. Кроме того, при формировании приобретенной системной устойчивости к патогенам АФК выступают в роли сигнальных интермедиатов, которые принимают участие в активации генов ферментов, причастных к защитным реакциям, в частности, к синтезу фитоалексинов [17]. Окислительный взрыв, вызванный действием патогенов, может вызывать окисление липидов, продукты которого также способны выступать в роли вторичных мес-

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

сенджеров – индукторов экспрессии генов PR-белков [35].

Если функциональное значение образования АФК в растениях при действии биотических факторов не вызывает сомнений, то смысл подобной реакции в ответ на абиотические стрессоры до сих пор остается предметом дискуссии [67, 72, 119]. Более того, накоплен большой объем данных, которые свидетельствуют о прямом и опосредствованном участии АФК в повреждении биомакромолекул и структур клетки при действии абиотических стрессоров. АФК вызывают окислительные повреждения белков, что проявляется в окислении –SH групп, FeS-центров ферментов, фрагментации пептидных цепей, повышении чувствительности белков к действию протеаз [38, 80, 143]. АФК способны прямо взаимодействовать с ДНК, вызывая повреждение азотистых оснований, дезоксирибозы и появление новых ковалентных связей (сшивок) [43]. Возможно также не прямое действие АФК на ДНК, например, связанное с активацией нуклеаз под действием кальция, выход которого из разных клеточных компарментов в цитозоль вызывают АФК [43].

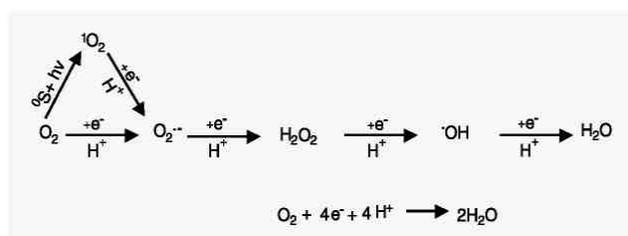
Одними из основных мишеней действия АФК являются липиды. АФК способны инициировать пероксидное окисление липидов (ПОЛ). Главные эффекты ПОЛ включают в себя окисление ненасыщенных жирных кислот мембран и взаимодействие продуктов ПОЛ с белковыми молекулами мембран [38].

Таким образом, избыток АФК, образующихся под действием абиотических стрессоров, может вызывать в растительных тканях каскад неблагоприятных изменений. В то же время универсальность сигнальных систем, задействованных в реакциях растений на биотические и абиотические стрессоры, дает основания допускать положительную роль АФК в условиях действия абиотических стрессоров [90]. Однако данные об индукции АФК «полезных» реакций при абиотических стрессах значительно меньше по сравнению со сведениями о вызываемых ими повреждениях макромолекул и структур клеток. Не всегда ясно, почему в одних случаях АФК вызывают повреждения, а в других – индуцируют защитный эффект. В связи с этим является целесообразным обобщение информации о механизмах образования АФК и причинах его усиления при действии стрессоров, роли АФК в сигнальных системах и конкретных защитных реакциях, повышающих устойчивость растений к абиотическим стрессорам.

Механизмы образования АФК

АФК возникают в результате возбуждения атомов кислорода или в окислительно-восстановительных реакциях. Их образование имеет место в реакциях одно- двух- и трехэлектронного восстановления кислорода в результате спонтанного и ферментативного окисления, а также в фотоиндуцируемых реакциях [38, 42, 143]. Среди АФК выделяют свободно-радикальные частицы – супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал (OH^{\cdot}), пероксидные радикалы (RO_2^{\cdot}) и др. и нейтральные молекулы, такие как пероксид водорода (H_2O_2), синглетный кислород (1O_2), озон (O_3) и пр. [38, 119].

Появление активированного кислорода в клетке можно рассматривать как последовательные этапы восстановления O_2 до воды (рисунк).



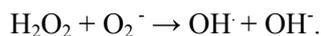
Образование активных форм кислорода [143].

Супероксидный радикал образуется в электрон-транспортных цепях хлоропластов и митохондрий [119]. Индуцируемая стрессорами генерация супероксидного радикала часто происходит в реакциях, которые катализирует НАДФН-оксидаза. Этот фермент локализован в основном в плазматической мембране [119, 139, 143]. Кроме того, в образовании супероксидного радикала могут принимать участие пероксидазы (при наличии избытка возобновителей), ксантинооксидаза и другие ферменты, локализованные преимущественно в апопласте и пероксисомах [119].

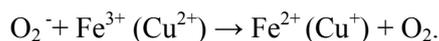
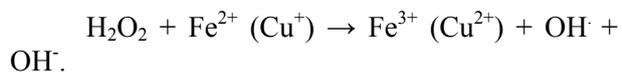
В последнее время появились сведения, что в процессе генерации АФК, наряду с внеклеточными формами пероксидаз, могут принимать участие как своеобразные кофакторы процесса салициловая кислота, моноамины и хитоолигосахариды. Показано, что пероксидазы растений способны окислять эти соединения в присутствии H_2O_2 , образуя в итоге соответствующие виды радикалов, в частности, свободный радикал салициловой кислоты [98]. Эти радикалы могут реагировать с кислородом, в результате чего продуцируется супероксидный

анион-радикал. Возникшие таким способом АФК трансдуцируют внеклеточные сигналы в редокс-сигналы, которые приводят к открытию кальциевых каналов, необходимому для индукции защитных реакций [98].

Гидроксильный радикал – наиболее реакционно-способная АФК. Появление гидроксильного радикала в биологических системах связывают, прежде всего, с неферментативными реакциями Хабера-Вейсса и Фентона [17, 38]. Первая происходит медленно:



Более мощным неферментативным механизмом образования гидроксильного радикала является реакция Фентона, в которой кроме пероксида водорода принимают участие металлы с переменной степенью окисления (железо и медь):



Образование OH^- происходит также при взаимодействии пероксида водорода с ферредоксином, убихиноном и при радиолизе воды [42, 61].

Пероксид водорода относится к стабильным АФК и образуется за счет дисмутации O_2^- . Этот процесс может происходить спонтанно [51], но в клетках он чаще катализируется супероксиддисмутазой (СОД), что значительно ускоряет его [12]. Кроме того, пероксид водорода может быть продуктом пероксисомальных реакций фотодыхания [77].

Синглетный кислород $^1\text{O}_2$ генерируется при изменении спина одного из электронов. Это одна из наиболее реакционно-способных форм АФК. Появление $^1\text{O}_2$ происходит в основном в фотоиндуцируемых реакциях при участии хлорофилла, порфиринов, флавинов. Образование синглетного кислорода возможно также в реакции дисмутации супероксида [38].

Таким образом, большинство АФК является продуктами нормального (не только стрессового) метаболизма клеток. Возникает вопрос, почему при действии стрессоров их содержание в клетках значительно увеличивается? Несмотря на накопленную большую феноменологию индуцируемого стрессами усиления генерации АФК, причины этого явления однозначно не выяснены. Одно из самых простых объяснений заключается в том, что практически любой стрессор, по крайней мере, теоретически, мо-

жет вызвать декомпартиментализацию – разгерметизацию компартментов, в которых локализованы электрон-транспортные цепи, прежде всего митохондрий, хлоропластов и плазмалеммы. Возможно и немало других причин сбоя в функционировании электрон-транспортных цепей.

Как известно, O_2^- образуется непосредственно в ходе работы фотосинтетической электрон-транспортной цепи, основным источником фотоиндуцирования молекулярного кислорода является фотосистема I [70]. При действии разных стрессоров уменьшается фиксация CO_2 , из-за чего снижается потребление НАДФН в цикле Кальвина. Сверхвосстановленность электрон-транспортной цепи приводит к образованию в хлоропластах различных АФК [47].

В дыхательной цепи митохондрий супероксид появляется при участии убихинона, флавинов и железосодержащих белков. Считается, что особая роль в окислении НАДН с образованием АФК принадлежит комплексу I [120]. В целом же, есть сведения, что митохондрии содержат, по меньшей мере, девять сайтов, способных продуцировать супероксидный анион-радикал, который может быть предшественником многих других АФК [3]. В ходе окислительного фосфорилирования в нормальных условиях около 5% кислорода превращается в АФК [38]. Генерация АФК значительно усиливается при снижении концентрации АДФ, поскольку из-за уменьшения потребления кислорода его содержание растет, одновременно повышается восстановленность переносчиков в цепях [38, 41]. Показано, что в стрессовых условиях из-за угнетения энергозатратных процессов электрон-транспортная цепь митохондрий может стать сверхвосстановленной [134].

В настоящее время становится все более популярной гипотеза, согласно которой причиной окислительного стресса является не столько продукция АФК, сколько нарушение пространственно-временного баланса между их генерацией и удалением. Так, приводятся аргументы в пользу предположения, о том, что «отказ защитных систем» наиболее адекватно описывает роль митохондрий в инициации окислительного стресса [3]. Зафиксировано немало фактов повреждения антиоксидантных ферментов при действии стрессоров. Например, снижение активности каталазы у теплолюбивых растений происходило в ответ на действие холода [127]. Тепловая обработка также подавляла активность этого фермента у разных видов растений [71, 108].

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

Еще одной причиной накопления АФК в клетках при действии стрессоров может быть прямая активация ими АФК-генерирующих ферментных систем, например, НАДФН-оксидазы. Это явление выполняет роль защитной реакции при поражении растений патогенами и возникновении окислительного взрыва (реакция сверхчувствительности) [17]. В то же время показана и активация НАДФН-оксидазы под действием высокотемпературного стресса [72, 74]. Примечательно, что индуктором экспрессии НАДФН-оксидазы может быть пероксид водорода [44]. Подобный механизм может быть задействован в индукции апоптоза, который требует усиленного образования АФК. Не исключено, что такой механизм активации НАДФН-оксидазы задействован в ответе растений на поражение патогенами. Этот процесс включает в себя первичный всплеск содержания пероксида водорода, который может генерироваться внеклеточными пероксидазами [114] и последующую активацию НАДФН-оксидазы. Возможны также активация накопления салициловой кислоты под действием патогена, последующее ингибирование салицилатом каталазы, как следствие, накопление H_2O_2 , активация НАДФН-оксидазы и гиперпродукция АФК, что приводит к апоптозу растительных клеток в очаге инфекции [49, 69].

Как уже отмечалось, есть сведения о повышении разными стрессорами активности апопластной пероксидазы, которая может быть продуцентом АФК – супероксида и пероксида водорода при избытке восстановителей. Вполне возможно, что причиной накопления стабильной АФК – пероксида водорода – может быть и индуцируемое стрессорами повышение активности СОД [56]. Проявление про- или антиоксидантных эффектов СОД и отдельных форм пероксидазы, вероятно, определяется конкретной ситуацией в клетке или в определенном компартменте: содержанием восстановителей, сбалансированностью работы с другими ферментами и пр. Поэтому, для выводов о причастности изменений активности того или другого фермента к накоплению/разрушению АФК необходимо одновременное изучение по крайней мере нескольких компонентов про-/антиоксидантной системы.

Известно, что образование АФК в значительной мере зависит от кальциевого статуса клеток [84, 122]. Подробно связи между Ca^{2+} и АФК рассматривались в нашем предыдущем обзоре [25]. Следует отметить, что между ионами кальция и АФК существуют реципрокные

взаимоотношения: в одних случаях Ca^{2+} индуцирует образование АФК в растительных клетках, в других – АФК вызывают выход кальция в цитозоль; нередко подобные эффекты наблюдаются одновременно. Ca^{2+} и АФК можно рассматривать как ключевые компоненты (мессенджеры) единой сети, которая объединяет сигнальные системы растительных клеток. На разных этапах ее функционирования возможно взаимное усиление влияния этих мессенджеров [25].

Сигнально-регуляторные функции АФК у растений

Как уже отмечалось, избыток АФК в клетках может быть причиной повреждений биополимеров и липидов растительных клеток. Крайними результатами нарушения балансового соотношения в образовании/обезвреживании АФК может быть некроз тканей или реакция сверхчувствительности, возникающая у устойчивых растений в ответ на инфицирование патогенами [40]. Абиотические стрессоры также могут вызвать необратимые окислительные повреждения растительных тканей [38, 72]. В то же время образование АФК является результатом как стрессового, так и нормального метаболизма. Изменения в интенсивности генерации АФК могут быть причастны к активации реакций, связанных с морфогенезом растений [144]. Так, например, доказана роль супероксидного радикала в растяжении листовых пластинок растений.

Известно, что под контролем АФК находится явление апоптоза, например, запрограммированная гибель coleoptилей злаков [53].

При действии стрессоров АФК могут рассматриваться как вторичные посредники, вовлеченные в трансдукцию стрессового сигнала в геном клетки [119]. Такие функции выполняют не только сами по себе АФК, но и немало продуктов реакций, появление которых инициируется активным кислородом. Особое место среди эффектов АФК занимает инициация ПОЛ. Чрезвычайно важно, что АФК и продукты ПОЛ могут принимать участие в регуляции кальциевого статуса клеток, прямо или опосредствованно влияя на поступление ионов Ca^{2+} как вторичного мессенджера в цитозоль [95].

АФК и модификация липидов мембран. Окисление липидов может происходить неферментативным путем (аутоокисление) при доступе свободного кислорода и наличии неферментативных активаторов – свободных радика-

лов и пероксидов [6]. Особенностью пероксидного окисления липидов (ПОЛ) является то, что окисляются преимущественно ненасыщенные жирные кислоты. Образование радикальных продуктов во время окисления липидов предопределяет самоускоряющийся, автокаталитический характер этого процесса [6].

Естественная метаболизация ненасыщенных и насыщенных жирных кислот осуществляется за счет ферментативных реакций. Механизм α - и β -окисления жирных кислот хорошо изучен. β -окисление предназначено в первую очередь для обеспечения энергетических потребностей клетки [48]. Этот процесс происходит без участия АФК, в то время как α -окисление может проходить с участием пероксида водорода и молекулярного кислорода.

Сложным путем окисления с образованием радикальных продуктов и физиологически активных веществ является липоксигеназное превращение ненасыщенных жирных кислот. Липоксигеназы представляют собой класс ферментов, которые катализируют образование гидропероксидов из полиненасыщенных липидов, которые содержат цис, цис-пентадиеновую систему (линолевая и линоленовая кислоты). Чаще липоксигеназы атакуют свободные жирные кислоты или их эфиры и менее эффективны относительно глицерофосфатидов и гликолипидов [42, 49].

Липоксигеназный каскад нередко активируется действием стрессоров [121]. Стартовым ферментом этого процесса является фосфолипаза A_2 . Высвобождение под действием этого фермента ненасыщенных жирных кислот ускоряет их атаку липоксигеназами и образование гидропероксидных форм жирных кислот. Появление последних предопределяет автокаталитический характер процесса: гидропероксиды выполняют роль Ca^{2+} -ионофоров, способствуя поступлению кальция в клетки. Ca^{2+} с помощью комплекса с кальмодулином дополнительно активирует фосфолипазу A_2 , которая приводит к последующей деградации липидов [48].

Сами по себе окисленные производные выполняют разнообразные регуляторные функции. В ходе деградации липидов могут образовываться фитогормоны – жасмонат, метилжасмонат, АБК [48]. Также появляется большая группа так называемых C_6 и C_{12} -соединений - оксипинов, которые выполняют защитные, в т.ч. антимикробные, функции при действии биотических стрессоров [49, 79].

Многие продукты липоксигеназной деградации способны изменять спектр синтезируемых растениями белков [18, 49].

Как правило, ферментативное и неферментативное ПОЛ происходят одновременно. Более того, при функционировании системы липоксигеназного окисления жирных кислот возможно появление свободных радикалов и синглетного кислорода [42].

Так или иначе, самые разнообразные продукты деградации липидов проявляют физиологическую активность. Правда, сведения об эффектах этих соединений, как и о самих соединениях, которые появляются при деградации липидов, систематизировать непросто.

Среди описанных в литературе феноменов следует выделить индукцию синтеза БТШ под действием гепоксилинов [48, 152]. Один из продуктов липоксигеназного метаболизма – 12-гидроксидодеценвая кислота – усиливала фосфорилирование белков проростков гороха при условиях *in vitro*. Подобный, но менее заметный эффект проявлял также метилжасмонат [18].

Под действием гидропероксидпроизводных жирных кислот происходят также изменения Ca^{2+} -статуса клеток. Они важны не только для автокаталитического усиления липоксигеназного каскада, но и для регуляции стрессового метаболизма в целом. В то же время, не исключено, что избыточное образование таких соединений с ионофорными свойствами [37] может приводить к разбалансированию Ca^{2+} -гомеостаза и проявлению его цитотоксических эффектов [7].

В последние десятилетия получены сведения о том, что состояние разных типов ионных каналов в живых объектах может регулироваться жирными кислотами [31, 115]. Показано, что мишенями для жирных кислот могут быть: потенциалзависимые K^+ -, Na^+ -, Ca^{2+} -каналы, Ca^{2+} -активируемые K^+ -каналы и др. [31]. Можно допустить, что изменения жирнокислотного состава мембран, которые происходят в результате переокисления липидов, появление свободных жирных кислот и продуктов их окисления будут отражаться на состоянии ионных каналов.

Образование в результате ПОЛ гидрофильных продуктов окисления изменяет структуру липидного бислоя мембран в гидрофобных участках, создает условия для пассивного транспорта ионов и метаболитов и тем самым в

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

известной степени (в зависимости от интенсивности окислительного процесса) нарушает координацию и специфичность мембранных процессов [6].

В то же время управляемое ПОЛ может быть механизмом регуляции структуры и функций биомембран, что поддерживает необходимое состояние ионных каналов, ферментов, рецепторов [6].

Пероксиды липидов могут выступать в роли аллостерических эффекторов, активируя или ингибируя некоторые ферменты. Само по себе изменение структуры мембран в результате ПОЛ может использоваться клеткой как механизм регуляции мембранно-связанных ферментов [8, 100]. Однако доказательств участия процесса ПОЛ в регуляции активности конкретных ферментов пока недостаточно. На примере животных клеток показано, что появление повышенных количеств активных продуктов ПОЛ может быть сигналом для активации фосфолипаз, в первую очередь фосфолипазы A_2 [6]. Считают, что этот фермент осуществляет выщепление из мембран прежде всего окисленных жирных кислот, содержащих пероксидные и эпоксидные группировки. Некоторыми авторами этот процесс рассматривается как один из механизмов обновления состава мембран. В то же время есть сообщения, что именно накопление свободных жирных кислот в результате активации фосфолипазы может способствовать их последующему пероксидному окислению [96]. Как уже отмечалось, фосфолипаза A_2 является стартовым ферментом липоксигеназной сигнальной системы [49].

Другой группой ферментов, активность которых может изменяться в результате повышения интенсивности ПОЛ, являются мембранные АТФазы. Показано, что влияние высокой температуры на листья гороха, вызывая усиление ПОЛ, приводило к активации H^+ -АТФазы плазмалеммы. При искусственном угнетении ПОЛ антиоксидантом ионолом H^+ -АТФазная активность при гипертермии увеличивалась в незначительной степени [11]. На примере каллусов *Lycium barbarum* показано, что умеренный солевой стресс, вызывая незначительное увеличение генерации АФК и усиление образования малонового диальдегида (МДА), приводил к повышению активности мембранной H^+ -АТФазы, тогда как более сильное воздействие вызывало избыточную пероксидацию липидов и снижало активность этого фермента [105].

В то же время следует отметить, что, несмотря на большой объем данных по физиологическим эффектам ПОЛ, в литературе недостаточно сведений, которые бы позволяли проследить причинно-следственные связи между активацией ПОЛ и индукцией конкретных защитных реакций растений. Недостаточно понятна и роль кальциевого статуса клеток в развитии окислительного стресса и индуцируемых им реакций.

Трансдукция сигнала АФК в геном. В передаче сигнала АФК в геном основная роль принадлежит различным белковым сенсорам. Ими выступают редокс-чувствительные белки, способные обратимо окисляться и восстанавливаться [6]. АФК могут окислять редокс-чувствительные белки непосредственно или непрямым путем при посредничестве молекул, которые контролируют окислительно-восстановительный баланс клетки (глутатион, тиоредоксин) [58]. Один из механизмов влияния АФК заключается в окислении тиольных групп белков. Сера, как известно, может быть в составе сульфгидрильных (восстановленных) или дисульфидных (окисленных) групп. Такие переходы приводят к изменению конформации белков. Другим механизмом редокс-регуляции является окисление железо-серных кластеров в белках [17].

Можно допускать, что трансдукция сигналов разными АФК происходит различными путями. Однако, в настоящее время мало известно, выполняет ли конкретная форма активного кислорода свою специфическую сигнальную функцию [17].

Гидроксильный радикал вряд ли может выполнять сигнальные функции, поскольку время его жизни составляет 10^{-9} с, а радиус диффузии не более 100 \AA [41]. Редокс-чувствительные ферменты способны непосредственно модулировать процессы метаболизма в клетке, в то время как редокс-чувствительные сигнальные белки функционируют при участии других компонентов сигнальных систем – протеинкиназ, протеинфосфатаз и факторов регуляции транскрипции (ФРТ) [49].

Супероксидный радикал обнаружен в ядерной, плазматической, митохондриальной мембранах и хлоропластах. Известна его способность легко проникать через биомембраны, как допускают, по анионным каналам без специфических переносчиков [6]. Однако маловероятно, чтобы сигнальная роль супероксидного анион-радикала была значительной, поскольку

время его жизни составляет всего 10^{-6} с, а радиус диффузии – 0,3 мкм [41]. Вероятно, сигнальный потенциал O_2^- связан в первую очередь с его последующим превращением в пероксид водорода [6]. Тем не менее не исключено, что O_2^- может иметь «свои» сенсоры, которые выполняют регуляторную роль. Так, на примере кишечной палочки показано, что агенты, которые генерируют супероксид, повышают экспрессию почти 40 генов, 16 из которых положительно регулируются белком SoxR [45].

Трансдукция сигнала H_2O_2 исследована наиболее детально, что, очевидно, связано с относительной стабильностью этой АФК. Так, установлено, что пероксид водорода может активировать одну из изоформ киназы MAP-киназы [101]. Это дает основания для предположения о возможности запуска с помощью H_2O_2 всего MAP-киназного каскада. Есть доказательства одновременной активации пероксида водорода MAP-киназ и синтеза PR-белков [49]. В настоящее время детализирован путь трансдукции сигнала пероксида водорода с помощью MAP-киназного каскада [131, 143]. Допускают, что первичным сенсором H_2O_2 может быть двухкомпонентная гистидин-киназа, которая активирует ферменты MAP-киназного каскада. Они, в свою очередь, влияют на ФРТ генов БТШ, АФК-продуцирующих и антиоксидантных ферментов [119]. В последние годы появилось также немало свидетельств возможности прямой модификации транскрипфакторов БТШ растений пероксидом водорода [117]. Имеется сообщение об индукции малыми дозами пероксида водорода фосфорилирования ФРТ, ответственных за синтез определенных групп протеинкиназ [144], которые относятся к универсальным компонентам сигнальных систем.

Считается, что модификация ФРТ может осуществляться и с помощью Ca^{2+} -кальмодулиновой системы [119]. АФК, в т.ч. избыток H_2O_2 , вызывают кальциевый всплеск [76, 99]. Как уже отмечалось, существуют тесные связи между генерацией АФК и повышением внутриклеточной концентрации кальция. Так, показано, что обработка проростков аридопсиса пероксидом водорода стимулировала увеличение концентрации кальция в цитозоле. Модуляция содержания Ca^{2+} влияла на индуцируемую пероксидом экспрессию генов глутатион-S-трансферазы. Наложение блокатора кальциевых каналов La^{3+} снижало высоту кальциевого пика и в то же время ингибировало

экспрессию гена глутатион-S-трансферазы [137].

Универсальность кальция как внутриклеточного мессенджера свидетельствует о возможности активации с помощью АФК разных сигнальных систем. Подобный каскад, по видимому, задействован в ответе растений на биотические и абиотические стрессоры [65].

Можно допустить, что определенная часть информационного потенциала АФК реализуется опосредствовано, путем активации ими пероксидации липидов и накопления продуктов ПОЛ, которые могут выполнять роль сигнальных интермедиатов [31, 49] (см. выше).

АФК и функционирование антиоксидантной системы. Общеизвестно, что функционирование и развитие клеток в кислородсодержащем окружении были бы невозможны без существования защитных систем, к которым относятся специализированные ферментативные и неферментативные антиоксиданты.

Детоксикация АФК при участии ферментативных процессов возможна, если константа реакции с АФК в физиологических условиях достаточно низкая. Реакции гашения OH^- , 1O_2 , RO_2^- не находятся под ферментативным контролем, поскольку их константы реакций с потенциальными реакционными партнерами в типичном окружении очень высоки (чаще $k \geq 10^8$) для ферментативного катализа [38]. Биомолекулы при реакции с такими АФК испытывают повреждения. Эти АФК могут обезвреживаться с помощью низкомолекулярных антиоксидантов.

Ферментативные системы катализируют преимущественно детоксикацию супероксида и пероксидов. У высших растений, водорослей и цианобактерий эти АФК удаляются индивидуально или кооперативно такими ферментами, как СОД, аскорбат-пероксидаза, глутатион-пероксидаза, глутатионредуктаза, каталаза [38, 41, 119].

Накопленные в настоящее время сведения позволяют утверждать, что состояние антиоксидантной системы в значительной мере зависит от образования и локализации АФК. Известно, что избыток АФК в клетках может повреждать ферментативные компоненты антиоксидантной системы, истощать пул низкомолекулярных антиоксидантов и приводить к необратимому повреждению клеток и тканей [42]. В то же время накопление АФК в физиологических пределах может вызывать актива-

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

цию экспрессии генов антиоксидантной защиты [39]. Значительная часть таких сведений получена на примере животных организмов. В последнее десятилетие роль АФК в регуляции систем антиоксидантной защиты достаточно интенсивно исследуется и на растительных объектах.

В некоторых работах изучалась временная динамика накопления АФК, развития ПОЛ и изменения активности антиоксидантных ферментов растений при действии стрессоров или экзогенных фитогормонов, способных вызывать эффекты окислительного стресса. Так, показано, что обработка листьев проростков кукурузы 10 и 100 мкМ растворами АБК вызывала повышение генерации ими O_2^- и H_2O_2 [93]. После эффекта усиления образования АФК по концентрационно- и времязависимому характеру возрастала активность антиоксидантных ферментов – СОД, каталазы, аскорбат-пероксидазы, глутатионредуктазы, а также содержание низкомолекулярных антиоксидантов. Авторами сделан вывод, что обработка растений АБК индуцирует антиоксидантную защитную реакцию против окислительного повреждения.

У проростков гороха при действии стрессовых (высоких) температур на протяжении 20 мин наблюдалось повышение содержания диеновых конъюгатов (признак окислительного стресса), а позже повышалась активность СОД и глутатион-пероксидазы [34]. Авторы считают, что накопление продуктов ПОЛ может активировать антиоксидантную систему. При исследовании влияния искусственной засухи на генерацию АФК, интенсивность ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов у растений *Glycyrrhiza uralensis* показано, что на первых этапах влияния умеренного обезвоживания имело место снижение содержания АФК и повышение активности СОД и аскорбат-пероксидазы [105]. Вероятно, подобный эффект объясняется очень кратковременным усилением генерации АФК, которое не было зафиксировано в эксперименте. Однако именно оно могло повлечь повышение активности антиоксидантных ферментов. При действии более сильного обезвоживания регистрировалось повышение содержания АФК, усиление ПОЛ в растениях и почти одновременное повышение активности СОД и аскорбат-пероксидазы. На более поздних стадиях стрессовой реакции имело место снижение активности этих двух ферментов, но происходила активация каталазы. Допускают, что именно балансирование

различных ферментов антиоксидантной защиты на разных стадиях стрессовой реакции имеет значение в способности растений выдерживать обезвоживание [105]. Похожие результаты были получены и при действии солевого стресса на проростки *Cassia anustifolia* [54]. Засоление среды приводило к накоплению пероксидов, МДА и в то же время повышало активность СОД, каталазы и разных форм пероксидазы.

На примере растений арабидопсиса продемонстрировано, что тепловое закаливание вызывало повышение содержания H_2O_2 в клетках и последующую активацию фактора транскрипции теплового шока HSF21, под контролем которого находится синтез аскорбат-пероксидазы [73].

В плодах баклажана при 10-дневном действии температуры 10 °С наблюдалось усиление образования АФК и в то же время повышалась экспрессия генов каталазы, аскорбат-пероксидазы и глутатионредуктазы, однако уровень транскриптов Mn-СОД снижался. Действие повреждающей температуры (0 °С) приводило к ингибированию синтеза всех антиоксидантных ферментов [159].

Под воздействием гипоксии у растений ячменя происходило повышение активности гваякол-пероксидазы, аскорбат-пероксидазы и каталазы [157].

При фумигации проростков кукурузы и овса фтороводородом сначала наблюдали усиление ПОЛ (накопление МДА) в листьях, а позже, с отставанием в несколько часов, повышение активности СОД [14].

На разных объектах показано одновременное усиление синтеза глутатиона и повышение активности СОД в ответ на действие экзогенного H_2O_2 или токсикантов, вызывающих окислительный стресс [12, 15, 55, 113]. Высказывается предположение, что интермедиаты окислительно-восстановительного метаболизма глутатиона могут выполнять триггерную роль: индуцировать синтез СОД при увеличении концентрации доноров электронов или подавлять активность при накоплении акцепторов. Активация СОД может быть связана с восстановлением меди сульфгидрильными соединениями [15].

При действии высоких концентраций ионов меди на проростки *Brassica jincea* L. наблюдали дозо-зависимое повышение содержания ТБК-активных продуктов (МДА) в корнях и (в меньшей степени) в листьях. При этом дос-

товерных изменений активности СОД не наблюдалось, активность каталазы повышалась лишь в листьях, однако имело место существенное повышение активности аскорбат-пероксидазы в корнях и листьях [47]. Другими авторами показано, что как избыток меди, так и ее дефицит в среде, приводил к усилению генерации растениями супероксидного радикала и накоплению пероксида водорода, при этом в обоих случаях происходило повышение активности комплекса антиоксидантных ферментов – СОД, каталазы, аскорбат- и глутатион-пероксидазы [150]. Аналогичные изменения компонентов антиоксидантной системы после подъема содержания пероксида водорода и МДА наблюдались у растений пшеницы при обработке глифосатом [118].

В целом, можно отметить, что стрессовые факторы разной природы в нелетальных дозах, умеренно усиливая накопление АФК и пероксидацию липидов, вызывали активацию антиоксидантных систем. При этом при действии различных стрессоров у разных видов растений активировались разные компоненты антиоксидантной системы. Не исключено, что исследуемые эффекты являются следствием вторичного окислительного стресса, который возникает уже после развития у растения первичных повреждений [47]. Интерпретировать механизмы активации антиоксидантных систем при действии таких стрессоров сложно. Как правило, не ясно, связано ли повышение активности антиоксидантных ферментов с сигнальным действием АФК и/или продуктов ПОЛ, либо оно является результатом реализации других механизмов, активированных первичным стрессором или стимулом (температурным, осмотическим, химическим, действием экзогенного фитогормона и т. п.).

Более однозначным свидетельством участия АФК в активации антиоксидантных систем могут быть результаты экспериментов по действию на растения экзогенных продуцентов АФК или самих АФК. На примере суспензионной культуры клеток сои была продемонстрирована возможность H_2O_2 -индуцированной экспрессии генов глутатион-пероксидазы [104]. Позже подобные эффекты H_2O_2 на примере других растений были продемонстрированы относительно аскорбат-пероксидазы [102, 123]. Доказана также возможность индукции экспрессии генов каталазы и глутатион-S-трансферазы растений арабидопсиса действием H_2O_2 [125]. В экспериментах последних лет удалось показать, что эффекты пероксида во-

дорода на экспрессию гена каталазы реализуются с участием кальция. Обработка пероксидом водорода вызывает открытие кальциевых каналов растительных клеток, которое необходимо для трансдукции сигнала окислительного стресса и последующей активации экспрессии гена каталазы [91]. В то же время следует заметить, что, несмотря на имеющиеся сведения относительно влияния экзогенного H_2O_2 на активность антиоксидантных ферментов растений и других организмов, общая картина остается неоднозначной. В ряде работ показана не активация, а ингибирование антиоксидантных ферментов или отсутствие изменения их активности при действии пероксида водорода.

Так, на примере проростков пшеницы показано, что H_2O_2 ингибировала активность каталазы в корнях [59]. Однако в листьях взрослых растений пшеницы при обработке пероксидом водорода происходило повышение активности каталазы [141].

Довольно противоречивые данные получены относительно действия экзогенного пероксида водорода на активность СОД. Показано ингибирование активности этого фермента в корнях пшеницы при обработке H_2O_2 [59]. Восемичасовая обработка срезанных листьев *Arabidopsis thaliana* 10 мМ H_2O_2 , которая вызывала незначительные проявления эффектов окислительного повреждения, не изменяла активности СОД [136]. Получены данные об индукции пероксидом водорода синтеза СОД у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, хотя этот эффект был характерным не для всех исследуемых штаммов [5]. Примечательно, что у штаммов, устойчивых к действию H_2O_2 , имело место синхронное повышение активности как СОД, так и каталазы. Авторы допускают, что эти ферменты могут взаимно предупреждать инактивацию друг друга, вызванную окислительным стрессом [5]. Различия в изменениях активности СОД в ответ на действие H_2O_2 у разных объектов могут быть связаны с неодинаковой устойчивостью к пероксиду разных молекулярных форм СОД [56].

На примере отрезков колеоптилей пшеницы нами показано, что экзогенный пероксид водорода в концентрациях 1 или 10 мМ вызывал одновременное повышение активности СОД и каталазы [27]. Можно допустить, что увеличение внутриклеточного содержания пероксидов, которое происходило под действием экзогенного H_2O_2 , служило сигналом для активации экспрессии генов антиоксидантных ферментов. На той же растительной модели пока-

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

зано, что экзогенный пероксид водорода, наряду с повышением активности СОД и каталазы, вызывал снижение активности гваяколпероксидазы [24], которая может быть продуцентом АФК [36, 146]. Важно, что в наших экспериментах сразу после обработки колеоптилей пероксидом водорода снижалась генерация ими супероксидного радикала [24]. Такие эффекты, очевидно, можно рассматривать как защитную реакцию, направленную на предотвращение развития неуправляемого окислительного стресса.

Одним из индукторов окислительного стресса растений может быть экзогенная салициловая кислота, способная ингибировать каталазу и вызывать накопление пероксида водорода. Подобные эффекты были детально изучены на примере растений табака [69, 97]. Однако в экспериментах с растениями кукурузы показано, что, ингибируя каталазу в условиях *in vitro*, салициловая кислота индуцирует экспрессию генов каталазы и повышает активность фермента *in vivo* [86]. Правда, неясно, как именно салицилат вызывает экспрессию генов каталазы, действуя непосредственно как сигнальная молекула или путем усиления накопления пероксида водорода. Показано, что салициловая кислота может влиять на накопление АФК и путем модуляции (чаще повышения) активности фенолпероксидаз (потенциальных продуцентов АФК) [110] и СОД [136]. Активация последней может приводить к накоплению относительно стабильной формы АФК – H_2O_2 и развитию окислительного стресса. Именно такое явление зарегистрировано нами при обработке колеоптилей пшеницы экзогенной салициловой кислотой. Она вызывала заметное повышение содержания пероксидов в тканях [28]. Данный эффект наблюдался на фоне сравнительно небольшого снижения активности каталазы и одновременного роста активности гваяколпероксидазы и, особенно, СОД [23, 28]. Эти ферменты при пониженной активности каталазы могут вызывать прооксидантные эффекты – усиление генерации $O_2^{\cdot -}$ и накопление H_2O_2 .

Механизмы антиоксидантной защиты, которые могут быть активированы непосредственным действием на растительные объекты АФК или стрессоров, увеличивающих их содержание, очевидно, не ограничиваются лишь повышением активности антиоксидантных ферментов и содержания низкомолекулярных антиоксидантов. Так, возможна модификация активности прооксидантного фермента пероксидазы. При избыточном содержании H_2O_2 в

апопласте возможно переключение пероксидазной активности на каталазную. В таких условиях пероксид водорода используется как окислительный и восстановительный субстрат [116].

Еще одним механизмом антиоксидантной защиты, индуцируемым накапливаемыми в клетках АФК, очевидно, можно считать активацию альтернативного (цианидрезистентного) пути электронов. На примере каллусов табака показано, что пики повышения активности альтернативной оксидазы либо совпадали с максимумами генерации пероксида водорода и супероксидного радикала, либо наблюдались сразу после них [52].

В целом, на основании имеющихся в литературе данных, можно считать доказанной возможность повышения активности и/или синтеза антиоксидантных ферментов под действием АФК или вследствие активации ПОЛ. При этом отсутствие позитивных эффектов высоких доз экзогенных прооксидантов, вероятно, может объясняться их прямым повреждающим действием на антиоксидантные системы. Чрезвычайно важным является сохранение баланса между отдельными антиоксидантными ферментами, особенно между СОД и ферментами, которые детоксицируют H_2O_2 [119]. Так, показано, что клетки, трансформируемые для продуцирования СОД в количестве больше нормы, могут эффективнее реагировать на атаки внешних АФК, но при этом неустойчивы ко многим стрессовым факторам [45].

АФК и накопление низкомолекулярных протекторов. Наряду с повышением активности антиоксидантных ферментов и усилением синтеза низкомолекулярных антиоксидантов типа глутатиона, АФК, вероятно, могут быть индукторами накопления в растительных клетках полифункциональных низкомолекулярных протекторов. К этой группе веществ относятся, в частности, пролин, полиамины и растворимые углеводы. Этим соединениям принадлежит важная роль в адаптации растений к водному дефициту, низким и высоким температурам, действию тяжелых металлов и другим факторам [32, 46, 156].

В настоящее время не вызывает сомнений, что свободный пролин при стрессовых условиях играет полифункциональную биологическую роль, которая проявляется не только в осморегуляторной и протекторной функциях, но и в антиоксидантной, энергетической, и других, обеспечивающих поддержание клеточного

гомеостаза и его переход в новое адаптивное состояние [33].

Экзогенный пролин уменьшал содержание МДА в культуре клеток табака в условиях солевого стресса [126]. Антиоксидантное действие пролина, вероятно, связано с его способностью защищать белки и белково-липидные комплексы мембран за счет инактивации гидроксильных радикалов и других АФК [142]. Насколько вероятен механизм прямой инактивации свободных радикалов пролином в интактных растениях пока не ясно. Не исключено, что защитные эффекты пролина могут быть связаны не столько с его прямым антиоксидантным действием, сколько со способностью уменьшать осмотические и токсические эффекты стрессоров [33]. Защитное действие пролина в значительной степени объясняется его способностью взаимодействовать с макромолекулами и способствовать сохранению их пространственной структуры и биологической активности благодаря стабилизации интактной гидратной сферы белков [33].

В то же время в литературе имеются сведения об индукции накопления пролина в растениях агентами, вызывающими окислительный стресс [130]. Нами показано, что обработка колеоптилей пшеницы экзогенным пероксидом водорода сама по себе приводила к повышению содержания пролина в них и усиливала накопление этой аминокислоты в тканях при действии солевого стресса [22]. Сходные эффекты накопления пролина вызывала и экзогенная салициловая кислота, которая, как уже отмечалось, приводила к повышению содержания пероксидов в тканях. В других работах показано повышение содержания пролина в интактных проростках пшеницы и их солеустойчивости под действием обработок салициловой кислотой [29, 140]. Важно, что оба эффекта салициловой кислоты – повышения содержания пролина и солеустойчивости растений – подавлялись антиоксидантом ионолом [29]. Этот же антиоксидант подавлял и повышение теплоустойчивости проростков пшеницы под действием салицилата [26]. Такие факты можно оценивать как прямое свидетельство причастности АФК к запуску защитных реакций, которые повышают устойчивость растений к абиотическим стрессорам. В этой связи представляют интерес данные, полученные на примере проростков горчицы при нагревании. Тепловое закаливание вызывало накопление в них салициловой кислоты и пероксида водорода – то есть проявля-

ния окислительного стресса, после чего развивалась терморезистентность [71].

Параллельные изменения содержания пролина и показателей про-/антиоксидантного равновесия зарегистрированы многими авторами при действии стрессоров разной природы. Так, водный стресс приводил к увеличению содержания МДА и пролина в *Populus euphratica* [151]. Одновременно происходило повышение активности СОД и пероксидазы. На растениях хлопчатника в условиях солевого стресса зарегистрировано повышение содержания пролина на фоне подъема концентрации H_2O_2 и МДА в тканях [66]. При одновременном влиянии высоких температур и низкой влажности воздуха на растения *Nicotinum tabacum* зарегистрировано повышение содержания в них H_2O_2 , МДА и пролина [92].

Некоторые авторы отмечают положительное влияние на теплоустойчивость растений экзогенного пролина и связывают его не столько с прямым антиоксидантным действием, сколько со способностью вызывать повышение активности антиоксидантных ферментов – разных форм пероксидазы, СОД и каталазы [135]. Такие эффекты зарегистрированы на калусах и проростках *Brassica campestris* [106].

Наряду с пролином и другими свободными аминокислотами, еще одну группу веществ со свойствами универсальных протекторов и мультифункциональных регуляторов физиологических процессов у растений составляют полиамины [32]. Полиамины присутствуют во всех компартментах растительной клетки, в т.ч. в ядре [64]. Среди их функций очевидно значительное место занимает участие в регуляции про-/антиоксидантного статуса клеток. Например, спермин и спермидин считают эффективными антиоксидантными ловушками свободных радикалов [87]. Участие полиаминов в «тушении» АФК очевидно связано с легким кислородзависимым авто- и ферментативным окислением аминокислот полиаминов и способности последних к стрессиндуцированному накоплению.

Как вероятные сигнальные соединения полиамины могут вызывать индукцию ферментов антиоксидантной защиты. В листьях шпината экзогенный путресцин повышал активность пероксидаз, каталазы и содержание пролина в условиях солевого стресса [129]. Экспозиция корневой системы растений *Mesembryanthemum crystallinum* в присутствии экзогенного кадаверина индуцировала синтез

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

мРНК гена корневой изоформы Cu/Zn-СОД [4]. При этом эффекты полиаминов могут зависеть от их концентрации. Так, показано, что экзогенные полиамины (кадаверин и спермин) в концентрации меньше 1 мМ ведут себя как антиоксиданты, при введении же их в растения *Mesembryanthemum crystallinum* в больших концентрациях они проявляют прооксидантные свойства, вызывая обратные реакции образования супероксида из H_2O_2 . Таким образом, в исследованиях Вл.В.Кузнецова и соавт. [4, 32] показана «двойственная» роль полиаминов в процессах окислительного стресса, индуцируемого в растительных клетках абиотическими факторами. С одной стороны, полиамины могут гасить радикальные формы активного кислорода, способствовать активации экспрессии генов антиоксидантных ферментов, с другой (в повышенных концентрациях) - проявлять прооксидантный эффект. Не исключено, что в передаче сигналов полиаминов одним из посредников является H_2O_2 , усиление образования которого может быть связано с активацией СОД под действием полиаминов (см. выше).

Достаточно детально взаимосвязи между полиаминами и АФК исследованы на примере микроорганизмов, в частности, *Escherichia coli* [50]. Показано, что в ответ на окислительный стресс, вызванный добавлением к культуре в фазе экспоненциального роста пероксида водорода, происходило увеличение активности ферментов синтеза полиаминов и содержания продуктов соответствующих реакций в клетках. В свою очередь, экзогенные путресцин и спермидин, добавленные в среду культивирования в физиологических концентрациях, значительно усиливали экспрессию генов защиты от окислительного стресса *oxyR* и *katG*. Эти гены кодируют ферменты защиты от супероксидного радикала и пероксида водорода. Роль полиаминов как модуляторов генной экспрессии подтверждена экспериментами с использованием ингибитора синтеза полиаминов 1,3-диаминопропана, который, снижая уровень клеточных полиаминов, приводил к неспособности клеток индуцировать экспрессию *oxyR* в условиях окислительного стресса. Сходные результаты были получены и с помощью генетического метода: мутанты с нарушением синтеза полиаминов показали значительное снижение уровня индукции генов *oxyR* и *katG* при окислительном стрессе. При этом индукция таких генов возобновлялась в ответ на добавление в среду путресцина [50].

К полифункциональным низкомолекулярным соединениям относятся также растворимые углеводы, которые могут проявлять антиоксидантные, антиденатурационные, мембранопротекторные и регуляторные эффекты.

Антиоксидантное действие сахаров связано с их способностью связывать свободные радикалы [1]. Так, установлено, что маннит, глюкоза, фруктоза и сахароза резко ослабляют токсичность диффузата листьев и модельной генерирующей системы против патогенных грибов [2]. Существует много примеров прямой корреляции между содержанием сахаров в растительных тканях и их восприимчивостью к грибным заболеваниям. Вероятно, в данном случае сахара играют роль не только питательных субстратов для патогена, но и ингибиторов свободнорадикальных реакций, которые принимают участие в фитоиммунитете [1]. Примечательно, что раневой стресс, эффекты которого имеют много общего с действием патогенов, вызывает накопление сахаров у растений в результате гидролиза полимерных форм углеводов [112].

В то же время можно допустить, что при действии абиотических стрессоров растворимые углеводы как перехватчики свободных радикалов могут защищать макромолекулы и структуры клеток от окислительных повреждений. Сведений об индукции накопления этой группы протекторных соединений агентами окислительного стресса в литературе пока что мало. Есть сообщение об усилении накопления сахаров в культуре тканей *Zizyphus jujube* под действием экзогенной салициловой кислоты [78]. Аналогичные результаты получены нами на примере интактных проростков пшеницы. Примечательно, что накопление сахаров в корнях и побегах проростков, вызываемое салицилатом, ингибировалось антиоксидантом ионолом [29]. Таким образом, можно допускать, что этот эффект салициловой кислоты, как и эффект индуцирования накопления ею пролина, реализуется при посредничестве АФК.

АФК и синтез стрессовых белков. В ряде работ продемонстрирована роль H_2O_2 в индуцировании синтеза стрессовых белков. Так, на примере бактерий *Escherichia coli* показано, что обработка их H_2O_2 в малых концентрациях вызывает синтез многих десятков белков [12]. По крайней мере часть их может находиться под контролем гена *oxyR* [147]. На растительных объектах показана возможность усиления экспрессии генов PR-белков при увеличении содержания H_2O_2 [68]. В суспензионной культуре

Возможные функции АФК и продуктов ПОЛ в растениях при действии стрессоров

Эффекты	Соединения	Источники
Прямое антимикробное действие	АФК	[40, 49]
Ионофорное влияние на биомембраны	Гидроксипроизводные жирных кислот	[37]
Модификация состояния ионных каналов, в т.ч. кальциевых	H ₂ O ₂ , продукты ПОЛ	[31, 76]
Регуляция состояния редокс-чувствительных белков	АФК	[17, 49, 117]
Регуляция активности мембранно-связанных ферментов	АФК, продукты ПОЛ	[3, 11]
Индукция антиоксидантных ферментов	АФК, продукты ПОЛ	[5, 12, 144]
Активация MAP-киназы	H ₂ O ₂	[49, 101, 131]
Индукция синтеза стрессовых белков (БХШ, БТШ, PR-белки)	H ₂ O ₂ , оксипирины	[9, 60, 68, 117]
Усиление фосфорилирования белков	H ₂ O ₂ , оксипирины	[19, 144]
Активация цианидрезистентного пути электронов	H ₂ O ₂ , O ₂ ⁻	[52]
Усиление накопления пролина	H ₂ O ₂	[22, 130]
Усиление синтеза полиаминов	H ₂ O ₂	[4]

клеток томата пероксид водорода вызывал появление малых БТШ, в т.ч. митохондриального БТШ 22 [60]. Предполагают, что эти белки защищают митохондрии от окислительного повреждения. Так, например, показано, что один из малых БТШ митохондрий защищает НАДН-убихинон оксидоредуктазу электрон-транспортной цепи в условиях повреждающего нагрева [75]. Синтез низкомолекулярных БТШ в ответ на действие агентов окислительного стресса выявлен также у риса, арабидопсиса и других растений [30, 103]. Обработка листьев озимой пшеницы H₂O₂ или ингибитором каталазы приводила к синтезу белков холодового шока [111]. Показано, что экзогенный пероксид водорода вызывал повышение холодо- и теплоустойчивости растений арабидопсиса, что сопровождалось изменениями белкового спектра [62]. При этом H₂O₂ вызывал синтез ряда БТШ с различной молекулярной массой [62]. В целом на разных объектах установлено, что АФК, и в первую очередь H₂O₂, индуцируют синтез по меньшей мере сотни белков, среди которых антиоксидантные ферменты и другие стрессовые белки [144].

Таким образом, АФК могут быть сигналами, которые индуцируют синтез стрессовых

белков. При этом синтез БТШ в растениях вызывают не только сами АФК, но и индукторы их образования, в частности, салициловая кислота, которая является агентом окислительного стресса. На примере листьев табака показано, что обработка экзогенной салициловой кислотой изменяет спектр синтезированных белков, вызывая, в частности, появление БТШ 90 [9], имеющих шаперонную активность. Правда, в отмеченных случаях нет прямых доказательств, что АФК были посредниками в реализации эффектов салициловой кислоты.

Хорошо известны также феномены индуцирования салицилатом синтеза PR-белков в растениях [89, 138]. На примере пшеницы выявлена активация экспрессии под действием салициловой кислоты генов-маркеров системной приобретенной устойчивости, кодирующих липоксигеназу и цистеин-протеазу [83]. Активность PR-белка EL13 (дегидрогеназа манитола) у растений арабидопсиса и петрушки возрастала при экзогенной обработке салицилатом [155]. Важно, что экспрессия PR-генов, активированная салициловой кислотой, подавлялась антиоксидантами [154]. Это свидетельствует, что такие эффекты салициловой кислоты реализуются с участием АФК. Вероятно, АФК яв-

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

ляются посредниками в индукции синтеза стрессовых белков, в частности, ингибиторов протеаз, разными эффекторами – системин, хитозаном, метилжасмонатом. Так, вызванное ими повышение активности ингибитора протеаз у растений томата практически полностью снималось дифенилиодониумом – ингибитором НАДФН-оксидазы, являющейся генератором радикала супероксида [128]. О связи образования PR-белков с окислительным стрессом свидетельствует и возможность индуцирования синтеза защитных белков УФ-В облучением, которое вызывает окислительный стресс. Так, показано, что индуцируемое УФ-В облучением накопление PR-белков в листьях табака ингибировалось антиоксидантами. Это свидетельствует о необходимости АФК для передачи соответствующего сигнала [85].

Заключение

Общеизвестно, что окислительный стресс может выступать не только в роли индуктора защитных реакций, но и фактора повреждения биомолекул и мембранных структур. Именно повреждениям, вызываемым окислительным стрессом, уделялось основное внимание физиологов и биохимиков растений и животных на протяжении нескольких десятилетий. Лишь в конце XX-го века начались интенсивные исследования возможной физиологической роли накопления АФК в клетках и было признано, что АФК «вызывают не только плохие изменения» [13]. Совсем недавно, в 2006 году, появился обзор Сузуки и Миттлера с названием, которое ярко актуализирует современную проблематику АФК: «Активные формы кислорода и температурный стресс: delicate баланс между сигнализацией и уничтожением» [149]. Как свидетельствует приведенный выше материал, в последние годы появляются доказательства участия АФК в запуске в растениях конкретных защитных реакций (таблица). К таким реакциям относится не только активация антиоксидантной системы, что является вполне закономерным, но и повышение содержания в растениях полифункциональных низкомолекулярных протекторов (пролин, полиамины, сахара), синтез достаточно широкого спектра стрессовых белков. Важным эффектом накопления АФК, очевидно, является изменение кальциевого статуса клеток (кратковременное или более длительное повышение концентрации ионов цитозольного кальция). При этом между АФК и кальцием могут быть реципрокные отношения: АФК способны повышать содержание цитозольного кальция, а последний

активировать ферменты, причастные к генерации АФК. В то же время возможна и активация антиоксидантных ферментов при участии кальция. Кальций и АФК являются важными интермедиатами сигнальных систем растительной клетки. Есть основания считать, что при их участии происходит перепрограммирование генома, благодаря которому формируется устойчивость организмов к действию разнообразных стрессоров, в т.ч. абиотических. В то же время для обоснования такой гипотезы необходимо более детальное выяснение конкретных биохимических эффектов, причастных к развитию устойчивости и реализующихся с участием АФК.

В связи с тем, что разные уровни окислительного стресса могут вызывать качественно различные физиологические эффекты (от активации антиоксидантных защитных систем до индукции программируемой (апоптоз) или непрограммируемой (некроз) гибели) [81], чрезвычайно важным вопросом является выяснение механизмов дифференциации подобных эффектов. На растительных объектах исследование этой проблемы лишь начинается [149].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Аверьянов А.А.* Активные формы кислорода и иммунитет растений // *Успехи соврем. биологии.* – 1991. – Т. 111, вып. 5. – С. 722-737.
2. *Аверьянов А.А., Лапикова В.П.* Взаимодействие сахаров с гидроксильным радикалом в связи с фунгитоксичностью выделений листьев // *Биохимия.* – 1989. – Т. 54, № 10. – С. 1646-1651.
3. *Андреев А.Ю., Кушнарёва Ю.Е., Старков А.А.* Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях // Там же. – 2005. – Т. 70, вып. 2. С. 246-264.
4. *Аронова Е.Е., Шевякова Н.И., Стаценко Л.А., Кузнецов Вл.В.* Индукция кадаверином экспрессии гена супероксиддисмутазы у растений *Mesembryanthemum crystallinum* L. // Докл. АН [Россия]. – 2005. – Т. 403, № 1. – С. 131-134.
5. *Байляк М.М., Семчишин Г.М., Луцак В.И.* Влияние перекиси водорода на активность антиоксидантных ферментов *Saccharomyces cerevisiae* зависит от особенностей штаммов // *Биохимия.* – 2006. – Т. 71, вып. 9. – С. 1243-1252.
6. *Барабой В.А., Сутковой Д.А.* Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. - Киев: Наук. думка, 1997. - 420 с.
7. *Бияшева А.Э., Молотковский Ю.Г., Мамонов Л.К.* Повышение уровня свободного Ca²⁺ в

- цитозоле растительных протопластов в ответ на тепловой стресс: связь с Ca^{2+} -гомеостазом // Физиология растений. – 1993. – Т. 40. – № 4. – С. 613-618.
8. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран при природные антиоксиданты // Успехи химии. – 1985. – Т. 54, вып. 9. – С. 1540-1558.
 9. Бурханова Э.А., Федина А.Б., Кулаева О.Н. Сравнительное изучение влияния салициловой кислоты и (2',5')-олигоаденилатов на синтез белка в листьях табака при тепловом стрессе // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, №1. – С. 16 - 22.
 10. Валявская М.Б. Влияние аноксии на липидный состав мембран растений при действии ионов кальция: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – СПб, 2002. – 17 с.
 11. Веселов А.П., Курганова Л.Н., Лихачева А.В., Сушкова У.А. Возможное регуляторное влияние перекисного окисления липидов на активность H^+ -АТФазы плазмалеммы в условиях стресса // Физиология растений. – 2002. – Т. 49, № 3. – С. 385-389.
 12. Гамалей И.А., Клюбин И.В. Перекись водорода как сигнальная молекула // Цитология. – 1996. – Т. 38, № 12. – С. 1233-1247.
 13. Гольдштейн Н. Активные формы кислорода как жизненно необходимые компоненты воздушной среды // Биохимия. – 2002. – Т. 67, вып. 2. – С. 194-204.
 14. Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Перекисное окисление липидов и функционирование некоторых антиокислительных ферментных систем у кукурузы и овса при остром поражении фтористым водородом // Укр. біохім. журн. – 1999. – Т. 71, № 3. – С. 51-57.
 15. Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Глутатион: синтез, деградация и физиологическая роль у растений // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2006. – Вип. 1 (8). – С.21-33.
 16. Деви С.Р., Прасад М.Н.В. Антиокислительная активность растений *Brassica juncea*, подвергнутых действию высоких концентраций меди // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 2. – С. 233-237.
 17. Дмитрієв О.П., Кравчук Ж.М. Активні форми кисню та імунітет рослин // Цитология и генетика. – 2005. – Т. 39. – № 4. – С. 64-75.
 18. Иванова А.Б., Анцыгина Л.Л., Ярин А.Ю. Влияние метилжасмоната на рост и белковые спектры этиолированных проростков гороха (*Pisum sativum* L.) // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2006. – Вип. 2 (9). – С. 14-20.
 19. Каримова Ф.Г. Тарчевский И.А., Мусалимова Н.У., Гречкин А.Н. Влияние продукта липоксигеназного метаболизма 12-гироксидодецеиновой кислоты на фосфорилирование белков растений // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 1. – С. 148-152.
 20. Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи соврем. биологии. – 1993. – Т. 113. – С. 456-470.
 21. Колесниченко А.В., Войников В.К. Белки низкотемпературного стресса растений. – Иркутск, 2003. – 197 с.
 22. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Акинина Г.Е. Влияние салициловой кислоты и перекиси водорода на содержание пролина в колеоптилях пшеницы при тепловом и солевом стрессах // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2005. – Вип. 1(6). С. 51-56.
 23. Колупаев Ю.Е., Акініна Г.С. Вплив саліцилової кислоти на теплостійкість колеоптилів пшениці у зв'язку зі змінами окислювального метаболізму // Физиология и биохимия культ. растений. – 2005. – Т. 37, № 6. – С.524-529.
 24. Колупаев Ю.Е., Карпець Ю.В. Сумісний вплив іонів Ca^{2+} та перексиду водню на окислювальний метаболізм і теплостійкість колеоптилів пшениці // Там само. – 2007. – Т. 39, № 1. – С. 66-72.
 25. Колупаев Ю.Е. Кальций и стрессовые реакции растений // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2007. – Вип. 1 (10). – С. 24-41.
 26. Колупаев Ю.Е., Карпець Ю.В. Активні форми кисню як посередники в індукуванні теплостійкості проростків пшениці саліциловою кислотою // Там само. – 2007. – Т. 39, № 3. – С. 242-248.
 27. Колупаев Ю.Е., Карпець Ю.В. Активність супероксиддисмутази і каталази у колеоптилях пшениці за дії перексиду водню і нагрівання // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, № 4. – С. 319-325.
 28. Колупаев Ю.Е. Можлива роль супероксиддисмутази у саліцилатіндукованому нагромадженні пероксидів у колеоптилях *Triticum aestivum* L. // Укр. ботан. журн. – 2007. – Т. 64, № 2. – С. 270-278.
 29. Колупаев Ю.Е., Карпець Ю.В., Мусатенко Л.І. Участь активних форм кисню в індукуванні солестійкості проростків пшениці саліциловою кислотою // Доп. НАН України. – 2007. – № 6. – С. 154-158.

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

30. Косаківська І.В., Голов'янюк І.В. Роль білків теплового шоку в адаптації рослин до стресів // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, № 3. – С. 187-199.
31. Крутецкая З.И., Лебедев О.Е. Структурно-функциональная организация сигнальных систем в клетках // Цитология. – 2000. – Т. 42, № 9. – С. 844-874.
32. Кузнецов Вл.В., Радюкина Н.Л., Шевякова Н.И. Полиамины при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 5. – С. 658-683.
33. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Там же. - 1999. – Т. 46, № 2. – С. 321-336.
34. Курганова Л.Н., Веселов А.П., Синицына Ю.В., Еликова Е.А. Продукты перекисного окисления липидов как возможные посредники между воздействием повышенной температуры и развитием стресс-реакции у растений // Там же. - 1999. – Т. 46, № 2. – С. 218-222.
35. Ладыженская Э.П., Проценко М.А. Биохимические механизмы передачи внешних сигналов через плазмалемму растительной клетки при регуляции покоя и устойчивости // Биохимия. – 2002. – Т. 67, вып. 2. – С. 181-193.
36. Лебедева О.В., Узарова Н.Н. Стационарная кинетика реакции окисления NADH пероксидом водорода в присутствии пероксидазы хрена // Там же. - 1997. – Т. 62, № 2 - С. 249-253.
37. Левицкий Д.О. Кальций и биологические мембраны. – М.: Высш. шк., 1990. – 124 с.
38. Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. – Саранск: Изд-во Мордовского ун-та, 2002. – 208 с.
39. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент // Биохимия. – 2006. – Т. 71, вып. 9. – С. 1183-1197.
40. Максимов И.В., Черепанова Е.А. Про-/антиоксидантная система и устойчивость растений к патогенам // Успехи соврем. биологии. – 2006. - Т. 126, № 3. – С. 250-261.
41. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Там же. – 1993. – Т. 113, вып. 4. – С. 442-455.
42. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер. Физиология растений. - М., 1989. - Т. 6. - 168 с.
43. Пескин А.В. Взаимодействие активного кислорода с ДНК // Биохимия. – 1997. – Т. 62, вып. 12. – С. 1571-1578.
44. Самуилов В.Д., Киселевский Д.Б., Синицын С.В. и др. H₂O₂ усиливает CN⁻-индуцированный апоптоз в листьях гороха // Там же. – 2006. – Т. 71, вып. 4. - С. 481-492.
45. Семчишин Г.М., Луцак В.И. Оксидативный стресс і регуляція активності каталаз у *Escherichia coli* // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 2. – С. 31-42.
46. Таланова В.В., Титов А.Ф., Боева Н.П. Влияние ионов кадмия и свинца на рост и содержание пролина и АБК в проростках огурца // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 1. – С. 164-167.
47. Таран Н. Ю., Оканенко О. А., Бацманова Л. М., Мусієнко М. М. Вторинний оксидний стрес як елемент загальної адаптивної відповіді рослин на дію несприятливих факторів довкілля // Физиология и биохимия культ. растений. – 2004. – Т. 36, №1. – С. 3–14.
48. Тарчевский И.А. Стресс и катаболизм у растений: 52-е Тимиряз. чт. – М.: Наука, 1993. – 80 с.
49. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
50. Ткаченко А.Г., Нестерова Л.Ю. Полиамины как модуляторы экспрессии генов окислительного стресса у *Escherichia coli* // Биохимия. – 2003. – Т. 68, вып. 8. – С. 1040-1048.
51. Феофилова Е.П., Бурлакова Е.Б., Кузнецова Л.С. Значение реакций свободнорадикального окисления в регуляции роста и липидообразования эукариотных и прокариотных организмов // Прикл. биохимия и микробиология. – 1987. – Т. 23, вып. 1. – С. 3-13.
52. Чжоу Г., Кун И., Би Ю., Лян Х. Возможное участие активных видов кислорода в индукции цианидрезистентного пути на начальной стадии старения каллуса табака // Физиология растений. – 2001. - Т. 48, № 5. – С. 684-691.
53. Шоринг Б.Ю., Смирнова Е.Г., Ягужинский Л.С., Ванюшин Б.Ф. Необходимость образования супероксида для развития этиолированных проростков пшеницы // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 12. – С. 1612-1618.
54. Agarwal S., Pandey V. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia* // Biol. Plant. – 2004. – V. 48, N 4. – P. 555-560.
55. Allen R.G. Oxygen-reactive species and antioxidant responses during development: the metabolic paradox of cellular differentiation // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1991. – V. 196. – P. 117-129.
56. Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative

- stress plants // *J. Exp. Bot.* – 2002. – V. 53, N 372. – P. 1331-1341.
57. *Apstol I., Heinstejn P.F., Low P.S.* Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells: role in defense and signal transduction // *Plant Physiol.* – 1989. – V. 90. – P. 109-116.
 58. *Arrigo A.P.* Gene expression and the thiol redox state // *Free Rad. Biol. Med.* – 1999. – V. 27. – P. 936-944.
 59. *Bakalova S., Nedeva D., Nikolova A.* Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA // *Bulg. J. Plant Physiol.* – 2003. – Spec. Issue. – P. 386.
 60. *Banzet N., Richaud C., Deveaux Y. et al.* Accumulation of small heat shock proteins, including mitochondrial HSP22, induced by oxidative stress and adaptive response in tomato cell // *Plant J.* – 1998. – V. 13. – P. 519-527.
 61. *Becana M., Moran J.F., Iturbe-Ormaetxe I.* Iron-dependent oxygen-free radical generation in plants subjected to environmental stress. Toxicity and antioxidant protection // *Plant Soil.* – 1998. – V. 201, N 1. – P. 137-147.
 62. *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.
 63. *Bolwell G.P., Blee K.A., Butt V.S. et al.* Recent advances in understanding the origin of the apoplastic oxidative burst in plant cells // *Free Radical Res.* – 1999. – V. 31. – P. 137-145.
 64. *Bouchereau A., Aziz A., Larher F., Martin-Tanguy J.* Polyamines and environmental challenges: recent development // *Plant Sci.* – 1999. – V. 140. – P. 103-125.
 65. *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.
 66. *Brankova L., Ivanov S., Alexieva V., Karanov E.* Salt-induced alteration in the levels of some oxidative parameters and unspecific defence compounds in leaves of two plants species (cotton and bean) with different sensitivity to salinity // *Докл. Българ. АН.* – 2005. – V. 58, N 11. – P. 1307-1312.
 67. *Breusegem F.V., Dat J.F.* Reactive oxygen species in plant cell death // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 384-390.
 68. *Chamngpol S., Willekens H., Moeder W et al.* Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H₂O₂ in transgenic plants // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – V. 95. – P. 5818-5823.
 69. *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.
 70. *Corpas F.J., Barroso J.B., del Rio L.A.* Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells // *Trends Plant Sci.* – 2001. – V. 8, N 4. – P. 145-150.
 71. *Dat J.F., Delgado H.L., Foyer C.H., Scolt I.M.* Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 116. – P. 1351-1357.
 72. *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.
 73. *Davletova S., Rizhsky L., Liang H. et al.* Cytosolic ascorbate peroxidase 1 is a central component of reactive oxygen gene network of Arabidopsis // *Plant Cell.* – 2005. – V. 17. – P. 268-281.
 74. *Doke N.* The oxidative burst in signal transduction and plant stress // *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses / Scandalios J.G (ed).* – NY., 1997. – P. 785-813.
 75. *Downs C.A., Heckathorn S.A.* The mitochondrial small heat-shock protein protect NADH:ubiquinone oxidoreductase of the electron transport chain during heat stress in plant // *FEBS Lett.* – 1998. – V. 430, N 3. – P. 246-250.
 76. *Droge D.* Free radical in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* – 2002. – V. 82. – P. 47-95.
 77. *Elstner E.F., Osswald W.* Mechanism of oxygen activation during plant stress // *Oxygen and Environmental Stress in Plants / Proc. of the Royal Society of Edinburgh. Section B.* – 1994. – V. 102. – P. 131-154.
 78. *Feng X., Cao J., Chen Z.* Influence of salicylic acid on some physiological and biochemical indexes of the plantlets obtained from tissue culture *Zizyphus jujuba* // *Acta Bot. Boreali-occident. Sin.* – 2003. – V. 23. – P. 1625-1627.
 79. *Feussner I., Wastonack C.* The lipoxygenase pathway // *Annual. Rew. Plant. Biol.* – Palo Alto (Calif.). – 2002. – V. 53. – P. 275-297.
 80. *Finkel T., Holbrook N.J.* Oxidants, oxidative stress and the biology of aging // *Nature.* – 2000. – V. 408. – P. 239-247.
 81. *Girotti A.W.* Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems // *J. Lipid Res.* – 1998. – V. 39. – P. 1498-1529.
 82. *Gonzalez-Meler M.A., Ribascarbo M., Giles L., Siedow J.N.* The effect of growth and measurement

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

- temperature on the alternative respiratory pathway // *Plant Physiol.* – 1999. – V. 120, N 3. – P. 765-772.
83. *Gorlach J., Volrath S., Knauf-Beiter G et al.* Benzothiadiazol, a novel class of inducer of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat // *Plant Cell.* – 1996. – V. 8. – P. 629-643.
 84. *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.
 85. *Green R., Fluhr R.* UV-B-induced PR-1 accumulation is mediated by active oxygen species // *Plant Cell.* – 1995. – V. 7. – P. 103-212.
 86. *Guan L.M., Scandalios J.G.* Developmentally related responses of maize catalase gene to salicylic acid // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1995. – V. 92. – P. 5930-5954.
 87. *Ha H.L., Sirisoma N.S., Kuppusamy P. et al.* The natural polyamine spermine functions as a free radical scavenger // *Ibid.* – 1998. – V. 95. – P. 11140-11145.
 88. *Hamilton E., Heckathorn S.A.* Mitochondrial adaptation to NaCl. Complex I is protected by antioxidants and small heat shock proteins, whereas complex II is protected by proline and betaine // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 126. – P. 1266-1274.
 89. *Hammond-Kosack K.E., Jones J.D.G.* Resistance gene dependent plant defence responses // *Plant Cell.* – 1996. – V. 8. – P. 1773-1791.
 90. *Heiser I., Elstner E.F.* Biochemical mechanisms of plant defense a central role for reactive oxygen species // *Plant Prot. Sci.* – 2002. – V. 38, Spec Issue 1. – P. 76-86.
 91. *Hung S.-H., Yu C.-W., Lin C.H.* Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants // *Bot. Bull. Acad. Sin.* – 2005. – V. 46. – P. 1-10.
 92. *Ivanov S., Konstantinova T., Parvanova D. et al.* Effect of high temperatures on the growth, free proline content and some antioxidants in tobacco plants // *Докл. БЪЛГ. АН.* – 2001. – Т. 54, № 7. – P. 71-74.
 93. *Jiang M., Zhang Z.* Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings // *Plant Cell Physiol.* – 2001. – V. 42, N 11. – P. 1265-1273.
 94. *Kangasjarvi J., Talvinen J., Utrianen M., Karjalainen R.* Plant defence systems induced by ozone // *Plant Cell. Environ.* – 1994. – V. 17. – P. 783-794.
 95. *Kaur N., Gupta A.K.* Signal transduction pathways under abiotic stresses in plant // *Curr. Sci.* – 2005. – V. 88, N 11. – P. 1771-1780.
 96. *Kavanagh N.I., Ainscow E.K., Brand M.D.* Calcium regulation of oxidative phosphorylation in rat skeletal muscle mitochondria // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – V. 1457. – P. 57-70.
 97. *Kawano T., Sachashi N., Takahashi K. et al.* Salicylic acid induces extracellular superoxide generation followed by an increase in cytosolic calcium ion in tobacco suspension culture: the earliest events in salicylic acid signal transduction // *Plant Cell. Physiol.* – 1998. – V. 39. – P. 721-730.
 98. *Kawano T.* Roles of the reactive oxygen species-generating peroxides reaction in plant defense and growth induction // *Plant Cell. Repts.* – 2003. – V. 21, N 9. – P. 829-837.
 99. *Knight H., Trevas A.J., Knight M.R.* Cold calcium signaling in Arabidopsis involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation // *Plant Cell.* – 1996. – V. 8. – P. 489-503.
 100. *Knowles N.R., Knowles L.O.* Correlation between electrolyte leakage and degree of saturation of polar lipids from aged potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber issue // *Ann. Bot.* – 1989. – V. 63. – P. 331-338.
 101. *Kovtun Y., Chiu W.L., Tena G., Sheen J.* From the cover: functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2000. – V. 97, N 6. – P. 2940-2945.
 102. *Lappartient A.G., Touranine B.* Glutathione-mediated regulation of ATP sulfurylase activity, SO₄²⁻ uptake, and oxidative stress response in intact canola roots // *Plant Physiol.* – 1997. – V. 114. – P. 177-183.
 103. *Lee G.J., Vierling E.* A small heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein // *Ibid.* – 2000. – V. 122. – P. 189-197.
 104. *Levine A., Tenhaken R., Dixon R., Lamb C.* H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response // *Cell.* – 1994. – V. 79, N 4. – P. 583-593.
 105. *Li M., Wang G.-X.* The influence of drought stress on the activity of cell protection enzymes and lipid peroxidation in plantlets of *Glycyrrhiza uralensis* // *Acta Ecol. Sin.* – 2002. – V. 22, N 4. – P. 503-507.
 106. *Liao F., Pan R.* Proline accumulation at heat stress and heat-resistance function of *Brassica campestris*

- tris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* tsen et lee // China Norm. Univ. Natur. Sci. – 2001. – N 2. – P. 45-49.
107. Loggini B., Scartazza A., Brugnoli E. et al. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought // Plant Physiol. – 1999. – V. 119. – P. 1091-1099.
 108. Lopez-Delgado H., Dat J.F., Foyer C.H., Scott I.M. Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H₂O₂ // J. Exp. Bot. - 1998. – V. 49. – P. 713-720.
 109. Mao G.-L., Xu X., Mi H.-L. et al. The relation between the active oxygen formation and plasmamembranes H⁺-ATPase activity in tylosises of *Lycium barbarum* under the salt stress // Agr. Res. Arid Areas. – 2003. – V. 21, N 3. – P. 110-113.
 110. Martinez C., Baccou J.-C., Bresson E. et al. Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum* // Plant Physiol. - 2000. – V. 122, N 3. - P. 757-766.
 111. Matsuda Y., Okuda T., Sagisaka S. Regulation of protein synthesis by hydrogen peroxide in groans of winter wheat // Biosci. Biotech. Biochem. – 1994. – V. 58. – P. 906-909.
 112. Matsushita K., Uritani J. Changes in invertase activity of sweet potato in response to wounding properties of its invertases // Plant Physiol. – 1974. – V. 54, N 1. – P. 60-65.
 113. McCord J.M. Is superoxide dismutase a stress protein? // Stress proteins in inflammation. – London: Richelien Press, 1990. – P. 125-134.
 114. Mehdy C.M. Active oxygen species in plant defense against pathogens // Plant Physiol. – 1994. – V. 105. – P. 467-472.
 115. Meves H. Modulation of ion channels by arachidonic acid // Progr. Neurobiol. – 1994. – V. 43. – P. 175-186.
 116. Mika A., Minibaeva F., Beckett R., Luthjie S. Induced generation and detoxification of active oxygen species // Phytochem. Rev. – 2004. – V. 3, N 1-2. – P. 173-193.
 117. Miller G., Mittler R. Could heat shock transcription factors function as hydrogen peroxide sensors in plants? // Ann. Bot. – 2006. -V. 98 - P. 279-288, 2006
 118. Miteva L., Ivanov S., Alexieva V. Comparative effect of 2,4-D on the glutathione levels, glutathione-S-transferase and glutathione reductase activities in pea (*Pisum sativum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) // Докл. Бълг. АН. – 2003. - V. 56, N 3. – P. 53-58.
 119. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. - 2002. - V. 7, № 9. - P. 405-410.
 120. Moller I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. (Calif). – 2001. – V. 52. – P. 561-591.
 121. Montillet J.L., Cacas J.-L., Montane M.-H. et al. The upstream oxylipin profile of Arabidopsis thaliana: A tool to scan for oxidative stresses // Plant J. – 2004. – V. 40, N 3. – P. 439-450.
 122. Mori I. C., Schroeder J.S. Reactive oxygen species activation of plant Ca²⁺ channels. A signaling mechanism in polar growth, hormone transduction, stress signaling, and hypothetically mechanotransduction // Plant Physiol. – 2004. – V. 135. – P. 702-708.
 123. Morita S., Kaminaka H., Masumura T., Tanaka K. Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress signaling// Plant Cell Physiol. – 1999. – V. 40. – P. 417-422.
 124. Murphu T.M., Huerta A.J. Hydrogen peroxide formation in cultured rose cells in response to UV-C radiation // Physiol. Plant. – 1990. – V. 78. – P. 247-253.
 125. Neill S.J., Burnett E.C. Regulation of gene expression during water deficit stress // Plant Growth Reg. – 1999. – V. 29. – P. 23-33.
 126. Okuma E., Murakami Y., Shimoishi Y. et al. Effects of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured under saline conditions // Soil Sci. and Plant Natur. – 2004. – V. 50, N 8. – P. 1301-1305.
 127. Omran R.G. Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidatse during and after chilling cucumber seedlings // Plant Physiol. – 1980. – V. 65. – P. 407-408.
 128. Orozco-Cardenas M.L., Narvaez-Vasquez J., Ryan C.A. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate // Plant Cell. – 2001. – V. 13. – P. 179-191.
 129. Ozturk L., Demir Y. Effects of putrescine and ethephon on some oxidative stress enzyme activities and proline content in salt stressed spinach leaves // Plant Growth Regul. – 2003. – V. 40, N 1. – P. 89-95.
 130. Panda S.K. Proline accumulation and lipid peroxidation in what seedlings exposed to cadmium toxicity // Proc. Nat. Acad. Sci. India. B.- 2001. - V.71, N 3-4.- P.255-258.

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

131. *Pitzschke P., Hirt H.* Mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species signaling in plants // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 351-356.
132. *Pnueli P., Liang H., Rozenberg M., Mittler R.* Growth suppression, altered stomatal responses, and augmented induction of heat shock proteins in cytosolic ascorbate peroxidase (*Apx1*)-deficient Arabidopsis plants // *Plant J.* – 2003. – V. 34. – P. 187-203.
133. *Prasad T. K., Anderson M.D., Stewart C.R.* Localization and characterization of peroxidases in the mitochondria of chilling-acclimated maize seedlings // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 108. – P. 1597-1605.
134. *Purvis A.C.* Role of the alternative oxidase in limiting superoxide production by plant mitochondria // *Physiol. Plant.* – 1997. – V. 100. – P. 165-170.
135. *Rai V.K.* Role of amino acids in plant responses to stresses // *Biol. Plant.* – 2002. – V. 45, N 4. – P. 481-487.
136. *Rao M.V., Paliyaht G., Ormrod D.P. et al.* Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O₂-metabolizing enzymes // *Plant Physiol.* – 1997. – V. 115. – P. 137-149.
137. *Rentel M.C., Knight M.R.* Oxidative stress-induced calcium signaling in Arabidopsis // *Ibid.* – 2004. – V. 135. – P. 1471-1479.
138. *Ryals J., Uknes S., Ward E.* Systemic acquired resistance // *Ibid.* – 1994. – V. 104. – P. 1109-1112.
139. *Sagi M., Fluhr R.* Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases // *Ibid.* – 2006. – V. 141. – P. 336-340.
140. *Sakhabutdinova A.R., Fatkhutdinova D.R., Bezrukova M.V. Shakirova F.M.* Salicylic acid presents the damaging action of stress factors on wheat plants // *Bulg. J. Plant Physiol.* – 2003. – Spec. Issue. – P. 314-319.
141. *Sairam R.K., Srivastava G.C.* Induction of oxidative stress and antioxidant activity by hydrogen peroxide treatment in tolerant and susceptible wheat genotypes // *Biol. Plant.* – 2000. – V. 43. – P. 381-386.
142. *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.
143. *Scandalios J.G.* The rise of ROS // *Trends Biochem. Sci.* – 2002. – V. 27. – P. 483-486.
144. *Scandalios J.G.* Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering anti-oxidant gene defenses // *Braz. J. Med. and Biol. Res.* – 2005. – V. 38, № 7. – P. 995-1014.
145. *Scheel D.* Resistance response physiology and signal transduction // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 1998. – V. 1. – P. 305-310.
146. *Shannon L.M.* Plant Isoenzymes // *Annu. Rev. Plant Physiol.* – 1986. – V. 5. – P. 187-204.
147. *Storz G., Tartaglia L.A., Ames B.N.* Transcription regulator of oxidative stress-inducible genes; Direct activation by oxidation // *Science.* – 1990. – V. 248. – P. 189-194.
148. *Surplus S.L., Jordan B.R., Murphy A.M.* Ultraviolet-B-induced responses in Arabidopsis thaliana: role of salicylic acid and reactive oxygen species in the regulation of transcripts encoding photosynthetic and acidic pathogenesis-related proteins // *Plant Cell Environ.* – 1998. – V. 21. – P. 685-694.
149. *Suzuki N, Mittler R.* Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction // *Physiol. Plant.* – 2006. – V. 126. – P. 45-51.
150. *Tewari R.K., Kumar P., Sharma P.N.* Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the cooper-stressed mulberry plants // *Planta.* – 2005. – V. 221. – P. 1-9.
151. *Wang Y., Liu J., Guo Y.* The influence of different conditions of humidification on some physiological indexes concerned with the leaves resistance of *Populus euphratica* and *Tamarix* sp. // *J. Xingjiang Agr. Univ.* – 2003. – V. 26, N 3. – P. 47-50.
152. *Wang X.* Lipid signaling // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2004. – V. 7. – P. 329-336.
153. *Weckx J.E.J., Clijsters H.M.M.* Zn phytotoxicity induces oxidative stress in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* // *Plant Physiol. Biochem.* – 1997. – V. 35. – P. 405-410.
154. *Wendehenne D., Durner J., Chen Z., Klessing D.E.* Benzothiadiazole, an inducer of plant defenses, inhibits catalase and ascorbate peroxidase // *Phytochemistry.* – 1998. – V. 47. – P. 651-657.
155. *Williamson J.P., Stoop J.M.H., Massel M.O. et al.* Sequence analysis of a mannitol dehydrogenase cDNA from plants reveals a function for the pathogenesis-related protein ELI3 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1995. – V. 92. – P. 7148-7152.
156. *Yancey P.H.* Compatible and counteracting solutes // *Cellular and molecular physiology of cell volume regulation* / Ed. Strange K. – Boca Ration: CRC Press, 1994. – P. 81-109.
157. *Yordanova R.Y., Popova L.P.* Effects of hypoxia on the antioxidative enzymes in barley seedlings //

КОЛУПАЕВ

- Докл. Българ. АН. – 2002. – V. 55, N 10. – P. 79-84.
158. Zhu J.-K. Plant salt tolerance // Trends Plant Sci. – 2000. – V. 6, N 2. – P. 66-71.
159. Zubini P., Baraldi E. Oxidative stress in chilling injury during cold storage of aubergine // J. Plant Phatol. – 2003. – V. 85, N 4. – P. 300- 307.

Поступила в редакцію
27.09.2007 г.

REACTIVE OXYGEN SPECIES IN PLANTS AT STRESSORS ACTION: FORMATION AND POSSIBLE FUNCTIONS

Yu. Ye. Kolupaev

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

Data on the mechanisms of reactive oxygen species (ROS) formation in plants and the possible reasons of increase of their generation in conditions of stress are resulted. Information about the role of ROS as the signal intermediats involved in start of plants protective reactions at the abiotic and biotic stressors action are generalized. Among reactions which can be induced by the ROS, not only antioxidative system activation, but also low-molecular protectors (proline, polyamines, carbohydrates) accumulation by plants, synthesis of a wide spectrum of stress proteins. The ROS and lipid peroxidation products are involved in regulation of the ion channels condition, including calcium, activity of the membrane-connected enzymes.

Key words: *reactive oxygen species (ROS), superoxide radical, hydrogen peroxide, lipid peroxidation, oxidative stress, calcium, antioxidative systems, low-molecular protectors, stress proteins*

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ В РОСЛИНАХ ЗА ДІЇ СТРЕСОРІВ: УТВОРЕННЯ І МОЖЛИВІ ФУНКЦІЇ

Ю. Є. Колупаєв

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

Наводяться відомості про механізми утворення активних форм кисню (АФК) в рослинах та можливі причини посилення їх генерації за дії стресорів. Узагальнено дані про роль АФК як сигнальних інтермедіатів, причетних до запуску захисних реакцій рослин за стресових умов. Серед реакцій, що можуть індукуватися АФК, не лише активація антиоксидантної системи, а й нагромадження рослинами поліфункціональних низькомолекулярних протекторів (пролін, поліаміни, цукри), синтез широкого спектра стресових білків. АФК і продукти пероксидного окиснення ліпідів причетні до регуляції стану іонних каналів, у т.ч. кальцієвих, активності мембранно-зв'язаних ферментів.

Ключові слова: *активні форми кисню (АФК), супероксидний радикал, пероксид водню, окиснювальний стрес, пероксидне окиснення ліпідів, кальцій, антиоксидантна система, низькомолекулярні протектори, стресові білки*