

УДК 581.1

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ І АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА ПРИ ПЕРЕХРЕСНІЙ АДАПТАЦІЇ РОСЛИН ДО ДІЇ АБІОТИЧНИХ СТРЕСОРІВ

© 2013 р. Ю. Є. Колупаєв, О. І. Обозний

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

В огляді розглянуто питання про участь активних форм кисню (АФК) в процесах прямої і перехресної адаптації рослин до стресових чинників. Наголошується, що одним з важливих генераторів сигнальних АФК може бути НАДФН-оксидаза, яка продукує супероксидний аніон-радикал. При цьому основним сигнальним посередником серед АФК є пероксид водню, який утворюється за рахунок дисмутації супероксидного аніон-радикала під дією супероксиддисмутази (СОД). У зв'язку з цим СОД розглядається не лише як антиоксидантний фермент, а й як компонент сигнальних систем. Сигнали, що формуються з участю АФК, призводять до посилення експресії генів і підвищення активності антиоксидантних ферментів і, ймовірно, активації інших стрес-протекторних систем. Антиоксидантний комплекс, що складається з ферментативних і низькомолекулярних антиоксидантів, належить до стрес-протекторних систем, задіяних у формуванні перехресної стійкості рослин. Проте залежно від природи стресора, внесок окремих компонентів цього комплексу у захист рослинних тканин може різнитися.

Ключові слова: *активні форми кисню, НАДФН-оксидаза, супероксиддисмутаза, клітинна сигналізація, антиоксидантні ферменти, низькомолекулярні антиоксиданти, стрес-протекторні системи, перехресна стійкість*

Термін «крос-толерантність» або «перехресна стійкість» вперше був вжитий Hale у 1969 році і означає формування стійкості організму до одного несприятливого чинника попередньою дією іншого. Незважаючи на багату феноменологію ефектів перехресної стійкості до стресорів рослин та інших організмів (Hale, 1969; Александров, 1975; Кузнецов и др., 1990; Cheeseman, 2007; Таланова, 2009; Zhong-Guang, Ming, 2011), механізми цього явища досі з'ясовані слабо. Існує точка зору, згідно з якою крос-толерантність базується передусім на неспецифічних механізмах стійкості. Зокрема, ймовірно, що індукування перехресної резистентності зумовлене перекриванням шляхів і систем стресової сигналізації (Гарчевский, 2002; Гродзинский, 2013).

Водночас крос-толерантність, принаймні частково, пов'язана з поліфункціональністю за-

хисних систем клітин (Соловьян, 1990). На даний час досить детально досліджений спектр генів, індукованих стресорами різної природи, у ціанобактерій (*Synechocystis*) (Лось, 2010). Зокрема, показано, що гени білків теплового шоку (БТШ) індукуються гіпертермією, підвищеними концентраціями NaCl, дією осмотиків, агентами окиснювального стресу тощо. Є підстави вважати, що БТШ, завдяки важливим стрес-протекторним функціям, можуть бути корисними для організму за дії стресорів різної природи.

До універсальних стрес-протекторних систем, сформованих в процесі тривалої еволюції належить і антиоксидантна система (Blokchina at al., 2003; Shao et al., 2008). Так, на прикладі *Synechocystis* встановлено, що гени супероксиддисмутази (СОД) індукуються гіпертермією, дією солей, осмотиків та екзогенної активної форми кисню (АФК) – пероксиду водню (Лось, 2010). Проте інтерес до з'ясування ролі антиоксидантної системи в крос-адаптації вищих рослин до дії абіотичних стресорів з'явився лише останнім часом (Shao

Адреса для кореспонденції: Колупаєв Юрій Євгенович,
Харківський національний аграрний університет ім. В.В.
Докучаєва, п/в «Комуніст-1», Харків, 62483, Україна;
e-mail: plant_biology@mail.ru

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ І АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА

et al., 2008; Тоайма, 2010). При цьому взаємодія окремих компонентів антиоксидантної системи (ферментативних, спеціалізованих і неспеціалізованих неферментативних антиоксидантів) на різних стадіях перехресної адаптації досі досліджена слабо. Не ясними залишається і питання про утворення і передачу сигналу, що індукуює активацію антиоксидантної системи при формуванні адаптивних реакцій рослин. У даному огляді узагальнено відомості, що свідчать про участь редокс-сигналіngu у формуванні адаптивних реакцій антиоксидантної системи, причетних до розвитку перехресної стійкості рослин до абіотичних стресорів.

Участь активних форм кисню у передачі сигналів, що зумовлюють розвиток стійкості рослин до дії стресорів

За останні десятиліття накопичено чимало експериментальних даних, що прямо або опосередковано свідчать про участь сигнальних молекул або іонів у формуванні адаптивних реакцій рослин на дію стресорів. До них, зокрема, належать іони кальцію, оксид азоту, циклічний АМФ, активні форми кисню (Тарчевский, 2002; Колупаев, Карпец, 2010; Farooq et al., 2010; Креславский и др., 2012). АФК нині розглядаються як «подвійні агенти». Вони або безпосередньо ініціюють інтенсивний окиснювальний стрес, що супроводжується пошкодженнями чи загибеллю клітин і організму, або діють як сигнальні молекули, що індукують фізіолого-біохімічні реакції, які сприяють підвищенню стійкості організму (Vranova et al., 2002; Колупаев, Карпец, 2010; Jaspers, Kangasjarvi, 2010; Креславский и др., 2012). Є підстави вважати, що сигнальні функції можуть виконувати різні АФК, зокрема, синглетний кисень, супероксидний аніон-радикал, пероксид водню (Креславский и др., 2012).

Супероксидний аніон-радикал має час життя, що не перевищує декілька мілісекунд, невеликий радіус дифузії при нейтральних значеннях рН, тому відрізнити $O_2^{\cdot-}$ -сигналізацію від H_2O_2 -сигналізації досить складно (Креславский и др., 2012). Проте показано, що ряд генів, досліджених за допомогою ДНК-мікрочипів, індукуються тільки при появі супероксидного аніон-радикала, а не інших АФК, що свідчить про можливу сигнальну роль саме $O_2^{\cdot-}$ (Scarpesi et al., 2008). Також відомо, що за низьких значень рН супероксидний аніон-радикал протонується і у формі гідропероксику HO_2 може проходити через мембрани (Sagi, Fluhr, 2006). У такому разі радикали, утворені в клітинній стінці за рахунок активації рослинної НАДФН-

оксидази, можуть опинитися в цитоплазмі і там перетворюватися під впливом цитоплазматичної СОД на пероксид водню – відносно стабільну АФК, яка має найбільший сигнальний потенціал.

Показано, що пероксид водню може долати значні відстані і проникати через мембрани (Bienert et al., 2007). При цьому H_2O_2 є менш токсичним порівняно з іншими АФК (Vranova et al., 2002). Зважаючи на це, саме пероксид водню розглядається як найбільш ймовірна АФК, що бере участь не лише у внутрішньоклітинному, а й у внутрішньо- і міжорганному сигналіngu у рослин (Креславский и др., 2012).

Примітно, що фізіологами тварин останнім часом відпрацьовується концепція, згідно з якою пероксид водню розглядається як новий вторинний посередник (Ткачук и др., 2012). За класичним визначенням, вторинні посередники – це низькомолекулярні речовини, які не є білками, утворюються і діють всередині клітин, і забезпечують передачу сигналу від рецептора до мішеней в клітині. Вторинні посередники синтезуються *de novo* або зберігаються у внутрішньоклітинних депо, виходячи в цитозоль при активації рецепторів. Серед критеріїв, за якими речовина може бути віднесена до вторинних посередників особливо важливими є такі (Ткачук и др., 2012): 1) в неактивованій клітині концентрація вторинного посередника низька; 2) в клітині має існувати механізм синтезу і метаболізму вторинного посередника; 3) вторинний посередник значно підсилює первинний сигнал; 4) вторинний посередник має імітувати фізіологічний ефект рецепторної стимуляції; 5) в клітині повинні існувати мішені, специфічні до вторинного посередника; 6) вторинний посередник компартменталізований в клітині, що спрямовує і обмежує сигнал; 7) антагоністи дії вторинного посередника мають блокувати ефект активації рецептора.

Сукупність накопичених на даний час відомостей свідчить про те, що H_2O_2 відповідає більшості критеріїв вторинних посередників (Ткачук и др., 2012).

В фітофізіології останніми роками АФК також розглядаються як важливі посередники, залучені в передачу клітинних сигналів, що регулюють експресію генів і адаптивні реакції рослин на дію стресорів (Foyer, Noctor, 2009; Креславский и др., 2012). У зв'язку з цим велика увага приділяється електрон-транспортному ланцюгу хлоропластів, який вважається основним джерелом АФК у фотосинтезуючих орга-

нізмів (Shao et al., 2007; Креславский и др., 2012). З другого боку, значна кількість АФК за дії стресорів може утворюватися в мітохондріях (Rhoads et al., 2006) і апопласті (Sagi, Fluhr, 2006, Mittler et al., 2010). Припускають, що саме апопласт є компартментом, в якому локалізовані сенсори стресових сигналів і система їх передачі до білків-регуляторів (Пиотровский и др., 2011). Генерація АФК в апопласті значною мірою зумовлена активністю НАДФН-оксидази (інтегральним білком плазматичної мембрани) (Sagi, Fluhr, 2006; Глянько и др., 2009) і пероксидаз класу III (Minibayeva et al., 2001). Потенційними джерелами АФК також можуть бути аміноксидази (поліаміноксидази), флавіновмісні оксидази, оксалатоксидаза (Mittler, 2002; Swanson, Gilroy, 2010).

З'являються експериментальні докази припущення про те, що взаємодія між системами генерації АФК, локалізованими в хлоропластах і мітохондріях, і НАДФН-оксидазою плазматичної мембрани необхідні для формування фізіологічних реакцій рослин (Pucciariello et al., 2012; Suzuki et al., 2012).

Примітно, що НАДФН-оксидаза може бути активована самими АФК (молекулами пероксиду водню) (Bailey-Serres, Chang, 2005). У клітині можуть формуватися градієнти H_2O_2 , що виконують сигнальну роль (Mittler et al., 2011). Недавно була запропонована концепція сигнальної хвилі АФК, згідно з якою передача сигналів між клітинами може відбуватися шляхом активації НАДФН-оксидази під впливом пероксиду водню, що утворюється в апопласті сусідньої клітини (Mittler et al., 2011). Ймовірно, за допомогою подібних механізмів можуть реалізовуватися стресові фізіологічні реакції на рівні цілого організму (Foyer, Noctor, 2009).

Підвищення активності НАДФН-оксидази і посилення утворення пероксиду водню зареєстроване як відповідь рослин на дію низьких позитивних температур (Prasad et al., 1994; Пиотровский и др., 2011). У деяких, але не в усіх видів рослин НАДФН-оксидази беруть участь у реакції-відповіді на посуху та інші абіотичні стресори (Cheeseman, 2007). Так, у листках кукурудзи за умов водного стресу підйом вмісту пероксиду водню передував зростанню кількості АБК і наступному підвищенню активності антиоксидантних ферментів. Ці адаптивні реакції пригнічувалися передобробкою рослин скавенжерами пероксиду водню та інгібітором НАДФН-оксидази дифеніленіодоніумом (Jiang, Zhang, 2002). Іншим ферментативним джерелом АФК можуть виступати пе-

роксидази клітинних стінок, проте їх роль в генерації АФК у відповідь на дію абіотичних стресорів (за винятком раневого) залишається малодослідженою. Хоча участь пероксидаз в генерації АФК при відповіді на біотичні стресори, зокрема, в реакції надчутливості, сумнівів не викликає (Bestwick et al., 1998). Накопичення АФК за дії стресорів може бути зумовлене не лише підвищенням активності вказаних АФК-генеруючих ферментів, а й зниженням активності антиоксидантних ферментів, наприклад, каталази, яка чутлива до дії багатьох несприятливих чинників (Креславский и др., 2012). В цілому ж взаємодія конкретних ферментних систем, що генерують і знешкоджують АФК, при формуванні пулу сигнальних АФК за дії абіотичних стресорів залишається малодослідженою.

Механізми рецепції і трансдукції редокс-сигналів в клітинах з'ясовані поки що дуже схематично. Важливу роль в сприйнятті АФК в клітині виконують тіольні сполуки. Легкість окиснення сульфгідрильних груп білків у присутності АФК, різноманітність продуктів, що утворюються, і оборотність цих реакцій робить тіольні ключовими сполуками в рецепції і передачі сигналу АФК (Гесслер и др., 2007; Foyer, Noctor, 2009). Істотне значення для передачі сигналів АФК відводиться, зокрема, глутатіону (Szalai et al., 2009). Окислювально-відновна пара GSH/GSSG розглядається деякими авторами як «ідеально відповідна для інформаційної трансдукції» (Noctor et al., 2002).

Редокс-чутливі ферменти здатні безпосередньо модулювати процеси клітинного метаболізму, у той час як редокс-чутливі сигнальні білки функціонують за участю інших компонентів сигнальних систем – MAP-кіназ, рецепторних кіназ, фосфатаз, факторів регуляції транскрипції (Foyer, Noctor, 2005; Georgiou et al., 2006; Foyer, Noctor, 2009; Креславский и др., 2012).

Відомо, що у бактерій H_2O_2 може окиснювати тіольні групи безпосередньо в білках факторах регуляції транскрипції (наприклад, OxyR і PerR) (Vranova et al., 2002; Lee et al., 2004; Lee et al., 2006). Транскрипт-фактор PerR виявлений у *Synechocystis*, що не мають OxyR (Лось, 2010). У еукаріот механізм регуляції транскрипційної активності з участю АФК складніший і включає комплекс білків і пептидів (Mur et al., 2006; Ndamukong et al., 2007). В той же час і у рослинах ідентифікований транскрипт-фактор NPR1, що регулюється дією АФК (Mou et al., 2003). Під контролем цього транс-

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ І АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА

крипт-фактора перебуває реакція надчутливості рослин на патогени.

Виявлений ефект окиснення АФК цистеїнових залишків в протеїнкіназах і протеїнофосфатазах (Gupta, Luan, 2003). Показана також участь H_2O_2 в контролі тирозинового фосфорилування білків рослин (Каримова, Петрова, 2007). При цьому, на думку авторів, ендогенний пероксид водню впливає як на активність тирозинових протеїнофосфатаз (інгібує їх, окиснюючи SH-групи каталітичного центру), так і на активність тирозинових протеїнкіназ (окиснення сульфгідрильних груп активує ці ферменти).

На різних рослинних об'єктах показана активація MAP-кіназ під дією екзогенного пероксиду водню або індукторів його утворення (Pitzschke, Hirt, 2006; Mittler et al., 2011). Вплив пероксиду водню на MAP-кіназні каскади може бути пов'язаний з окисненням тільних залишків в цих білках (Mazid et al., 2011). Запропонована навіть гіпотеза про стабілізуючий вплив H_2O_2 на кіназу MAP-кінази (Jaspers, Kangasjarvi, 2010).

Таким чином, в даний час АФК розглядаються не тільки як сигнальні посередники, але і як можливі учасники регуляції експресії генів при формуванні відповідей рослин на абіотичні стресори, здатні безпосередньо модифікувати фактори регуляції транскрипції і протеїнкінази (Chinnusamy et al., 2007). В цьому особлива роль належить пероксиду водню як найбільш стабільній АФК.

Показана участь АФК як сигнальних молекул не тільки в активації антиоксидантної системи, що здається цілком закономірним, але й багатьох інших фізіологічних реакцій, необхідних для стійкості рослин до абіотичних стресорів (синтез стресових білків (Wahid, Close, 2007), накопичення низькомолекулярних протекторів типу проліну та ін. (Chaneva et al., 2006)). Водночас маловивченим залишається внесок конкретних ферментативних систем, що беруть участь у формуванні «сигнального пулу» АФК, особливості функціонування цих систем за дії на рослини стресорів різної природи.

У наших дослідженнях шляхом використання достатньо специфічного скавенжера пероксиду водню диметилтіосечовини доведено участь АФК в індукуванні стрес-протекторних систем після короткочасного загартовуючого впливу на рослини не лише гіпертермії, а й осмотичного шоку (Обозный, Колупаев, 2012).

Попередня обробка проростків пшениці ДМТС нівелювала індуковане загартуванням зростання активності антиоксидантних ферментів (СОД, каталази, гваякол- і аскорбатпероксидази) і розвиток їх стійкості до стресорів (Колупаев, Обозный, 2012; Колупаев и др., 2013).

Як уже зазначалося, генерація АФК поверхнею рослинних клітин може здійснюватися передусім НАДФН-оксидазою (Sagi, Fluhr, 2006) та апопластною пероксидазою (Minibaeva et al., 2001). На проростках пшениці було показано часткове нівелювання спричинюваного дією теплового або осмотичного загартування зростання вмісту пероксиду водню в рослинних тканинах за їх попередньої обробки інгібітором НАДФН-оксидази імідазолом та інгібітором пероксидази саліцилгідроксамовою кислотою (Обозный, Колупаев, 2012). При цьому обидва інгібітори ферментів перешкоджали індукованому загартуванням зростання прямої і перехресної стійкості рослин до гіпертермії і зневоднення. Водночас було встановлено, що у момент спричинюваного загартовуючим впливом зростання вмісту пероксиду водню активність каталази та інших ферментів, що розкладають пероксид водню, істотно не змінювалася (Обозный и др., 2012б; Колупаев и др., 2013). Зважаючи на це, причиною збільшення вмісту АФК в рослинних клітинах після загартовуючих впливів можна вважати саме підвищення активності АФК-генеруючих систем, а не зниження активності антиоксидантних ферментів.

НАДФН-оксидаза та апопластна пероксидаза відокремлено або в «тандемі» можуть генерувати супероксидний аніон-радикал, сигнальна роль якого поки що однозначно не доведена (Креславский и др., 2012). Більш ймовірним є його перетворення на стабільну АФК – пероксид водню – під впливом СОД. У наших експериментах було зафіксовано швидке зростання активності СОД в коренях проростків пшениці після загартовуючих високотемпературного або осмотичного впливів (Колупаев и др., 2013; Oboznyi et al., 2013). Цей ефект нівелювався передобробкою рослин інгібітором СОД діетилдитіокарбамату натрію, за дії останнього не відбувалося підвищення вмісту пероксиду водню, спричинюваного загартовуючими впливами на рослини. При цьому діетилдитіокарбамат натрію нівелював розвиток тепло- і осмотичності рослин після теплового або осмотичного загартування, а також формування перехресної стійкості.

На підставі отриманих нами результатів і даних літератури хід подій пов'язаних з АФК-

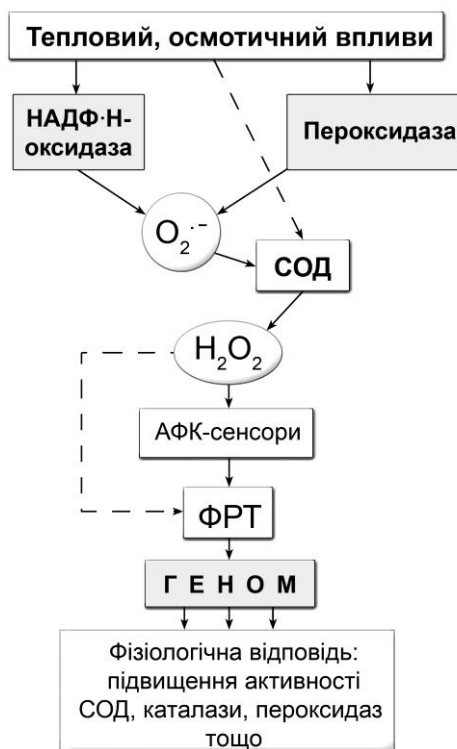


Рис. 1. Гіпотетичний механізм впливу гіпертермії і осмотичного шоку на продукування сигнальних АФК в рослинних клітинах і формування адаптивної відповіді.

сигналінгом, можна представити таким чином (рис. 1). Ймовірно, що поверхня клітини за допомогою гіпотетичних сенсорів сприймає гіпертермічний та осмотичний впливи. Природа можливих кандидатів на роль сенсорів температурних і осмотичних змін у рослин розглянута в публікаціях (Лось, 2007; 2010; Wohlbach et al., 2008; Hirayama, Shinozaki, 2010; Los et al., 2010; Колупаєв, Карпец, 2012). У ціанобактерій термосенсорні функції виконує гістидинкіназа Нік34, що виступає в ролі негативного регулятора транскрипції генів БТШ, який стримує експресію генів БТШ за нормальної температури. За теплового стресу Нік34 втрачає здатність до автофосфорилювання. За таких умов запускається транскрипція генів БТШ, раніше репресована активною формою Нік34 (Suzuki et al., 2005; Лось, 2010). В монографії Д.А. Лося (Лось, 2010) описано також п'ять регуляторних двокомпонентних систем, що беруть участь у регуляції відповіді ціанобактерій на осмотичний стрес, при цьому функції власне осмосенсорів у таких системах виконують гістидинкінази.

Сигнали гіпертермії або осмотичного впливу призводять до активації трансмембранного ферменту НАДФН-оксидази (рис. 1). Також можлива стресова активація апопластних

пероксидаз. Підвищення активності цих ферментних комплексів спричиняє посилення генерації супероксидного аніон-радикала. Останній за допомогою апопластних форм СОД може перетворюватися на пероксид водню, що вільно проникає в цитоплазму через плазматичну мембрану. Крім того, при низьких, але фізіологічних значеннях рН $O_2^{\bullet-}$ може протонуватися і у формі гідропероксиду (HO_2) проходити через мембрани (Sagi, Fluhr, 2006). Надалі супероксидний аніон-радикал перетворюється на пероксид водню цитозольними формами СОД. Збільшення концентрації пероксиду водню в клітинах призводить до модифікації внутрішньоклітинних білкових редокс-сенсорів. Зокрема, є відомості про участь АФК в активації MAP-кіназного каскаду (Apel, Hirt, 2004). У кінцевому підсумку, ймовірно, АФК-сигнал призводить до зміни стану транскрипторів, що контролюють гени антиоксидантних ферментів. Активація експресії цих генів спричиняє накопичення транскриптів відповідних білків, а отже призводить до посилення синтезу антиоксидантних ферментів. На користь ймовірності такого розвитку подій, зокрема, свідчать наші дані про пригнічення скавенжером пероксиду водню ДМТС, інгібіторами НАДФН-оксидази (імідазолом) і СОД (діетилдитіокарбаматом натрію) активації ком-

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ І АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА

плексу антиоксидантних ферментів, спричинюваної загартовуючим впливом на проростки пшениці (Колупаев, Обозный, 2012; Колупаев и др., 2013). Раніше були отримані дані про нівелювання індукованого тепловим загартуванням підвищення термостабільності СОД, каталази і пероксидази передобробкою проростків пшениці неспецифічним антиоксидантом іонолом (Карпец, Колупаев, 2009). Також на рослині показано пригнічення індукованого паракватом підвищення вмісту транскриптів аскорбатпероксидази під дією інгібітору СОД діетилдитіокарбамату натрію (Morita et al., 1999).

Зроблене нами узагальнення механізмів утворення АФК за помірної (загартовуючої) дії на рослині гіпертермії та осмотичного шоку (рис. 1) стосується передусім етіюльованих об'єктів. Саме на їх прикладі встановлена ймовірна роль НАДФН-оксидази, апопластної пероксидази і СОД у формуванні АФК сигналу, необхідного для активації системи антиоксидантного захисту і, можливо, інших стреспротекторних систем, що зумовлюють подальший розвиток тепло- і осмотостійкості рослин. Питання про роль АФК-сигналіну і зазначених АФК-генеруючих ферментних систем у формуванні стійкості зелених рослин поки що залишається відкритим. Проте недавно виявлено участь продукту гена *rbohD*, що кодує одну із форм НАДФН-оксидази, у дистанційній передачі інформації по зеленій рослині арабідопсису у відповідь на температурний несприятливий вплив (Miller et al., 2009). Таким чином, не виключено, що АФК-генеруючі ферментні системи причетні і до процесів індукування стійкості у зелених рослин. При цьому порівняння участі НАДФН-оксидази, апопластних пероксидаз та інших ферментів, здатних генерувати АФК у формуванні адаптивних реакцій на стресори, у етіюльованих і зелених рослин може бути перспективним напрямом досліджень.

Зміни у функціонуванні антиоксидантної системи в процесі формування стійкості рослин до дії стресорів

Останніми роками набула популярності гіпотеза, згідно з якою основою адаптації і перехресної стійкості рослин до несприятливих чинників є ефективне функціонування антиоксидантної захисної системи, адже окиснювальний стрес – спільний наслідок негативної дії будь-яких стресорів (Shao et al., 2008). Зважаючи на це, як пряме, так і перехресне підвищення стійкості рослин попереднім промірним впливом несприятливих чинників повинно включати в себе індукування антиоксидантної систе-

ми. Водночас активацію змін в антиоксидантній системі може спричинити транзиторне посилення генерації АФК. Відомо, що накопичення АФК у фізіологічних межах може викликати активацію експресії генів антиоксидантного захисту (Suzuki, Mittler, 2006).

Саме АФК можуть бути найвірогіднішими посередниками у передачі стресових сигналів і подальшій індукції антиоксидантної системи рослин. Окремі роботи, в яких досліджена динаміка утворення АФК і змін в антиоксидантній системі за дії помірних стресорів, свідчать на користь такого припущення. Так, на проростках кукурудзи показано, що 4-годинний вплив температури 1°C з наступним 6-годинним витриманням рослин при температурі 26°C спричинював транзиторне збільшення вмісту пероксиду водню і зростання їх стійкості до тривалого впливу низьких позитивних температур (Li, Li, 2011). При цьому спостерігалось підвищення активності СОД, гваяколпероксидази, каталази, глутатонредуктази. Схожі результати отримані на прикладі рослин гібрида *Fragaria*×*Ananassa* Duch (Zhang et al., 2008). Їх холодова аклімація викликала транзиторне підвищення вмісту H₂O₂ і наступне зростання активності СОД, каталази і пероксидази. На проростках нуту показано, що дія холоду посилювала експресію генів цитозольної Cu/Zn-СОД в епикотілях, проте активність ферменту при цьому змінювалася слабо. В той же час сольовий стрес виразніше впливав на активність ферменту (Hernandez-Nistal et al., 2002).

На жаль, досліджень, в яких би встановлювалася роль АФК як посередників в індуванні антиоксидантної системи за дії загартовуючих впливів, поки що недостатньо. Частіше досліджується лише сама реакція антиоксидантної системи на загартовуючі чинники. Так, підвищення активності СОД, каталази, аскорбат- і гваяколпероксидази показано під час довготривалої (20-денної) холодової аклімації рослин пшениці за температури 1°C (Janmohammadi et al., 2012). При цьому зростання активності СОД у озимого сорту було більш істотним, ніж у ярого.

У деяких роботах вивчалось функціонування антиоксидантної системи при формуванні перехресної стійкості рослин до дії стресорів. Наприклад, показано, що попередній вплив на проростки ячменю температури близько 0°C спричиняв підвищення їх теплостійкості і зростання активності СОД, аскорбатпероксидази, каталази і глутатонредуктази за умов наступної дії високих температур (Mei, Song, 2010).

Попередня обробка калюсної культури цукрової тростини 1% поліетиленгліколем індукувала комплекс антиоксидантних ферментів і її стійкість до стресових концентрацій хлориду натрію (Munir, Aftab, 2009).

Механічне подразнення рослин спричинувало підвищення їх стійкості до стресорів різної природи, у т.ч. до гіпертермії і зневоднення (Zhong-Guang, Ming, 2011). Такий вплив спричинював тимчасове збільшення концентрації іонів кальцію в цитозолі, посилення генерації АФК і наступне підвищення активності антиоксидантних ферментів, зокрема, неспецифічної пероксидази глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази і глутатіон-S-трансферази (Cheng, Yuan, 2009). Такі відомості дозволяють припускати, що кальційзалежна генерація АФК і наступна активація антиоксидантної системи можуть бути важливою складовою у формуванні перехресної стійкості рослин.

Під дією стресорів відбувається не тільки посилення синтезу антиоксидантних ферментів і збільшення їх активності, але і поява їх нових молекулярних форм, ймовірно, більш адаптованих до відповідних умов. Наприклад, є чимало відомостей про зміну в наборі молекулярних форм пероксидази за дії на рослини гіпотермії (Капустян та ін., 2004), гіпертермії (Карпець та ін., 2009; Обозный и др., 2010), водного дефіциту (Bakalova et al., 2004), засолення середовища (Sreenivasulu et al., 1999), важких металів (Radotic et al., 2000).

На проростках пшениці показано індукування комплексу антиоксидантних ферментів, що знешкоджують пероксид водню, під впливом теплового і осмотичного загартування (Обозный и др., 2012а; 2012б). При цьому внесок окремих антиоксидантних ферментів у систему захисту від окиснювальних пошкоджень залежав від органів рослин (рис. 2). Так, у коренях під впливом як теплової, так і осмотичної загартовуючих обробок значно зростала активність гваяколпероксидази. Теплове, але не осмотичне, загартування також спричиняло підвищення активності каталази і аскорбатпероксидази. У пагонах обидва загартовуючі впливи спричиняли помітне зростання активності каталази, активність аскорбатпероксидази дещо зростала лише під впливом осмотичного загартування, а активність гваяколпероксидази під впливом обох типів загартування збільшувалася незначною мірою. Водночас активність супероксиддисмутази, яка є єдиним ферментативним антиоксидантом, що знешкоджує радикальні АФК, підвищувалася в коренях і пагонах

проростків пшениці за дії як теплового, так і осмотичного загартування (рис. 2). В цілому ж реакція окремих компонентів антиоксидантної системи після загартовуючого впливу гіпертермії і осмотичного шоку мала деякі ознаки специфічності. Неоднаковим був і внесок окремих досліджуваних антиоксидантних ферментів у підтримання про-/антиоксидантної рівноваги за умов наступних ушкоджуючих теплового і осмотичного впливів (Обозный и др., 2012а, 2012б). Отже, є підстави говорити про певну взаємозамінність антиоксидантних ферментів, що знешкоджують пероксид водню.

Менш дослідженими порівняно з поведінкою антиоксидантних ферментів залишаються зміни вмісту низькомолекулярних і зокрема неспеціалізованих антиоксидантів в процесі формування стійкості рослин до дії стресорів. До останніх належать антиоксиданти, у яких антиоксидантна функція не є єдиною і основною, зокрема, пролін, деякі інші амінокислоти, розчинні вуглеводи (Колупаєв и др., 2011). Показано, що механічне подразнення клітин тютюну в культурі шляхом обертання на шейкері спричиняло активацію Δ -піролін-5-карбоксилатсинтази і накопичення проліну, що супроводжувалося підвищенням стійкості клітин до важких металів і засолення середовища (Li et al., 2011). На проростках пшениці нами показано, що теплове загартування призводило до значного підвищення вмісту проліну у коренях за умов наступного ушкоджуючого осмотичного впливу (Обозный и др., 2013). У той же час попередній загартовуючий осмотичний вплив не викликав накопичення проліну в коренях за умов ушкоджуючого прогріву. Ймовірно, пролін має як малоспецифічну складову захисної дії (наприклад, антиоксидантну, схожу із шаперонною і т. ін.) (Szabados, Savoure, 2009), так і більш специфічну – осмопротекторну. Через це його синтез посилювався саме за дії осмотичного шоку, але при цьому попереднє теплове загартування могло сприяти збереженню в стресових умовах комплексу ферментів його синтезу.

Загальновідомим є підвищення вмісту цукрів при дії низьких загартовуючих температур на озимі злакові (Bancal, Gaudillere, 1989; Livingston, Henson, 1998). Подібні ефекти спостерігаються і за умов передадаптивного зневоднення рослин шляхом їх інкубації на розчинах ПЕГ (Jacomini et al., 1988). Останнім часом стрес-протекторні функції розчинних вуглеводів пов'язують не лише з їх осморегуляторною і антидентатураційною дією, а й з яскраво ви-

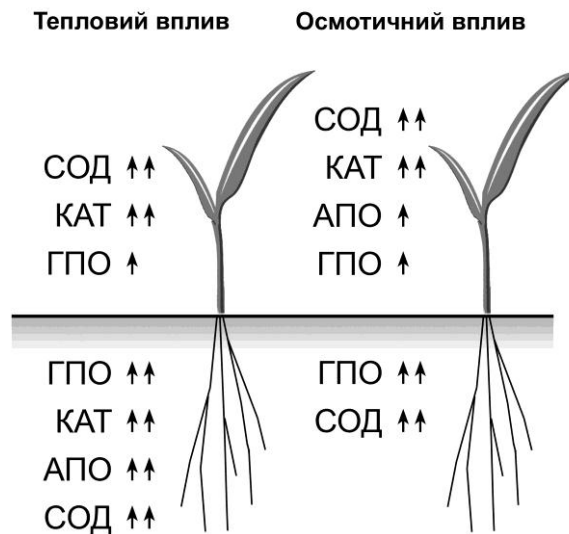


Рис. 2. Ключові антиоксидантні ферменти, що активуються у коренях і надземній частині проростків пшениці за помірної дії гіпертермії і осмотичного шоку (за даними публікацій: Обозный и др., 2012а; 2012б).

раженими антиоксидантними ефектами (Morelli et al., 2003).

Ще однією групою антиоксидантів, що ймовірно мають внесок у формування стійкості рослин до абіотичних стресорів, є фенольні сполуки. Показано підвищення вмісту фенольних антиоксидантів, зокрема, флавоноїдів і похідних ферулової кислоти в ході холодового загартування рослин пшениці (Олениченко и др., 2006).

Лише в невеликій кількості праць вивчалася взаємодія ферментативної і неферментативної складових антиоксидантної системи. На 10-денних рослинах пшениці показано, що двогодинний вплив гіпертермії (температур 30-40°C) спричиняв зниження вмісту проліну і одночасне зростання активності СОД і каталази (Kumar et al., 2012). Дослідженнями Прасада і співавт. (Prasad et al., 2004) показано, що за спільної дії ультрафіолету і кадмію на рослини *Riccia* відбувалася більш істотна активація СОД і пероксидази та підвищення вмісту низькомолекулярних антиоксидантів (аскорбату і каротиноїдів) порівняно з ефектами кожного стресора окремо. На рослинах полину, базилика та калинджі встановлено, що 10-хвилинне опромінення УФ, дія 100 мМ NaCl або послідовний вплив обох факторів спричиняли підвищення

вмісту фенольних антиоксидантів і слабо впливали на активність антиоксидантних ферментів (Радюкіна и др., 2012). Водночас на рослинах полину показано, що послідовна дія УФ-В опромінення і підвищених концентрацій хлориду натрію чинили синергетичний вплив на накопичення низькомолекулярних протекторів, зокрема, проліну і фенольних сполук (Радюкіна и др., 2012). В іншій роботі, виконаній на рослинах ячменю, показано, що послідовний вплив NaCl і УФ-В опромінення викликав підвищення вмісту проліну і каротиноїдів (Sakırlar et al., 2008). На рослинах шавлії встановлено, що підвищення активності СОД у відповідь на дію засолення і метилвіологену відбувалося у часі швидше, ніж підйом вмісту проліну (Радюкіна и др., 2008). В цілому у даній роботі показаний реципрокний характер взаємодії СОД і проліну. Також встановлено, що екзогенний пролін знижував активність СОД і каталази у рослин винограду (Ozden et al., 2009). З іншого боку, у роботі Campos et al. (2011) показано, що у трансформантів з посиленням синтезом проліну за умов посухи зберігалася вища активність СОД і аскорбатпероксидази, а після поновлення поливу активність цих ферментів швидко збільшувалася. На прикладі ряду дикорослих видів рослин показана зворотна корелятивна

залежність між вмістом проліну і активністю СОД (Карташов и др., 2008).

На проростках пшениці також отримано результати, що дозволяють говорити про своєрідну функціональну взаємозамінність СОД і проліну. Наприклад, при зниженні активності СОД через певний час після осмотичного шоку в коренях загартованих проростків відзначалося істотне підвищення вмісту проліну (Обозний и др., 2013). Ймовірно, пролін залучається до антиоксидантного захисту на більш пізніх стадіях адаптації. При цьому, однак, не виключено, що для збереження у рослин здатності до його накопичення необхідний більш ранній антиоксидантний захист за допомогою СОД.

Висновки

Пероксид водню серед інших АФК є найбільш ймовірним кандидатом на роль посередника, що бере участь в передачі стресових сигналів від поверхні клітини в її генетичний апарат, а також в міжклітинному сигналінгу і навіть в передачі сигналів від одних органів рослини до інших. При цьому пул сигнальних АФК, швидше за все, формується не за рахунок стохастичних явищ, а за допомогою відповідних ферментних систем. Водночас сенсори, що сприймають дію абіотичних стресорів (зокрема, гіпертермії і осмотичного шоку), у вищих рослин дотепер не з'ясовані. Через це залишається відкритим і питання про механізм активації АФК-генеруючих ферментів за дії абіотичних стресорів.

Одним з найважливіших генераторів АФК клітинною поверхнею є НАДФН-оксидаза. Її активність збільшується за дії на рослини стресорів, у т.ч. помірних, що індукують подальший розвиток стійкості. Водночас сигнальні функції, ймовірно, виконує не супероксидний аніон-радикал, генерований НАДФН-оксидазою, а пероксид водню, що утворюється за рахунок дисмутації $O_2^{\cdot-}$. Даний процес відбувається під впливом СОД. Є підстави розглядати цей фермент не лише як компонент антиоксидантної системи, а й у ролі важливого учасника сигнальної трансдукції. Пригнічення СОД за допомогою інгібіторів блокує збільшення кількості транскриптів і підвищення активності антиоксидантних ферментів у рослинних клітинах, спричинюване дією стресорів.

АФК, утворювані комплексом ферментних систем, можна розглядати у ролі сигнальних посередників, що беруть участь у процесах індукування не лише прямої, а й перехресної стійкості. Сенсори і передавачі редокс-сигналів

у рослинних клітинах залишаються мало дослідженими. Водночас не викликає сумнівів здатність АФК-сигналу посилювати експресію генів та підвищувати активність антиоксидантних ферментів і, ймовірно, активувати інші стрес-протекторні системи.

Антиоксидантний комплекс, що складається з ферментативних і низькомолекулярних антиоксидантів, належить до стрес-протекторних систем, задіяних у формуванні прямої і перехресної стійкості рослин. Проте залежно від природи стресора, внесок окремих компонентів цього комплексу у захист рослинних тканин може різнитися, тобто адаптивні зміни антиоксидантної системи можуть мати і ознаки специфічності.

ЛІТЕРАТУРА

- Александров В.Я.* Клетки, макромолекулы и температура. – Л.: Наука, 1975. – 329 с.
- Гесслер Н.Н., Аверьянов А.А., Белозерская Т.А.* Активные формы кислорода в регуляции развития грибов // Биохимия. – 2007. – Т. 72, вып. 10. – С. 1342-1364.
- Глянько А.К., Ищенко А.А., Митанова Н.Б., Васильева Г.Г.* НАДФН-оксидаза растений // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2009. – Вип. 2 (17). – С. 6-18.
- Гродзинский Д.М.* Адаптивная стратегия физиологических процессов растений (47-е Тимирязевское чтение 25 лет спустя). – Киев: Наук. думка, 2013. – 303 с.
- Капустян А.В., Кучеренко В.П., Панюта О.О., Мусієнко М.М.* Активність пероксидази та зміна її ізоферментних форм за умов низькотемпературного стресу // Физиология и биохимия культ. растений. – 2004. – Т. 36, № 1. – С. 55-63.
- Каримова Ф.Г., Петрова Н.В.* Влияние H_2O_2 на фосфорилирование по тирозину белков гороха // Физиология растений. – 2007. – Т. 54. – № 3. – С. 365-372.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е.* Ионол и циклогексимид нивелируют эффект повышения термостабильности антиоксидантных ферментов корней пшеницы после кратковременного закалывающего прогрева // Устойчивость организмов к неблагоприятным факторам внешней среды. Мат-лы Всеросс. научн. конф. – Иркутск, 2009. – С. 202-206.
- Карпец Ю.В., Обозний О.І., Попов В.М., Колупаев Ю.Є.* Зміни активності і термостабільності пероксидази коренів пшениці після короткочасної дії гіпертермії // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т. 41, № 4. – С. 353-358.

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ І АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА

- Карташов А.В., Радюкина Н.Л., Иванов Ю.В., Пашковский П.П., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В.* Роль систем антиоксидантной защиты при адаптации дикорастущих видов растений к солевому стрессу // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 4. – С. 516-522.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В.* Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. – Киев: Основа, 2010. – 351 с.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В.* Ранние реакции растений на действие стрессоров: повреждение, сигналинг, защита? // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2012. – Вип. 2 (26). – С. 6-24.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Обозный А.И.* Антиоксидантная система растений: участие в клеточной сигнализации и адаптации к действию стрессоров // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2011. – Вип. 1 (22). – С. 6-34.
- Колупаев Ю.Е., Обозный А.И.* Участие активных форм кислорода в индуцировании аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы при тепловом закаливании проростков пшеницы // Укр. біохім. журн. – 2012. – Т. 84, № 6. – С. 131-138.
- Колупаев Ю.Е., Обозный А.И., Швиденко Н.В.* Роль пероксида водорода в формировании сигнала, индуцирующего развитие теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 2. – С. 221-229.
- Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В.* Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 163-178.
- Кузнецов Вл.В., Хыдыров Б.Т., Роцупкин Б.В., Борисова Н.Н.* Общие системы устойчивости хлопчатника к засолению и высокой температуре: факты и гипотезы // Физиология растений. – 1990. – Т. 37, № 5. – С. 987-996.
- Лось Д.А.* Восприятие стрессовых сигналов биологическими мембранами // Проблемы регуляции в биологических системах. – М., Ижевск: РДХ, 2007. – С. 329-360.
- Лось Д.А.* Сенсорные системы цианобактерий. – М.: Научный мир, 2010. – 218 с.
- Обозный А.И., Колупаев Ю.Е.* Участие ферментативных систем, генерирующих активные формы кислорода, в развитии перекрестной устойчивости проростков пшеницы к гипертермии и осмотическому шоку // Физиология и биохимия культ. растений. – 2012. – Т. 44, № 4. – С. 347-354.
- Обозный А.И., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В., Вайнер А.А.* Динамика активности антиоксидантных ферментов при кросс-адаптации проростков пшеницы к гипертермии и осмотическому шоку // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2012а. – Вип. 2 (26). – С. 71-84.
- Обозный А.И., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О.* Активность супероксиддисмутазы и содержание низкомолекулярных протекторных соединений при формировании перекрестной устойчивости проростков пшеницы к тепловому и осмотическому стрессам // Агрехимия. – 2013. – № 8. – С. 70-78.
- Обозный А.И., Швиденко Н.В., Луговая А.А., Колупаев Ю.Е.* Активность аскорбатпероксидазы и содержание аскорбиновой кислоты в проростках пшеницы при закалывающих и повреждающих тепловом и осмотическом воздействиях // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2012б. – Вип. 3 (27). – С. 65-74.
- Обозный А.И., Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е., Попов В.Н., Криворученко Р.В.* Влияние кратковременного нагрева на активность и термостабильность растворимой пероксидазы корней пшеницы разных экотипов // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2010. – Вип. 2 (20). – С. 61-68.
- Олениченко Н.А., Осипов В.И., Загоскина Н.В.* Фенольный комплекс листьев озимой пшеницы и его изменение в процессе низкотемпературной адаптации растений // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 4. – С. 554-559.
- Пиотровский М.С., Шевырева Т.А., Жесткова И.М., Трофимова М.С.* Активация НАДФ-Н-оксидазы плазмалеммы при действии низких положительных температур на этилированные проростки кукурузы // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 234-242.
- Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В.* Участие пролина в системе антиоксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и парахвата // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 5. – С. 721-730.
- Радюкина Н.Л., Тоайма В.И.М., Зарипова Н.Р.* Участие низкомолекулярных антиоксидантов в кросс-адаптации лекарственных растений к последовательному действию UV-B облучения и засоления // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 1. – С. 80-88.
- Соловьян В.Т.* Приспособление клеток к неблагоприятным факторам. Характеристика адаптивных ответов // Биополимеры и клетка. – 1990. – Т. 6, № 4. – С. 32-42.
- Таланова В.В.* Фитогормоны как регуляторы устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды: Автореферат дис. ... докт. биол. наук. – Петрозаводск, 2009. – 44 с.
- Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
- Ткачук В.А., Тюрин-Кузьмин П.А., Белоусов В.В., Воронников А.В.* Пероксид водорода как новый

- вторичный посредник // Биологические мембраны. – 2012. – Т. 29, № 1-2. – С. 21-37.
- Тоайма В.И.М.* Действие UV-B облучения на антиоксидантную систему лекарственных растений: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. – М., 2010. – 27 с.
- Apel K. Hirt H.* Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2004. – V. 55. – P. 373-399.
- Bailey-Serres J., Chahg R.* Sensing and signalling in response to oxygen deprivation in plants and other organisms // *Ann. Bot.* – 2005. – V. 96. – P. 507-518.
- Bancal P., Gaudillere J.P.* Oligofructan separation and quantification by high performance liquid chromatography. Application to *Asparagus officinalis* and *Triticum aestivum* // *Plant Physiol. Biochem.* – 1989. – V. 27. – P. 745-750.
- Bestwick C.S., Brown I.R., Mansfield J.W.* Localized changes in peroxidase activity accompany hydrogen peroxide generation during the development of a nonhost hypersensitive reaction in lettuce // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 118. – P. 1067-1078.
- Bienert G.P., Moller A.L., Kristiansen K.A., Schulz A., Moller I.M., Schjoerring J.K., Jahn T.P.* Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes // *J. Biol. Chem.* – 2007. – V. 282. – P. 1183-1192.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V.* Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review // *Ann. Bot.* – 2003. – V. 91. – P. 179-194.
- Cakirlar H., Cicek N., Fedina I., Georgieva K., Dogru A., Velitchkova M.* NaCl induced cross-acclimation to UV-B radiation in four barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars // *Acta Physiol. Plant.* – 2008. – V. 30. – P. 561-567.
- Campos M.K.F., Carvalho K., Souza F.S., Marura C.J., Pereira L.F.P., Filho J.C.B., Vieira L.G.E.* Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citrumelo plants over-accumulating proline // *Environm. Exp. Bot.* – 2011. – V. 72. – P. 242-250.
- Chaneva G., Tzanova A., Uzunova A.* Interaction between cadmium and paraquat stress on *Pisum sativum*. Oxidative stress in pea plants induced by Cd²⁺ and paraquat // *Докл. БЪЛГ. АН.* – 2006. – V. 59, № 6. – P. 657-662.
- Cheeseman J.M.* Hydrogen peroxide and plant stress: a challenging relationship // *Plant Stress.* – 2007. – V. 1, № 1. – P. 4-15.
- Cheng J.S., Yuan Y.J.* Release of proteins: insights into oxidative response of *Taxus cuspidata* cells induced by shear stress // *J. Mol. Catal. B: Enzymatic.* – 2009. – V. 58. – P. 84-92.
- Farooq M., Wahid A., Lee D.-J. Cheema S.A., Aziz T.* Drought stress: comparative time course action of the foliar applied glycinebetaine, salicylic acid, nitrous oxide, brassinosteroids and spermine in improving drought resistance of rice // *J. Agr. Crop Sci.* – 2010. – V. 196, Is. 5. – P. 336-345.
- Foyer C.H., Noctor G.* Redox homeostis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses // *Plant Cell.* 2005. – V. 17. – P. 1866-1875.
- Foyer C.H., Noctor G.* Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – V. 11. – P. 861-906.
- Georgiou C.D., Patsoukis N., Papapostolou I., Zervoudakis G.* Sclerotial metamorphosis in filamentous fungi is induced by oxidative stress // *Integr. Compar. Biol.* – 2006. – V. 46. – P. 691-712.
- Gupta R., Luan S.* Redox control of protein tyrosine phosphatases and mitogen-activated protein kinases in plants // *Plant Physiol.* – 2003. – V. 132. – P. 1149-1152.
- Hale H.B.* Cross adaptation // *Environm. Res.* – 1969. – V. 2, № 2. – P. 324.
- Hernandez-Nistal J., Dopico B., Labrador E.* Cold and salt stress regulates the expression and activity of a chickpea cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase // *Plant Sci.* – 2002. – V. 163. – P. 507-514.
- Hirayama T., Shinozaki K.* You have free access to this content research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future // *Plant J.* – 2010. – V. 61. – P. 1041-1052.
- Jacomini E., Bertani A., Mapelli S.* Accumulation of polyethyleneglycol 6000 and its effect on water content and carbohydrate level in water-stressed tomato plants // *Can. J. Bot.* – 1988. – V. 66. – P. 970-973.
- Janmohammadi M., Enayati V., Sabaghnia N.* Impact of cold acclimation, de-acclimation and re-acclimation on carbohydrate content and antioxidant enzyme activities in spring and winter wheat // *Icel. Agric. Sci.* – 2012. – V. 25. – P. 3-11.
- Jaspers P., Kangasjarvi J.* Reactive oxygen species in abiotic stress signaling // *Physiol. Plant.* – 2010. – V. 138. – P. 405-413.
- Jiang M., Zhang J.* Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. // *J. Exp. Bot.* – 2002. – V. 53. – P. 2401-2410.
- Kumar R.R., Goswami S., Sharma S.K., Singh K., Gadpayle K.A., Kumar N., Rai G.K., Singh M., Rai R.D.* Protection against heat stress in wheat involves change in cell membrane stability, antioxidant enzymes, osmolyte, H₂O₂ and transcript of heat shock

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ І АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА

- protein // *Int. J. Plant Physiol. Biochem.* – 2012. – V. 4, № 4. – P. 83-91.
- Lee C., Lee S.M., Mukhopadhyay P., Kim S.J., Lee S.C., Ahn W.S., Yu M.H., Storz G., Ryu S.E.* Redox regulation of OxyR requires specific disulfide bond formation involving a rapid kinetic reaction path // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2004. – V. 11. – P. 1179-1185.
- Lee J.W., Helmann J.D.* The PerR transcription factor senses H₂O₂ by metal-catalysed histidine oxidation // *Nature.* – 2006. – V. 440. – P. 363-367.
- Li H.-Y., Li C.-G.* Short-term cold-shock at 1°C induced chilling tolerance in maize seedlings // 2010 Int. Conference Biol., Environment Chemistry IPCBEE. – Singapore: IACSIT Press, 2011. – V. 1. – P. 346-349.
- Li Z.G., Yan S.Z., Xie H.* Effect of mechanical stimulation on salt and heavy metal tolerance in tobacco suspension cultured cells // *J. Yunnan Norm. Univ. Nat. Sci.* – 2011. – V. 31. – P. 16-20.
- Livingston III D.P., Henson C.A.* Apoplastic sugars, fructan exohydrolase and invertase in winter oat: responses to second phase cold hardening // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 116. – P. 403-408.
- Los D.A., Zorina A., Sinetova M., Kryazhov S., Mironov K., Zinchenko V.V.* Stress sensors and signal transducers in Cyanobacteria // *Sensors.* – 2010. – V. 10. – P. 2386-2415.
- Mazid M., Ahmed K.T., Mohammad F.* Role of Nitric oxide in regulation of H₂O₂ mediating tolerance of plants to abiotic stress: A synergistic signalling approach // *J. Stress Physiol. Biochem.* – 2011. – V. 7, № 2. – P. 34-74.
- Mei Y., Song S.* Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* – 2010. – V. 11. – P. 965-972.
- Miller G., Schlauch K., Tam R., Cortes D., Torres M.A., Shulaev V., Dangl J.L., Mittler R.* The plant NADPH oxidase RBOHD mediates rapid systemic signaling in response to diverse stimuli // *Sci. Signal.* – 2009. – V. 2, iss. 84. – P. Ra 45.
- Minibayeva F.V., Gordon L.K., Kolesnikov O.P., Chasov A.V.* Role of extracellular peroxidase in the superoxide production by wheat root cells // *Protosplasma.* – 2001. – V. 217. – P. 125-128.
- Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Van Breusegem F.* ROS signaling: the new wave? // *Trends Plant Sci.* – 2011. – V. 16. – P. 300-309.
- Mittler R.* Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends Plant Sci.* – 2002. – V. 7. – P. 405-410.
- Morelli R., Russo-Volpe S., Bruno N., Lo Scalzo R.* Fenton-dependent damage to carbohydrates: free radical scavenging activity of some simple sugars // *J. Agric. Food Chem.* – 2003. – V. 51. – P. 7418-7425.
- Morita S., Kaminaka H., Masumura T., Tanaka K.* Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress: the involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signalling // *Plant Cell Physiol.* – 1999. – V. 40. – P. 417-422.
- Mou Z., Fan W., Dong X.* Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes // *Cell.* – 2003. – V. 113. – P. 935-944.
- Munir N., Aftab F.* The role of polyethylene glycol (PEG) pretreatment in improving sugarcane's salt (NaCl) tolerance // *Turk. J. Bot.* – 2009. – V. 33. – P. 407-415.
- Mur L.A.J., Kenton P., Atzorn R., Miersch O., Wastermack C.* The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 140. – P. 249-262.
- Ndamukong I., Abdallat A.A., Thurow C., Fode B., Zander M., Weigel R., Gatz C.* SA-inducible Arabidopsis glutaredoxin interacts with TGA factors and suppresses JA-responsive PDF1.2 transcription // *Plant J.* – 2007. – V. 50. – P. 128-139.
- Noctor G., Gomez L., Vanacker H., Foyer C.H.* Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signalling // *J. Exp. Bot.* – 2002. – V. 53. – P. 1283-1304.
- Oboznyi A.I., Kolupaev Yu.E., Vayner A.A., Yastreb T.O.* The role of superoxide dismutase in inducing of wheat seedlings tolerance to osmotic shock // *J. Stress Physiol. Biochem.* – 2013. – V. 9, Is. 3. – P. 251-261.
- Ozden M., Demirel U., Kahraman A.* Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H₂O₂ // *Sci. Hort.* – 2009. – V. 119. – P. 163-168.
- Pitzschke A., Hirt H.* Mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species signaling in plants // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 351-356.
- Prasad T.K., Anderson M.D., Stewart C.R.* Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings // *Plant Physiol.* – 1994. – V. 105. – P. 619-627.
- Prasad Sh.M., Dwivedi R., Zeeshan M., Singh R.* UV-B and Cadmium induced changes in pigments, photosynthetic electron transport activity, antioxidant levels and antioxidative enzyme activities of *Riccia* sp. // *Acta Physiol. Plant.* – 2004. – V. 26. – P. 423-430.

- Pucciariello C., Banti V., Perata P.* ROS signaling as common element in low oxygen and heat stresses // *Plant Physiol. Biochem.* – 2012. – V. 59. – P. 3-10.
- Rhoads D.M., Umbach A.L., Subbaiah C.C., Siedow J.N.* Mitochondrial reactive oxygen species. contribution to oxidative stress and interorganellar signaling // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 357-366.
- Sagi M., Fluhr R.* Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 336-340.
- Scarpeci T.E., Zanor M.I., Carrillo N., Mueller-Roeber B., Valle E.M.* Generation of superoxide anion in chloroplasts of *Arabidopsis thaliana* during active photosynthesis: a focus on rapidly induced genes // *Plant Mol. Biol.* – 2008. – V. 66. – P. 361-378.
- Shao N., Krieger-Liszkay A., Schroda M., Beck C.F.* A Reporter system for the individual detection of hydrogen peroxide and singlet oxygen: its use for the assay of reactive oxygen species produced *in vivo* // *Plant J.* – 2007. – V. 50. – P. 475-487.
- Shao H.B., Chu L.Y., Lu Zh.H., Kang C.M.* Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells // *Int. J. Biol. Sci.* – 2008. – V. 4. – P. 8-14.
- Suzuki I., Kanasaki Y., Hayashi H., Hall J.J., Simon W.J., Slabas A.R., Murata N.* The histidine kinase Hik34 is involved in thermotolerance by regulating the expression of heat shock genes in *Synechocystis* // *Plant Physiol.* – 2005. – V. 138. – P. 1409-1421.
- 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.
- Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R., Miller G.* ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress // *Plant Cell Environ.* – 2012. – V. 35. – P. 259-270.
- Swanson S., Gilroy S.* ROS in plant development // *Physiol. Plant.* – 2010. – V. 138. – P. 384-392.
- Szabados L., Savoure A.* Proline: a multifunctional amino acid // *Trends Plant Sci.* – 2009. – V. 15, № 2. – P. 89-97.
- Szalai G., Kellos T., Galiba G., Kocsy G.* Glutathione as an antioxidant and regulatory molecule in plants under abiotic stress conditions // *J. Plant Growth Regul.* – 2009. – V. 28. – P. 66-80.
- Vranova E., Inze D., Breusegem F.* Signal transduction during oxidative stress // *J. Exp. Bot.* – 2002. – V. 53. – P. 1227-1236.
- Wahid A., Close T.J.* Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves // *Biol. Plant.* – 2007. – V. 51. – P. 104-109.
- Wohlbach D.J., Quirino B.F., Sussman M.R.* Analysis of the *Arabidopsis* histidine kinase *athk1* reveals a connection between vegetative osmotic stress sensing and seed maturation // *Plant Cell.* – 2008. – V. 20. – P. 1101-1117.
- Zhang Z., Luo Y., Hou Y.-X., Jiang H., Chen Q., Tang H.-R.* Chilling acclimation induced changes in the distribution of H₂O₂ and antioxidant system of strawberry leaves // *Agricult. J.* – 2008. – V. 3, № 4. – P. 286-291.
- Zhong-Guang L., Ming G.* Mechanical stimulation-induced cross-adaptation in plants: an overview // *J. Plant Biol.* – 2011. – V. 54. – P. 358-364.

Надійшла до редакції
14.05.2013 з.

REACTIVE OXYGEN SPECIES AND ANTIOXIDATIVE SYSTEM AT CROSS ADAPTATION OF PLANTS TO ACTIVITY OF ABIOTIC STRESSORS

Yu. E. Kolupaev, A. I. Oboznyi

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

In the review participation of reactive oxygen species (ROS) in processes of direct and cross adaptation of plants to stressful factors is considered. It is noted that the NADPH oxidase which produces a superoxide anion-radical can be one of important oscillators of signalling ROS. Thus the basic signalling messenger among a ROS is the hydrogen peroxide which is formed at the expense of dismutation of a superoxide anion-radical under the influence of superoxide dismutases (SOD). In this connection the SOD is considered not only as an antioxidant enzyme, but also as a constituent of signalling systems. Signals which are formed with ROS participation, lead to intensifying of a gene expression and increase of activity of antioxidant enzymes and, possibly, activation of others stress-protection systems. Antioxidative the complex which consists of enzymatic and low-molecular antioxidants, concerns to stress-protection to the systems involved in formation cross tolerance of

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ І АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА

plants. However depending on the stressor nature, the contribution of separate constituents of this complex to protection of plant tissues can differ.

Key words: *reactive oxygen species, NADPH oxidase, superoxide dismutase, cell signalling, antioxidant enzymes, low-molecular protectors, stress-protection systems, cross tolerance*

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ПРИ ПЕРЕКРЕСТНОЙ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К ДЕЙСТВИЮ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОРОВ

Ю. Е. Колупаев, А. И. Обозный

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

В обзоре рассмотрен вопрос об участии активных форм кислорода (АФК) в процессах прямой и перекрестной адаптации растений к стрессовым факторам. Отмечается, что одним из важных генераторов сигнальных АФК может быть НАДФН-оксидаза, которая продуцирует супероксидный анион-радикал. При этом основным сигнальным посредником среди АФК является пероксид водорода, который образуется за счет дисмутации супероксидного анион-радикала под действием супероксиддисмутазы (СОД). В связи с этим СОД рассматривается не только как антиоксидантный фермент, но и как компонент сигнальных систем. Сигналы, которые формируются с участием АФК, приводят к усилению экспрессии генов и повышению активности антиоксидантных ферментов и, вероятно, активации других стресс-протекторных систем. Антиоксидантный комплекс, который состоит из ферментативных и низкомолекулярных антиоксидантов, относится к стресс-протекторным системам, задействованным в формировании перекрестной устойчивости растений. Однако в зависимости от природы стрессора, вклад отдельных компонентов этого комплекса в защиту растительных тканей может отличаться.

Ключевые слова: *активные формы кислорода, НАДФН-оксидаза, супероксиддисмутаза, клеточная сигнализация, антиоксидантные ферменты, низкомолекулярные антиоксиданты, стресс-протекторные системы, перекрестная устойчивость*