

УДК 581.1

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА С АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ КИСЛОРОДА И ИОНАМИ КАЛЬЦИЯ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ РАСТЕНИЙ

© 2017 г. Ю. В. Карпец¹, Ю. Е. Колупаев^{1,2}

¹Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина
(Харьков, Украина)

В обзоре проанализированы и обобщены литературные и собственные данные об изменении содержания эндогенного оксида азота у растений при адаптации и влиянии доноров оксида азота на устойчивость к абиотическим стрессорам. Обсуждается роль нитратредуктазы, фермента, подобного NO-синтазе животных, и других энзиматических систем в образовании NO в клетках растений, а также взаимодействие различных путей синтеза оксида азота. Проанализирована роль кальция и активных форм кислорода (АФК) в регуляции активности ферментов, генерирующих NO. Рассмотрено влияние оксида азота на кальциевый гомеостаз, а также на процессы генерации и обезвреживания АФК в растительных клетках. Особое внимание уделено роли S-нитрозилирования, нитрования по тирозину и нитрозилирования металлов в регуляции активности антиоксидантных ферментов. Приводятся сведения о функциональном взаимодействии NO с другими сигнальными посредниками при трансдукции сигналов стрессовых фитогормонов. Сделано заключение о центральной роли оксида азота в функционировании сложной сигнальной сети растительных клеток.

Ключевые слова: оксид азота, нитратредуктаза, фермент, подобный NO-синтазе животных, кальций, активные формы кислорода, сигналинг, антиоксидантные ферменты, адаптивные реакции растений

В последнее десятилетие стало общепризнанным представление о том, что формирование адаптивных реакций растений на действие факторов среды происходит с участием неорганических сигнальных посредников – ионов кальция и активных форм кислорода (АФК), азота и серы (Kolupaev et al., 2015; Savvides et al., 2016). Главным представителем активных форм азота (АФА) является монооксид азота (NO) – липофильная молекула, способная легко диффундировать через мембраны. Как свободный радикал оксид азота имеет высокую реакционную способность и может превращаться в другие АФА – NO⁻ (нитроксильный (нитрозония) анион), NO⁺ (нитрозильный (нитрозония) катион), NO₂⁺ (нитрониум (нитрил)

катион), ONOO⁻ (пероксинитрит), ONOOH (пероксиазотистая кислота), NO₂⁻ (нитрит анион), NO₃⁻ (нитрат анион), N_xO_x (разные оксиды азота), а также продукты нитрозилирования, нитрования, которые тоже входят в группу активных форм азота (Глянько, Ищенко, 2017). Особенностью действия NO, H₂O₂ и H₂S в биологических системах является посттрансляционная модификация белков: нитрование по тирозиновым остаткам, S-нитрозилирование, карбонилирование, сульфгидратация (Antoniou et al., 2016; Farnese et al., 2016). Мишенями таких модификаций могут быть белки сигнальных систем, ферменты, регулирующие содержание АФК и АФА в клетках, различные протеинкиназы и протеинфосфатазы, транскрипционные факторы. В частности, в качестве целевых генов, экспрессия которых регулируется NO, рассматриваются MAP-киназы (Antoniou et al., 2016).

Адрес для корреспонденции: Карпец Юрий Викотрович,
Харьковский национальный аграрный университет им.
В.В. Докучаева, п. Докучаевское-2, Харьков, 62483, Украина;
e-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Функции оксида азота у растений целенаправленно изучаются с 1998 года (Delledonne et al., 1998; Durner et al., 1998). Установлено, что как важная внутри- и межклеточная сигнальная молекула, оксид азота участвует в регуляции клеточного цикла растительной клетки, процессах прорастания семян, деэтиоляции, ризогенеза (Corteza-Aragunde et al., 2004; Lamote et al., 2005; Wilson et al., 2008), взаимодействия растений с симбионтами (Глянько, Васильева, 2010; Del Giudice et al., 2011) и патогенами (Мамаева и др., 2015). Показано, что оксид азота задействован в трансдукции сигналов, стимулирующих синтез фитогормонов, в частности, этилена (Mur et al., 2003; Wilson et al., 2008), абсцизовой кислоты (АБК) (Xing et al., 2004) и ауксина (Tewari et al., 2008). В последнее время оксиду азота отводится особая роль в процессах адаптации растений к действию абиотических стрессоров самой различной природы, в т. ч. гипо- и гипертермии, избыточного освещения, ультрафиолета, засоления, тяжелых металлов (Laspina et al., 2005; Zhang et al., 2006; Xu et al., 2010; Бакакина и др., 2011; Krasnylenko et al., 2012; Карпец и др., 2015a).

В то же время известно, что NO может оказывать и цитотоксическое действие (Crawford, Guo, 2005). Высокие концентрации оксида азота токсичны для растений в связи с его способностью как взаимодействовать с биомакромолекулами, так и вступать в реакции, приводящие к образованию АФК (Oz et al., 2015). Одним из механизмов влияния NO на про-/антиоксидантное равновесие в растительных клетках может быть как положительная, так и отрицательная модификация ферментов, участвующих в генерации и обезвреживании АФК (Мамаева и др., 2015). В целом физиологические эффекты оксида азота во многом определяются его взаимодействием с АФК, как химическим, так и (в большей степени) функциональным (Niu et al., 2016).

Также есть основания констатировать наличие тесных функциональных связей между оксидом азота и кальциевым гомеостазом, что обусловлено его влиянием на состояние кальциевых каналов разных типов (Kolupaev et al., 2015). В свою очередь кальциевый гомеостаз может влиять на образование АФК (например, путем активации НАДФН-оксидазы (Baxter et al., 2014)) и NO (также путем регуляции активности ферментов, генерирующих оксид азота) (Courtois et al., 2008; Neill et al., 2008).

Лишь в последние годы исследователи стали осознавать сложность способов функци-

онального взаимодействия между АФА, АФК и кальцием в растительных клетках. Анализ и обобщение литературных и собственных данных о роли таких взаимодействий в формировании адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров и является целью настоящего обзора.

Оксид азота при адаптации растений к действию стрессоров

Большой массив экспериментальных данных, свидетельствующих о роли оксида азота в адаптации растений к абиотическим стрессорам, получен путем обработки растительных объектов донорами NO с последующим определением устойчивости к тому или иному стресс-фактору. Известно более 15 классов, включающих более 300 соединений, которые могут выступать донорами NO (Wang et al., 2002). Но чаще всего в качестве доноров NO используют спермидин- или диэтиламин-NONOаты, S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин, S-нитрозоглутатион (GSNO) и нитропруссид натрия (НПН) (Mur et al., 2013; Мамаева и др., 2015). НПН является наиболее популярным донором оксида азота. Он относится к фоточувствительным соединениям и разлагается на свету с образованием NO. Однако есть сведения о том, что в темноте может не происходить интенсивного его разложения (Мамаева и др., 2015), в связи с чем в экспериментах возможны методические артефакты. В то же время известно, что в биологических системах высвобождение NO из НПН происходит в неферментативных и ферментативных реакциях в присутствии восстановителей (НАДН и НАДФН, тиолов и, возможно, аскорбата) (Wang et al., 2002) и мембрано-связанных ферментов (вероятно, НАДФН-оксидазы и другие) (Wang et al., 2002; Diniz et al., 2017).

Для доказательства физиологического действия НПН как донора оксида азота, а не как сложного комплексного соединения проводятся эксперименты с использованием скавенджеров NO, которые зачастую нивелируют физиологические эффекты НПН (Mur et al., 2013).

В отдельных работах по индуцированию устойчивости растений к стрессорам как источники образования NO использованы L-аргинин (Barand et al., 2015) и нитрат (Seabra et al., 2016). Тем не менее, наиболее часто для исследований действия экзогенного NO на устойчивость растений к стрессорам в качестве его донора используют именно НПН.

Достаточно давно было показано, что обработка проростков риса донором оксида азота

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

НПН повышала их тепло- и солеустойчивость, при этом происходила активация антиоксидантных ферментов, усиливалась экспрессия генов ферментов, причастных к синтезу пролина и малого БТШ 26 (Uchida et al., 2002).

Показано также, что донор оксида азота НПН повышал солеустойчивость молодых растений кукурузы. При этом возрастала активность вакуолярной H^+ -АТФазы и H^+ -РРазы, за счет чего усиливались транслокация протонов и обмен Na^+/H^+ (Zhang et al., 2006). Другой донор NO S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин вызывал повышение солестойчивости растений нута, что сопровождалось увеличением активности и усилением экспрессии генов антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и аскорбатпероксидазы при солевом стрессе (Ahmad et al., 2016).

Обработка проростков пшеницы донором оксида НПН активировала их рост при засухе, облучении ультрафиолетом В и комбинировании этих стресс-факторов. Защитный эффект НПН, по мнению авторов, в значительной степени связан с активацией антиоксидантных ферментов (Тян, Лей, 2007).

Также показано положительное влияние НПН на теплоустойчивость колеоптилей и интактных проростков пшеницы (Карпец и др., 2011; 2015). Похожие результаты были получены и при индуцировании теплоустойчивости каллусной культуры пшеницы действием НПН (El-Beltagi et al., 2016). Установлено положительное влияние L-аргинина, сопровождающееся повышением содержания эндогенного NO, на холодоустойчивость растений фисташки (Barand et al., 2015).

В большом количестве исследований получены данные о влиянии доноров NO на устойчивость растений к токсическому действию металлов (Thapa et al., 2012; Nilanjan, Krishnendu, 2017). Так, показано повышение резистентности растений к высоким концентрациям кадмия и цинка под влиянием доноров NO (Xu et al., 2010; Arasimowicz-Jelonek, 2011). Обработка НПН смягчала проявления вызываемого кадмием окислительного стресса, повышая активность каталазы, пероксидазы, СОД и аскорбатпероксидазы у растений разных видов (Hsu, Kao, 2004; Laspina et al., 2005; Wang et al., 2013). Под влиянием НПН повышалась устойчивость проростков пшеницы к алюминию, что сопровождалось увеличением активности СОД, каталазы и аскорбатпероксидазы (Чжан и др., 2008).

Однако результаты экспериментов по индуцированию устойчивости растений донорами оксида азота не могут служить однозначным доказательством участия эндогенного NO в формировании адаптивных реакций. Сведения об изменениях содержания эндогенного оксида азота при действии стресс-факторов и связи этих изменений с формированием устойчивости не столь многочисленны.

Имеются данные о повышении содержания оксида азота у растений разных видов при действии тяжелых металлов (Arasimowicz-Jelonek et al., 2012; Fancy et al., 2016). На культуре клеток табака (Gould et al., 2003) и каллусной культуре тростника (Song et al., 2006) показано усиление синтеза NO в ответ на воздействие гипертермии. Подобные эффекты установлены и на растениях арабидопсиса при действии высоких и низких температур (Бакакина и др., 2009а; 2009б). В работе Song et al. (2013) показано повышение содержания оксида азота в листьях риса при двухчасовом действии закалывающей температуры 38°C. Обработка растений скавенджером оксида азота РТЮ (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide) препятствовала развитию их теплоустойчивости. Эффекты закалывания растений к гипертермии кратковременным действием высоких температур также, по-видимому, реализуются с участием оксида азота. Так, в течение 0,5-2 ч после 1-минутного воздействия на проростки пшеницы температуры 42°C отмечалось повышение содержания оксида азота. При этом обработка проростков скавенджером NO РТЮ нивелировала положительное влияние закалывающего прогрева к последующему повреждающему прогреву (Карпец и др., 2015а).

Заметим, что, по-видимому, индуцированное гипертермией (и, возможно, другими стрессорами) увеличение содержания NO в клетках является универсальной составляющей адаптивных процессов у разных групп организмов. Так, прогрев бактерий *Lactobacillus plantarum* вызывал усиление образования оксида азота, зависимое от NO-синтазы (Яруллина и др., 2010). Примечательно, что у животных в условиях теплового шока также происходит активация генерации NO, что, в свою очередь, необходимо для синтеза протекторных белков БТШ70 (Malyshev et al., 1996). По-видимому, оксид азота является важным стресс-протекторным фактором у организмов разного уровня организации (Яруллина и др., 2010).

Ферментативные системы, задействованные в образовании сигнального NO у растений

Представления об образовании оксида азота у растений до сих пор остаются предметом дискуссии (Mur et al., 2013). Основными считаются L-аргинин- и нитрат/нитрит-зависимые пути (Глянько и др., 2012). Предполагается, что аргинин-зависимый путь синтеза NO аналогичен происходящему в клетках животных. Однако к настоящему времени гомологи NO-синтазы животных выявлены только у зеленых водорослей, но не у высших растений (Roszer, 2014). В то же время есть основания полагать, что у высших растений имеются белки, которые в кооперации могут генерировать NO, используя в качестве субстрата L-аргинин. Эта реакция, как и катализируемая NO-синтазой животных, происходит при наличии НАДФН, ФМН, ФАД, кальмодулина и ионов кальция (Corgas, Barros, 2017).

В пользу представлений о существовании у растений аргинин-зависимого образования NO свидетельствуют многочисленные данные об угнетении его синтеза и многих NO-зависимых процессов действием на растения ингибиторами NO-синтазы животных (Stawford, 2005). Получены экспериментальные данные, указывающие на наличие ферментативной системы, подобной NO-синтазе животных, в хлоропластах, митохондриях и пероксиосомах (Farnese et al., 2016).

В то же время в последние годы получены сведения о значительном (возможно, доминирующем) вкладе в синтез оксида азота пути восстановления нитратов с участием нитратредуктазы (Shi, Li, 2008; Mur et al., 2013). Нитратредуктазная активность, задействованная в синтезе оксида азота в растительных клетках, выявлена преимущественно в цитозоли (Farnese et al., 2016).

Не исключено, что наряду с классической нитратредуктазой нитрат-восстанавливающую активность может проявлять и пероксидаза, гем которой способен взаимодействовать как с пероксидом водорода, так и с нитратом (Галеева и др., 2012). При этом возможно снижение собственной пероксидазной (АФК-обезвреживающей) активности пероксидазы. В связи с этим пероксидаза может быть вовлечена в сложное функциональное взаимодействие между АФК и АФА. В то же время четких экспериментальных доказательств участия пероксидазы в образовании NO у растений пока нет (Minibaeva, Beckett, 2015).

В качестве минорных путей синтеза оксида азота рассматриваются реакции, катализируемые нитрит-NO-редуктазой плазматической мембраны, ксантиноксидоредуктазы пероксиосом, а также восстановление нитрата цитохром-с-оксидазой электрон-транспортной цепи митохондрий (Gupta, Kaiser, 2010; Farnese et al., 2016). Наконец, считается возможным образование оксида азота при окислении полиаминов, вероятно, с помощью Cu-аминоксидазы (Wimalasekera et al., 2001). Однако вклад этих путей в формирование NO-сигналов, участвующих в индуцировании адаптивных реакций растений остается неизученным.

В наших экспериментах показано кратковременное повышение содержания NO в корнях проростков пшеницы после их обработки L-аргинином (Карпец и др., 2017). Этот эффект нивелировался предобработкой корней ингибитором NO-синтазы L-NAME (N^G-nitro-L-arginine methyl ester), что свидетельствует о возможном участии в образовании оксида азота фермента, подобного NO-синтазе животных. С другой стороны, обработка интактных корней пшеницы нитратом приводила к более существенному и продолжительному во времени повышению содержания NO и этот эффект угнетался ингибитором нитратредуктазы вольфраматом натрия (Карпец и др., 2017). Под влиянием обработки проростков пшеницы как L-аргинином, так и нитратом повышалась их устойчивость к повреждающему прогреву, а ингибиторы NO-синтазы и нитратредуктазы снимали данный эффект. Таким образом, можно полагать, что повышения теплоустойчивости проростков пшеницы, связанного с эффектами NO, можно достичь как путем активации аргинин-зависимого образования оксида азота, так и нитрат-зависимого.

По всей вероятности, указанные пути синтеза оксида азота могут индуцироваться не только соответствующими экзогенными субстратами (L-аргинином и нитратом), но и действием на растения стрессоров, в частности гипертермии. Так, повышение содержания NO в проростках арабидопсиса, индуцированное 1-минутным прогревом при 50°C, угнеталось как действием ингибитора нитратредуктазы азидом натрия, так и ингибитора NO-синтазы животных TRIM (1-(2-трифторметилфенил)имидазол) (Бакакина и др., 2009б). Повышение содержания оксида азота в корнях проростков пшеницы, вызываемое 1-минутным закаливающим прогревом, в значительной степени угнеталось ингибитором NO-синтазы животных L-NAME и частично

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

ингибитором нитратредуктазы вольфраматом (Карпец и др., 2014б). Заметим, что такой эффект вольфрамата проявлялся при инкубировании проростков пшеницы на безнитратной среде, что позволяет предполагать вклад нитратвосстанавливающего пути в образование NO даже при минимальном эндогенном содержании нитратов в клетках растений. Эти результаты находятся в согласии с полученными ранее данными о наличии нитратредуктазной активности в листьях 6-10-суточных растений, вырабатываемых на воде (Галеева и др., 2012).

До настоящего времени оставался практически неизученным вопрос о том, как взаимодействуют между собой аргинин- и нитратзависимый пути синтеза оксида азота и как отражается это взаимодействие на формировании NO-индуцированной устойчивости растений. В наших экспериментах получены данные, свидетельствующие о возможном антагонизме этих путей образования NO. Так, L-аргинин значительно уменьшал индуцированное нитратом повышение содержания оксида азота в корнях и развитие теплоустойчивости проростков (Карпец и др., 2017). Иными словами, эти соединения нивелировали положительное действие друг друга как на содержание оксида азота в корнях, так и на теплоустойчивость проростков пшеницы. Примечательно, что ингибирующее влияние L-аргинина на нитрат-стимулируемое образование NO уменьшалось при обработке проростков ингибитором NO-синтазы животных L-NAME (Карпец и др., 2017). Эти результаты согласуются с данными работы Rosales et al. (2011), в которой показано стимулирующее влияние L-NAME на активность нитратредуктазы.

Итак, изложенные выше данные свидетельствуют о роли оксида азота, образующегося, вероятно, за счет активации различных ферментативных систем, в трансдукции сигналов, способствующих развитию устойчивости растений к стрессорам, в частности, к гипертермии. Возникает вопрос, как связаны изменения пула сигнального NO с гомеостазом кальция и АФК и как в свою очередь эти изменения влияют на содержание в клетках других сигнальных посредников?

Ингибиторный анализ функционального взаимодействия NO, АФК и ионов кальция при формировании адаптивных реакций растений

При адаптации к неблагоприятным факторам задействована сеть сигнальных посредников, среди которых особое значение имеют

оксид азота, АФК и кальций (Kolupaev et al., 2015). К настоящему времени в литературе накоплено немало фактов, свидетельствующих о взаимодействии этих посредников.

Так, известно, что ионы кальция, пероксид водорода и оксид азота являются посредниками в стресс-индуцируемом закрывании устьиц. Обработка листьев арабидопсиса 10 мМ хлоридом кальция вызывала увеличение содержания в клетках пероксида водорода, оксида азота и закрывание устьиц. Данные эффекты подавлялись как каталазой, так и скавенджером оксида азота РТЮ (Wang W.H. et al., 2012). Есть основания полагать, что пероксид водорода играет роль индуктора, вызывающего накопление NO, который непосредственно задействован в регуляции состояния устьиц (He et al., 2013). У мутантов арабидопсиса *AtrbohD/F*, дефектных по активности НАДФН-оксидазы и не производящих достаточного количества пероксида водорода, не происходило закрывания устьиц, индуцированного действием УФ-В. Однако обработка этих растений донором NO приводила к проявлению способности закрывать устьица. С другой стороны, обработка пероксидом водорода мутантов *nial-2*, дефектных по синтезу оксида азота, не вызывала подобного эффекта (He et al., 2013).

При действии ионов меди на культуру морской водоросли *Ulva compressa* отмечалось повышение содержания в клетках оксида азота, пероксида водорода и ионов кальция (Gonzalez et al., 2012). При этом обработка клеток скавенджером NO нивелировала повышение концентрации внутриклеточного кальция, а антагонисты кальция снимали подъем NO. В то же время повышение содержания пероксида водорода в клетках снималось блокаторами кальциевых каналов, но не скавенджером оксида азота.

В наших экспериментах обработка проростков антагонистами кальция (хелатором внеклеточного кальция ЭГТА, неспецифическим блокатором кальциевых каналов хлоридом лантана и ингибитором фосфатидилинозитол-специфичной фосфолипазы С неомицином) нивелировала повышение содержания оксида азота в корнях, вызываемое 1-минутным закаливающим прогревом (рис. 1). Также все три использованных антагониста кальция снимали вызываемое закаливающим прогревом повышение содержания пероксида водорода в корнях. Таким образом, можно констатировать зависимость содержания NO и АФК в растительных клетках от кальциевого гомеостаза. Более

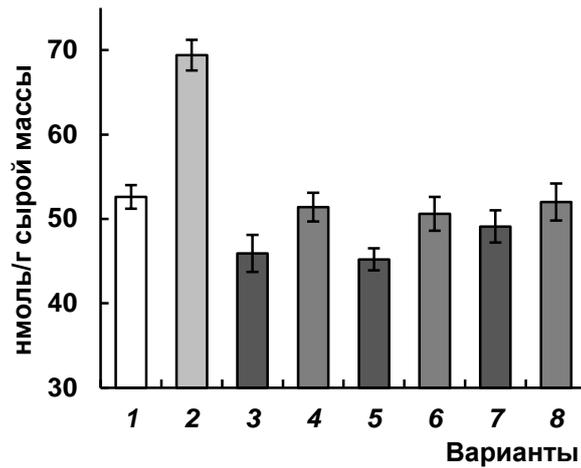


Рис. 1. Влияние антагонистов кальция на содержание оксида азота в корнях проростков пшеницы после закаливающего прогрева (по: Karpets et al., 2015).

1 – контроль; 2 – закаливающий прогрев (42°C, 1 мин); 3 – ЭГТА (500 мкМ), 4 – закаливающий прогрев + ЭГТА; 5 – LaCl₃ (5 мМ); 6 – закаливающий прогрев + LaCl₃; 7 – неомисин (200 мкМ); 8 – закаливающий прогрев + неомисин.

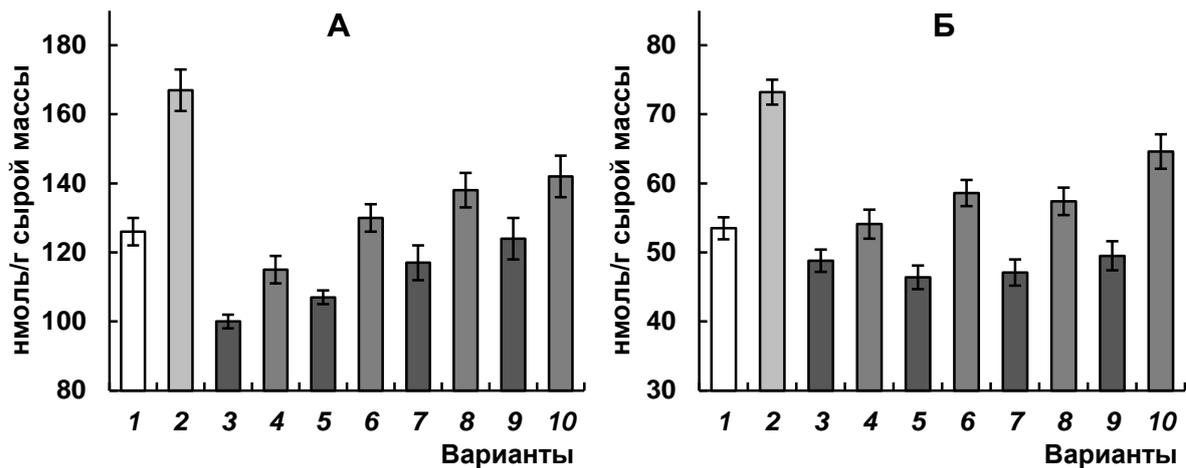


Рис. 2. Влияние антиоксидантов и ингибиторов NO-синтазы и нитратредуктазы на содержание пероксида водорода (А) и оксида азота (Б) в корнях проростков пшеницы после закаливающего прогрева (по: Karpets et al., 2015).

1 – контроль; 2 – закаливающий прогрев (42°C, 1 мин); 3 – ионол (50 мкМ); 4 – закаливающий прогрев + ионол; 5 – ДМТМ (150 мкМ); 6 – закаливающий прогрев + ДМТМ; 7 – L-NAME (2 мМ); 8 – закаливающий прогрев + L-NAME; 9 – Na₂WO₄ (1 мМ); 10 – закаливающий прогрев + Na₂WO₄.

того, нами показано, что обработка проростков пшеницы различными кальциевыми антагонистами (ЭГТА, LaCl₃ и неомисин) уменьшала эффекты повышения содержания оксида азота в корнях при действии экзогенного H₂O₂ (Карпец и др., 2016б). В свою очередь эти же антагонисты кальция снимали эффект повышения содержания пероксида водорода в корнях проростков пшеницы при их обработке донором NO НПН.

Примечательно, что при сочетанной обработке солью кальция и донором NO тепло-

устойчивость томатов повышалась значительно сильнее, чем после отдельного воздействия НПН либо Ca²⁺ (Siddigui et al., 2017).

Между пероксидом водорода и оксидом азота при формировании ответных реакций на стрессоры и внешние стимулы также происходит функциональное взаимодействие. Об этом свидетельствует наблюдаемое в наших экспериментах подавление стимулированного закаливающим прогревом накопления пероксида водорода в корнях проростков действием ингибиторов как NO-синтазы, так и нитратредуктазы

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

(рис. 2, А). С другой стороны, антиоксиданты ионол и диметилтиомочевина (ДМТМ) подавляли вызываемое прогревом увеличение содержания NO в корнях пшеницы (рис. 2, Б).

В целом, можно говорить о тесном функциональном взаимодействии кальция, АФК и NO при индуцировании теплоустойчивости проростков пшеницы кратковременным прогревом, а также экзогенными ионами кальция, пероксидом водорода и донором NO (Карпец и др., 2016в). Антагонисты кальция блокировали увеличение содержания как АФК, так и NO в растительных тканях при закаливающем прогреве. С другой стороны, антагонисты NO препятствовали увеличению содержания пероксида водорода в корнях, а антиоксиданты подавляли повышение в них количества NO. При этом антагонисты кальция, антиоксиданты и ингибиторы ферментов, генерирующих оксид азота, значительно нивелировали развитие теплоустойчивости проростков после закаливающего прогрева (Karpets et al., 2015).

Участие ионов кальция и АФК в регуляции активности ферментативных систем, генерирующих оксид азота

Как уже отмечалось, основными путями синтеза оксида азота в клетках растений считаются пути, связанные с окислением L-аргинина и восстановлением нитратов. Первый из них реализуется с участием гипотетического белка с активностью, подобной активности NO-синтазы животных, второй – связан с активностью нитратредуктазы. Данные ингибиторного анализа указывают на участие обоих путей в образовании NO в ответ на действие гипертермии на растения арабидопсиса (Бакакина и др., 2009б) и пшеницы (Карпец и др., 2014б). Возникает вопрос, каково участие ионов кальция и АФК как сигнальных посредников в регуляции активности этих ферментов?

Как отмечалось выше, повышение содержания NO в корнях проростков пшеницы, вызываемое закаливающим прогревом или действием пероксида водорода, нивелировалось кальциевыми антагонистами, что косвенно указывает на роль кальция в активации NO-генерирующих ферментативных систем. Хорошо известно, что растительный фермент, подобный NO-синтазе животных, активируется с участием кальция и/или кальмодулина (Courtois et al., 2008; Mur et al., 2013; Chakraborty, Acharya, 2017). С другой стороны, есть сведения о том, что фосфорилирование нитратредуктазы, приводящее к повышению ее активности, также

является кальцийзависимым процессом (Mur et al., 2013).

Недавно появилось сообщение о новом кальций-зависимом механизме изменения содержания оксида азота в растительных клетках, не связанном с регуляцией активности NO-синтезирующих ферментов. При адаптации растений арабидопсиса к солевому стрессу отмечалось усиление экспрессии генов, кодирующих две формы кальмодулина – AtCaM1 и AtCaM4, что в свою очередь отражалось на содержании NO в клетках (Zhou et al., 2016). Показано, что кальмодулин снижал активность S-нитрозоглутатионредуктазы, переводящей оксид азота в связанную форму, и тем самым способствовал повышению количества оксида азота. В этой же работе показано, что зависимое от кальмодулиновой системы повышение содержания NO необходимо для регуляции ионных потоков и поддержания ионного баланса в клетках при солевом стрессе.

В целом же данных о роли кальция в формировании NO-сигналов в растительных клетках пока очень мало.

Еще менее исследовано влияние АФК на активность ферментов, генерирующих NO. Однако помимо сведений о повышении содержания NO в растительных тканях под действием экзогенного пероксида водорода (Zhang et al., 2007; Карпец и др., 2015а; 2016в), есть и косвенные данные, указывающие на возможность активации нитратредуктазы пероксидом водорода (Dubovskaya et al., 2011).

Нами изучено влияние экзогенного пероксида водорода на активность нитратредуктазы в корнях проростков пшеницы. Обработка корней 1 и 10 мМ растворами пероксида водорода вызывала заметное повышение активности фермента (рис. 3). Эффекты активации нитратредуктазы пероксидом водорода проявлялись при инкубации корней проростков пшеницы как на среде, содержащей нитрат натрия, так и на безнитратной среде. Это указывает на возможность активации нитратредуктазы пероксидом водорода даже при минимальном содержании нитратов в растительных клетках и согласуется с данными о частичном подавлении ингибитором нитратредуктазы вольфраматом натрия образования NO в растительных клетках, индуцируемого экзогенным пероксидом водорода (Карпец и др., 2016в) или закаливающим прогревом (Карпец и др., 2014б).

Имеются сведения о том, что формирование ответных реакций растений на засуху, в т.ч. известный эффект закрывания устьиц происхо-

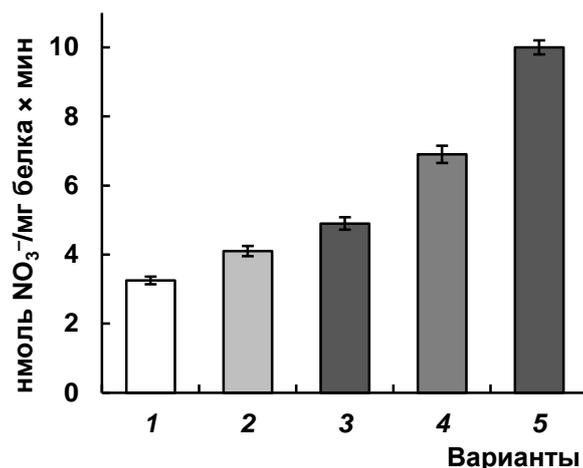


Рис. 3. Влияние пероксида водорода и нитрата на активность нитратредуктазы (нмоль NO₃⁻/мг белка × мин) в корнях пшеницы (Карпец, Колупаев, неопубликованные данные).

1 – контроль; 2, 3 – пероксид водорода в концентрациях 1 и 10 мМ, соответственно; 4 – нитрат натрия (5 мМ); 5 – нитрат натрия (5 мМ) + пероксид водорода (10 мМ).

Примечание. Корни интактных этиолированных 4-суточных проростков пшеницы сорта Досконала обрабатывали указанными растворами в течение 4 ч. Активность нитратредуктазы определяли по методике, описанной Галеевой и др. (2010).

дит с участием пероксида водорода и оксида азота. При этом увеличение содержания последнего происходит под влиянием H₂O₂ (Niu et al., 2016). Иными словами, сигнал NO может быть вторичен по отношению к сигналу пероксида водорода.

Влияние оксида азота на кальцевый гомеостаз в растительных клетках

Известно, что доноры оксида способствуют увеличению содержания цитозольного кальция в растительных клетках (Lamotte et al., 2004). В клетках животных NO-индуцированное открывание кальциевых каналов опосредовано цГМФ, образующимся за счет активации оксидом азота растворимой гуанилатциклазы, которая считается основным рецептором NO (Северина, 1998). Активация гуанилатциклазы клеток животных оксидом азота происходит путем связывания его с гемом. В свою очередь цГМФ может активировать АДФ-рибозилциклазу, которая образует цАДФ-рибозу, участвующую в открывании внутриклеточных кальциевых каналов (Тарчевский, 2002). Развитие события, укладывающегося в такую схему, было описано в работе Klessig et al. (2000). Авторы показали, что селективный антагонист цАДФ-рибозы (8-бромо-цАДФ-рибоза) угнетал в листьях табака NO-индуцированное накопление связанных с патогенезом белков PR-1.

Более 10 лет назад появились сведения о наличии у арабидопсиса растворимого белка AtGC1 (Guanylyl Cyclase1) с участками, харак-

терными для каталитических доменов растворимой гуанилатциклазы цианобактерий, высших и низших эукариот (Ludidi, Gehring, 2003). Однако оказалось, что, несмотря на структурное сходство с растворимой гуанилатциклазой животных и бактерий, белок AtGC1 не обладает способностью связывать NO (Ludidi, Gehring, 2003). Позднее гомолог растворимой гуанилатциклазы был выявлен у зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* (de Montaigu et al., 2010), однако попытки его выявления у высших растений пока успехом не увенчались (Baudouin, 2011). При этом экспериментально доказано существование NO-опосредованного образования цГМФ в растительных клетках. Так, показано, что у растений арабидопсиса при холодовом стрессе повышалось содержание как NO, так и цГМФ. Ингибитор нитратредуктазы азид натрия нивелировал вызываемое холодом повышение содержания цГМФ в тканях (Бакакина и др., 2009а). Более того, накопление цГМФ устранялось обработкой растений ингибитором гуанилатциклазы 6-анилинохинолино-5,8-хиноном. В другой работе показано снятие этим ингибитором увеличения в проростках арабидопсиса содержания цГМФ, вызываемого действием донора NO НПН (Бакакина и др., 2009б). Под влиянием донора оксида азота НПН у трансгенных растений *Nicotiana plumbaginiflora*, экспрессирующих кальцийчувствительный белок апоэжворин, происходило дозозависимое опосредованное цГМФ транзиторное увеличение содержания внутриклеточного

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

кальция (Бакакина и др., 2009в). При этом вызываемое обработкой НПН повышение содержания цитозольного кальция подавлялось действием ингибитора гуанилатциклазы б-анилинохинолино-5,8-хиноном и антагонистом цАДФ-рибозы никотинамидом.

Lamotte et al. (2006) показали, что NO в условиях гиперосмотического стресса активировал кальциевые каналы как плазматической мембраны, так и внутриклеточные, посредством сигналов, включающих деполяризацию плазмалеммы и образование цАДФ-рибозы.

Таким образом, опосредованное гуанилатциклазой, цАМФ, АДФ-рибозилциклазой и цАДФ-рибозой увеличение концентрации цитозольного кальция под влиянием оксида азота, по-видимому, возможно. Однако, в схеме сигналинга остается недостающее звено между NO и цГМФ (Baudouin, 2011).

По-видимому, оксид азота оказывает влияние не только на кальциевые каналы, регулируемые цАДФ-рибозой. Известно, что один из механизмов открывания лигандуправляемых кальциевых каналов в клетках животных связан с активацией фосфатидилинозитол-специфичной фосфолипазы С и накоплением в результате этого продуктов гидролиза фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата (ИФ₂) – диацилглицерола (ДАГ) и инозитол-1,4,5-трифосфата (ИФ₃), выполняющих роль вторичных мессенджеров. ДАГ может активировать мембранные Ca²⁺-зависимые протеинкиназы С, контролируемые (путем фосфорилирования) состояние потенциал-зависимых кальциевых каналов (Lecourieux et al., 2002), а ИФ₃ принимает непосредственное участие в открывании лигандуправляемых кальциевых каналов тонопласта и эндоплазматической сети (Tuteja, Sorogy, 2008). Наличие гомологов мишеней ИФ₃ клеток животных – ИФ₃-рецепторов и протеинкиназы С – у растений до сих пор не подтверждено. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что мобилизация ионов Ca²⁺ и их осцилляции играют важную роль в сигнальном пути, опосредованном фосфатидилинозитол-специфичной фосфолипазой С (Lecourieux et al., 2002). Прямые экспериментальные доказательства индуцированных оксидом азота изменений кальциевого гомеостаза путем активации ИФ₃-чувствительных кальциевых каналов нам пока не известны. Однако имеются косвенные данные, указывающие на возможное участие фосфолипазы С и ИФ₃ в реализации эффектов оксида азота.

Lanteri et al. (2006) наблюдали, что ингибиторы регулируемых ИФ₃ Ca²⁺-каналов вызывают значительное снижение образования боковых корней у растений огурцов при их обработке донором оксида азота. Показано также, что оксид азота у растений задействован как посредник в индуцировании фосфолипазы С патогенными элиситорами (Laxalt et al., 2007). Выявлено, что индуцирование теплоустойчивости растительных клеток, вызываемое донором оксида азота НПН, подавлялось предварительной обработкой ингибитором фосфатидилинозитол-специфичной фосфолипазы С неомицином (Karpets et al., 2015).

Еще один важный механизм, посредством которого NO может влиять на кальциевые каналы, является обратимое фосфорилирование белков, включая протеинкиназы и протеинфосфатазы (Khan et al., 2014). Хорошо известно, что у животных NO модулирует активность различных классов протеинкиназ, но в растениях NO-индуцированные модуляции протеинкиназ остаются малоизученными. Показано, что доноры NO индуцируют активность протеинкиназ в листья табака (Klessig et al., 2000), арабидопсиса (Carone et al., 2004), эксплантатах огурца (Lanteri et al., 2006). Однако эти эффекты не подтверждены молекулярно-генетическими методами. Зависимость индуцированных оксидом азота изменений концентрации цитозольного кальция от активности протеинкиназ в клетках бобов и суспензионной культуре клеток табака была показана с использованием соответствующих ингибиторов – K252a и стауроспорина. Последние снимали увеличение [Ca²⁺]_{цит.}, вызываемое действием доноров NO (Sokolovski et al., 2005; Lamotte et al., 2006).

Влияние оксида азота на генерацию и обезвреживание АФК в растительных клетках

Как уже отмечалось, эффекты оксида азота могут быть как сигнальными, так и цитотоксическими. Их характер во многом зависит от функционального взаимодействия с АФК. В настоящее время накоплено довольно много экспериментальных данных, свидетельствующих о влиянии NO на активность ферментативных систем, генерирующих и обезвреживающих АФК. Причем NO может как активировать, так и ингибировать эти системы. Также возможно прямое взаимодействие оксида азота и АФК, модифицирующее активность редокс-ферментов.

Влияние оксида азота на активность НАДФН-оксидазы. Показано, что в культуре тканей корней женьшеня под влиянием донора NO происходила активация НАДФН-оксидазы и усиливалась генерация супероксидного анион-радикала (Tewari et al., 2008). В наших экспериментах обработка отрезков колеоптилей пшеницы донором оксида азота НПН также вызывала усиление генерации супероксидного анион-радикала. Этот эффект связан, по-видимому, с повышением активности НАДФН-оксидазы, поскольку угнетался ее ингибитором имидазолом (Карпец и др., 2011). Известно, что в генерации сигнальных АФК может быть задействована и внеклеточная пероксидаза (Minibaeva et al., 2001). Однако при обработке НПН активность этой формы фермента в колеоптилях пшеницы не изменялась, а ингибитор пероксидазы (салицилгидроксамовая кислота) не влиял на индуцируемую донором NO генерацию супероксидного анион-радикала (Карпец и др., 2011). Антиоксидант ионол и ингибитор НАДФН-оксидазы имидазол снимали вызываемое донором NO повышение теплоустойчивости растительных клеток. Таким образом, АФК, генерируемые с участием НАДФН-оксидазы, выступают посредниками в процессе индуцирования оксидом азота защитных реакций.

НАДФН-оксидаза относится к кальций-зависимым ферментам (Baxter et al., 2014). В настоящее время получены экспериментальные данные, свидетельствующие о существовании, как минимум, двух механизмов кальций-зависимой активации НАДФН-оксидазы. Один из них связан с влиянием кальция на протеинкиназу, активирующую НАДФН-оксидазу (Wong et al., 2007), другой – с прямым взаимодействием Ca^{2+} с каталитической субъединицей этого фермента (Ogasawara et al., 2008). В связи с этим представляется вполне логичным, что вызываемая в наших экспериментах донором оксида азота активация образования супероксидного радикала на поверхности отрезков колеоптилей оказалась кальций-зависимым процессом. Установлено, что хелатор кальция ЭГТА, ингибитор фосфатидилинозитол-специфичной фосфолипазы С неомидин, а также антагонист синтеза цАДФ-рибозы (ингибитор АДФ-рибозилциклазы) никотинамид частично снимали вызываемый донором оксида азота эффект усиления генерации супероксидного анион-радикала растительными клетками (Карпец и др., 2015б). Можно полагать, что в индуцируемом оксидом азота усилении генерации АФК, которое связано с повышением активности НАДФН-оксидазы, задействованы

кальциевые каналы разных типов. Выяснение механизмов влияния оксида азота на их состояние требует специальных исследований.

Помимо кальций-зависимых механизмов регуляции активности НАДФН-оксидазы существует и механизм, связанный с действием фосфатидной кислоты. В каталитической субъединице НАДФН-оксидазы установлено наличие сайта связывания с фосфатидной кислотой, выступающей в роли ее активатора (Marino et al., 2012; Baxter et al., 2014). Не исключено, что фосфатидная кислота как посредник задействована в активации НАДФН-оксидазы растительных клеток экзогенным оксидом азота. Известно, что под влиянием оксида азота может происходить усиление образования фосфатидной кислоты, обусловленное активацией фосфолипазы D (Lanteri et al., 2008). В наших экспериментах вызываемое донором оксида азота усиление генерации АФК в колеоптилях пшеницы нивелировалось предварительной обработкой бутанолом-1 – антагонистом зависящего от фосфолипазы D образования фосфатидной кислоты, но не его неактивным гомологом бутанолом-2 (Karpets et al., 2012). Вполне естественно, что для однозначного заключения об участии фосфатидной кислоты в регуляции активности НАДФН-оксидазы при действии оксида азота необходимо непосредственное определение ее содержания в клетках. В целом же представляется вполне вероятным, что активация НАДФН-оксидазы при действии экзогенного оксида азота происходит с участием как различных пулов кальция, так и фосфатидной кислоты.

С другой стороны, имеются данные о том, что NO может ингибировать НАДФН-оксидазу за счет S-нитрозилирования цистеина (Cys 890) (Yun et al., 2011). Таким образом, лишь за счет модуляции активности НАДФН-оксидазы возможно различное по характеру влияние оксида азота на образование АФК.

Влияние оксида азота на активность антиоксидантных ферментов. Эффекты NO могут быть обусловлены прямой посттрансляционной модификацией молекул ферментативных белков и влиянием на экспрессию соответствующих генов.

Модификации белков, вызываемые NO, образующимся упомянутыми выше путями (рис. 4), включают в себя S-нитрозилирование, нитрование остатков тирозина, и металл-нитрозилирование (Astier, Lindermaуt, 2012).

S-нитрозилирование представляет собой обратимое связывание NO с атомом серы, при-

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

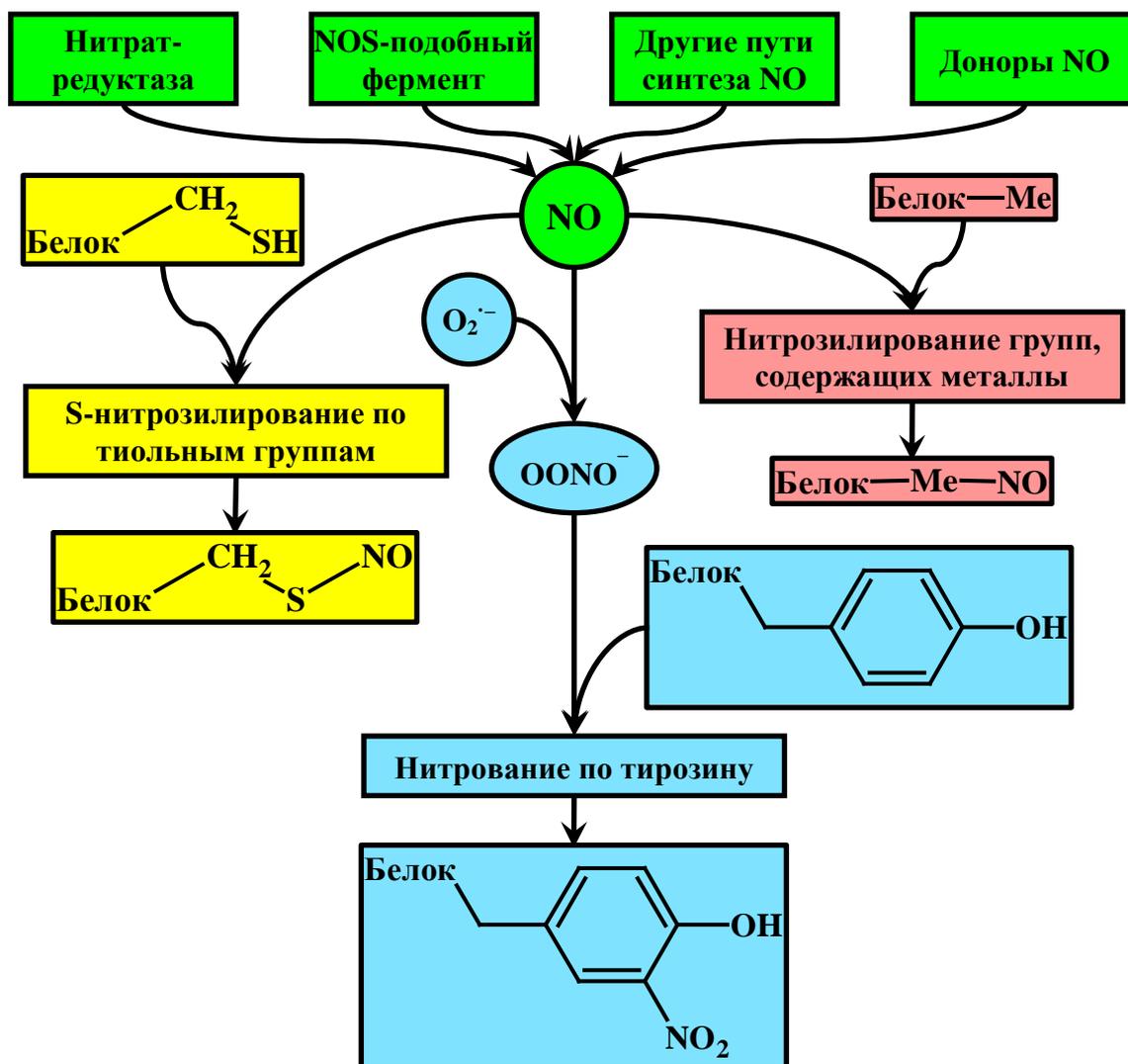


Рис. 4. Посттрансляционная модификация белков с участие оксида азота и АФК.

водящее к образованию S-нитрозотиола (-SNO) (рис. 4). Этот процесс не ферментативный, степень S-нитрозилирования зависит от реакционной способности нитрозилирующего агента и окислительно-восстановительного потенциала микроокружения (Aroga et al., 2016). Это очень избирательная, как правило, ограниченная конкретными остатками цистеина, посттрансляционная модификация белков. Считается, что она является одним из механизмов быстрого восприятия клеточных сигналов и адаптации к изменениям сигналов окружающей среды (Aroga, Bhatla, 2015).

Нитрование белков по тирозину состоит во включении нитрогруппы (-NO₂) в остаток тирозина (обычно в *орто*-положении фенольной гидроксильной группы), что приводит к образованию 3-нитротирозина (Radi et al., 2004) (рис. 4). Агентом нитрования является пероксинитрит, образующийся при взаимодействии

оксида азота с супероксидным анион-радикалом (Freschi, 2013). Титрозиновое нитрование белков может приводить как к активации, так и к ингибированию активности целевых белков (Aroga et al., 2016). Нитрование белков по тирозину считается одним из маркеров нитрозативного стресса (Ischiropoulos, 2003).

Нитрозилирование металлсодержащих белков происходит при взаимодействии NO с ионами переходных металлов, входящих в состав металлопротеинов, и приводит к образованию металло-нитрозильных комплексов (рис. 4). NO может связываться с различными металлическими центрами (Fe, Cu, Zn) металлопротеинов (Ford, 2010; Aroga et al., 2016). Формирование металло-нитрозильных комплексов вызывает обратимые конформационные изменения белков и изменяет их структуру и/или функциональную активность (Cooper, 1999).

Описанные выше механизмы влияния оксида азота на белки в полной мере относятся и к антиоксидантным ферментам, активность которых изменяется вследствие взаимодействия NO с тиольными группами или переходными металлами, входящими в состав активных центров, в особенности с гемом (Brown, 1995). Считается, что сходство NO с молекулярным кислородом (O₂) в отношении размера молекулы, гидрофобности и парамагнитных свойств предполагает, что любой гемсодержащий фермент, который реагирует с кислородом, может быть потенциальной мишенью для ингибирования NO (Cooper, 1999).

Супероксиддисмутаза является единственным ферментативным антиоксидантом, обезвреживающим супероксидный анион-радикал. Она выполняет роль первичного рубежа против АФК (Alscher et al., 2002). Такую функцию СОД связывают с тем, что, элиминируя супероксидные радикалы, этот фермент опосредованно уменьшает вероятность образования гидроксильных радикалов, синглетного кислорода, пероксинитрита и других АФК, которые в силу высокой реакционной способности не могут быть удалены белковыми катализаторами (Колупаев, 2016). СОД представлена значительным количеством молекулярных форм. В их активных центрах могут быть такие металлы, как Cu, Zn, Mn, Fe. Cu/Zn-СОД (M_r 30-33 kD) является наиболее распространенной формой этого фермента в клетках растений. Она локализована в цитозоли, хлоропластах, митохондриях, пероксисомах и апопласте. Менее распространенными являются Mn-СОД и Fe-СОД (Колупаев, 2016).

Имеются данные о возможности регуляции оксидом азота СОД не только на генетическом уровне, но также путем посттрансляционных модификаций (Agora, Bhatla, 2015). Эндогенная доступность NO также может регулироваться изоформами СОД посредством конкуренции за общий субстрат, супероксидные анионы и высвобождение NO из его донорного соединения – S-нитрозоглутатиона (GSNO), быстро разлагающегося под влиянием Cu/Zn-СОД в присутствии H₂O₂ с образованием окисленного глутатиона (GSSG) и NO (Singh et al., 1999).

Каталаза представляет собой гемсодержащий фермент, катализирующий разложение H₂O₂ на воду и молекулярный кислород и локализующийся преимущественно в пероксисомах (Колупаев, 2016). NO связывается с железом в составе гема и приводит к образованию трехва-

лентного железа, что предотвращает связывание пероксида водорода с ионом металла, тем самым ингибируя каталазную активность (Agora et al., 2016). Четыре молекулы NO образуют комплекс с каждым каталазным тетрамером. Путем удаления оксида азота из сайтов связывания каталазы можно восстановить ферментативную активность нативной каталазы. Пероксид водорода способствует связыванию оксида азота с каталазой (Brunelli et al., 2001).

Несмотря на наличие довольно многочисленных данных об ингибировании каталазы оксидом азота и нитрозосоединениями, механизмы этого явления раскрыты не полностью. Так, сравнительно недавно было показано, что сильное ингибирующее действие на каталазу может оказывать оксид азота в форме ионизированной молекулы NO⁺ (ионов нитрозония), причем этот эффект может быть связан с его взаимодействием с тиольными группами фермента (Титов и др., 2008).

Ингибирование активности каталазы обработкой NO и пероксинитритом показано в экспериментах, проведенных на растениях табака и корнях пшеницы (Klessig et al., 2000; Singh et al., 2008). С другой стороны, сообщается и об активации каталазы оксидом азота за счет процесса нитрозилирования (Bai et al., 2011). В наших экспериментах при исследовании влияния разных концентраций донора оксида азота НПН на активность каталазы колеоптилей пшеницы показано, что *in vivo* донор NO в концентрациях 100 и 200 мкМ вызывал повышение активности каталазы, в то время как при действии концентрации 500 мкМ отмечалось ее ингибирование (рис. 5). Можно полагать, что в зависимости от концентрации оксид азота может вызывать различные модификации молекул фермента (например нитрозилирование металла или S-нитрозилирование тиольных остатков), что может оказывать противоположное влияние на его активность. С другой стороны, в системе *in vivo* накладываются как возможные эффекты прямой посттрансляционной модификации молекул фермента, так и действие оксида азота как сигнальной молекулы, способной опосредованно влиять на экспрессию соответствующих генов. В наших экспериментах установлено, что активирующее влияние низких концентраций НПН на активность каталазы в колеоптилях пшеницы не проявлялось в присутствии антиоксиданта ионола, ингибитора НАДФН-оксидазы имидазола и различных антагонистов кальция (Карпец и др., 2016в).

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

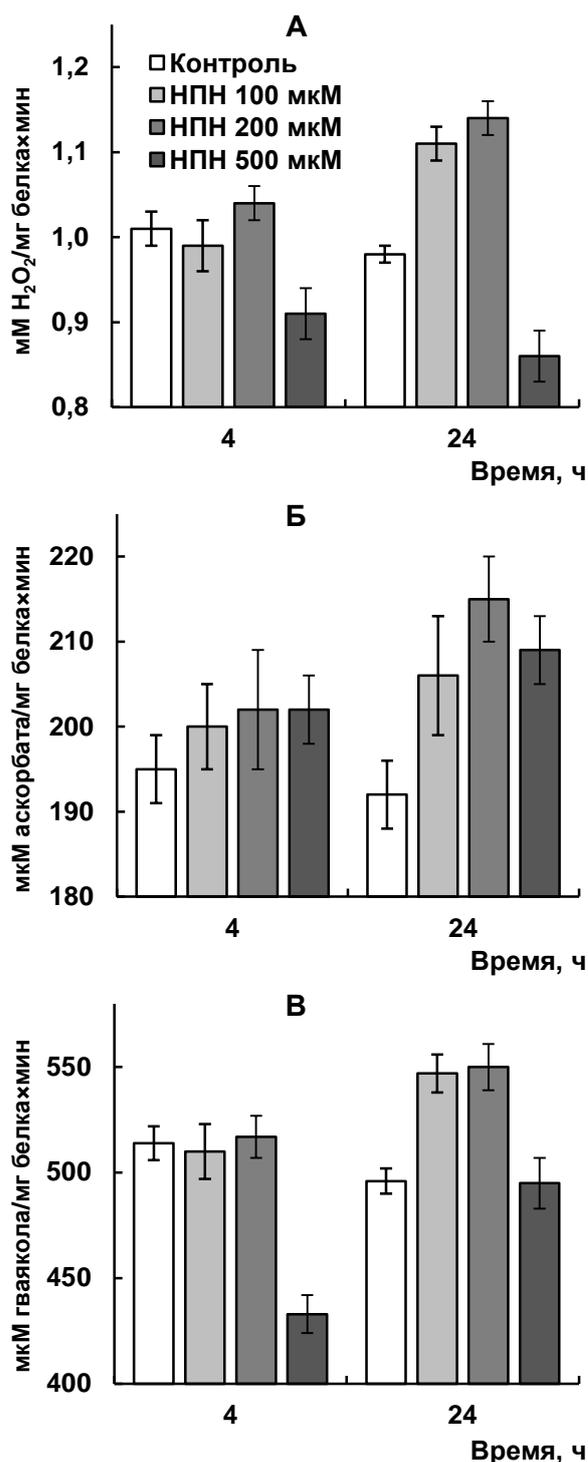


Рис. 5. Концентрационная зависимость влияния НПН на активность каталазы (А), аскорбатпероксидазы (Б) и гваяколпероксидазы (В) в coleoptилях пшеницы сорта Досконала через 4 и 24 ч от начала обработки (Карпец, Колупаев, неопубликованные данные).

Примечание. НПН вносили в основную среду инкубации coleoptилей (2% раствор сахарозы с добавлением натриевой соли пенициллина (100 тыс. ед./л). Активность ферментов определяли по методикам, описанным ранее (Карпец и др., 2014а).

Аскорбатпероксидаза и неспецифическая пероксидаза, как и каталаза, являются гемсодержащими ферментами. Они локализованы в цитоплазме и различных клеточных компартментах (Колупаев, 2016). Только в нескольких работах зафиксирована способность NO к связыванию с гемом пероксидаз (см. обзор: Aroga et al., 2016). Так, например, показано, что доноры NO ингибируют активность неспецифической пероксидазы у *Zinnia elegans*. Предполагалось, что NO обратимо ингибирует активность пероксидазы табака путем образования железо-нитроксильного комплекса с атомом железа в составе гема (Clark et al., 2000). Донор пероксинитрита вызывал тирозинное нитрование цитоплазматической аскорбатпероксидазы *in vivo* у растений арабидопсиса (Lozano-Juste et al., 2011).

В наших экспериментах обработка coleoptилей пшеницы донором оксида азота НПН в концентрации 500 мкМ вызывала временное ингибирование активности гваяколпероксидазы (рис. 5). Более низкие концентрации донора NO оказывали активирующее действие на этот фермент. В то же время аскорбатпероксидаза не ингибировалась действием НПН, а при использовании концентрации 200 мкМ отмечено повышение активности фермента (рис. 5). Активирующее влияние 200 мкМ НПН на гваякол- и аскорбатпероксидазу в условиях *in vivo* могло быть связано не с прямой модификацией ферментов оксидом азота, а с влиянием последнего как сигнальной молекулы на экспрессию соответствующих генов, поскольку угнеталось антиоксидантом ионолом, ингибитором продуцента супероксидных анион-радикалов НАДФН-оксидазы имидазолом и одним из антагонистов кальция неомицином (Карпец и др., 2016б). Заметим, однако, что в работе, выполненной на листьях кукурузы, не зафиксировано ингибирования антиоксидантом диметилтиомочевинной и ингибитором НАДФН-оксидазы дифениленидоцином эффекта повышения активности каталазы и аскорбатпероксидазы, вызываемого действием НПН (Zhang et al., 2007). Не исключено, что может существовать несколько механизмов изменения активности антиоксидантных ферментов действием NO, среди них как прямая модификация молекул фермента, так и влияние на синтез фермента, опосредованное другими сигнальными

молекулами или ионами.

Взаимодействие оксида азота с глутатионом. Глутатион – трипептид (L-γ-глутамил-L-цистеинилглицин (GSH), M_r 307 Да), выступающий в роли восстановителя благодаря тиольной группе цистеина. Защитное действие глутатиона сопровождается окислением SH-группы и превращением в дисульфид глутатиона (GSSG). Считается, что детоксикация H_2O_2 с участием глутатиона может проходить двумя путями. Первый состоит в восстановлении H_2O_2 глутатионом в реакции, катализируемой глутатионпероксидазой. Второй путь восстановления пероксида водорода связан с окислением аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбата под действием аскорбатпероксидазы. Образовавшийся дегидроаскорбат может восстанавливаться до аскорбиновой кислоты за счет ферментативного и неферментативного окисления глутатиона (Foyer, Noctor, 2009).

Оксид азота оказывает прямое и косвенное влияние на функционирование аскорбат-глутатионового цикла у растений (Agora et al., 2015). Так, NO реагирует с GSH с образованием S-нитрозоглутатиона (GSNO), который обладает способностью транснаитрозировать белки (Chaki et al., 2011). Также S-нитрозоглутатион рассматривается как транспортер молекул NO, участвующий в сигналинге (Agora et al., 2016). GSNO является мощным индуктором защитных генов (del Rio et al., 2006).

NO обладает способностью стимулировать синтез глутатиона (Agora et al., 2016). С другой стороны, оксид азота может ингибировать глутатионредуктазу, нитрозилируя сульфгидрильные группы в ее активном центре (Beltran et al., 2000). В то же время NO может повышать активность глутатионредуктазы *in vivo* (Zhang et al., 2007), что, вероятно, связано с усилением экспрессии соответствующего гена за счет активации сигнальной сети.

Прямое взаимодействие АФК и NO, по-видимому, вносит вклад не только в изменения окислительно-восстановительного баланса, но и в процессы клеточного сигналинга. При реакции NO с $O_2^{\cdot-}$ образуется токсичный пероксинитрит ($ONOO^-$), который, как уже отмечалось, может нитровать белки по тирозину. С другой стороны, в определенных условиях NO, по-видимому, может действовать как антиоксидант. Так, показано уменьшение оксидом азота цитотоксического действия АФК (H_2O_2) на клетки млекопитающих (Wink et al., 1993) и растений (Дубовская и др., 2007).

Функциональное взаимодействие NO с другими сигнальными посредниками при трансдукции сигналов стрессовых фитогормонов

Известно, что реализация физиологических эффектов стрессовых фитогормонов происходит с участием ряда сигнальных посредников, среди которых особая роль принадлежит ионам кальция, АФК и оксиду азота (Bartoli et al., 2013; Колупаев и др., 2016). В последние годы интенсивно изучается сигналинг салициловой и жасмоновой кислот, брассинотероидов, а также классического растительного гормона абсцизовой кислоты (АБК) (Колупаев и др., 2016).

Известно, что NO является ключевым посредником в процессах закрывания устьиц у растений под влиянием АБК. При этом увеличению содержания NO в клетках обычно предшествует повышение концентрации ионов кальция в цитозоли, активация им НАДФН-оксидазы, усиление генерации АФК, индуцирующих синтез NO. Последний модифицирует соответствующие белки, что и приводит к изменению ионных потоков в замыкающих клетках и закрыванию устьиц (Fancy et al., 2016).

В то же время данные о влиянии экзогенных жасмоновой и салициловой кислот на содержание оксида азота в растительных тканях немногочисленны и отчасти противоречивы. Так, показано повышение количества NO в ответ на действие салициловой кислоты у растений сои (Klepper et al., 1991) и женьшеня (Tewari, Paek, 2011). Однако в работе Alavi et al. (2014) сообщается, что NO участвует в индуцировании салициловой кислотой устойчивости растений пшеницы к осмотическому стрессу, вызываемому полиэтиленгликолем. При этом положительное влияние салициловой кислоты на активность СОД, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы устранялось скавенджером оксида азота метиленовым синим. В то же время при обработке салицилатом в корнях томатов, повергнутых солевому стрессу, отмечалось снижение содержания оксида азота (Gemes et al., 2011). С другой стороны, комбинированная обработка салициловой кислотой и донором оксида азота нитропруссидом натрия более эффективно индуцировала солеустойчивость хлопчатника (Liu et al., 2014) и резистентность пшеницы к никелю (Siddiqui et al., 2011) по сравнению с действием каждого соединения в отдельности.

Показано повышение содержания оксида азота у растений арабидопсиса в ответ на обра-

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

ботку жасмоновой кислотой (Huang et al., 2004). Индуцируемое экзогенной ЖАК образование латеральных корней у риса угнеталось сквенджером NO РТЮ (Hsu, Kao, 2011). Недавно показано, что этим антагонистом оксида азота подавлялось вызываемое ЖАК повышение эффективности функционирования аскорбат-глутатионового цикла в листьях пшеницы при засухе (Shan et al., 2011).

В наших экспериментах показано, что под влиянием обоих фитогормонов в корнях проростков происходило небольшое транзитное увеличение содержания пероксида водорода с максимумом через 30 мин после начала обработки (Карпец и др., 2016а). Повышение содержания оксида азота под влиянием жасмоната и салицилата было более существенным и продолжалось в течение 2 ч с момента начала обработки проростков. Предобработка антиоксидантом диметилтиомочевинной (ДМТМ) нивелировала эффект повышения содержания NO в корнях, вызываемый жасмоновой и салициловой кислотами. При предварительном воздействии на проростки ДМТМ, как и при их предобработке сквенджером оксида азота РТЮ и ингибитором NO-синтазы L-NAME, заметно угнеталось развитие теплоустойчивости проростков, индуцируемое действием обоих фитогормонов (Карпец и др., 2016а).

В экспериментах с использованием коллоидов пшеницы нами было показано, что вызываемое экзогенными салициловой и жасмоновой кислотами усиление генерации АФК подавлялось ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом (Колупаев и др., 2012; Карпец и др., 2014а). Возможно, что быстрая активация этого фермента фитогормонами и кратковременное увеличение количества АФК (в частности, относительно стабильного пероксида водорода, выполняющего сигнальные функции (Колупаев et al., 2015)) прямо или опосредованно активирует более продолжительное увеличение содержания оксида азота в клетках. Следует отметить, что на разных растительных объектах зарегистрировано повышение содержания NO в клетках под влиянием экзогенного пероксида водорода (Zhang et al., 2007; Xu et al., 2008). Как уже отмечалось, под влиянием пероксида водорода может активироваться, по крайней мере, один из ферментативных источников NO – нитратредуктаза (рис. 3). В то же время в наших экспериментах положительное влияние жасмоновой и салициловой кислот на теплоустойчивость проростков частично нивелировалось их обработкой L-NAME, что указы-

вает на возможную роль в образовании оксида азота и фермента, подобного NO-синтазе животных.

Усиление генерации пероксида водорода и оксида азота, вызываемое фитогормонами жасмоновой и салициловой кислотами, зависит от флуктуации содержания кальция как универсального посредника, задействованного в трансдукции гормональных сигналов (Колупаев, Ястреб 2013; Колупаев и др., 2016б). Как уже отмечалось, что НАДФН-оксидаза, генерирующая АФК, и фермент, подобный NO-синтазе животных, являются кальцийзависимыми. Фосфорилирование нитратредуктазы, приводящее к повышению ее активности, также является кальцийзависимым процессом.

Имеются данные, свидетельствующие об участии NO и его функциональном взаимодействии с АФК при реализации физиологических эффектов brassinosterоидов. Так, показано, что у растений огурца антагонисты NO снимали вызываемые БС эффекты повышения устойчивости к параквату, нивелировали усиление экспрессии генов антиоксидантных ферментов и повышение их активности (Cui et al., 2011). Авторами сделано заключение, что индуцируемое БС образование NO происходит при посредничестве АФК, поскольку нивелируется сквенджером пероксида водорода ДМТМ и ингибитором НАДФН-оксидазы дифениленионидиумом. Обработка растений табака brassinolidом вызывала повышение их солеустойчивости (Zhu et al., 2016). Этот эффект сопровождался повышением содержания оксида азота в листьях и нивелировался при обработке сквенджером NO РТЮ и ингибитором нитратредуктазы вольфраматом натрия. Также установлено участие АФК и оксида азота в процессе индуцирования brassinolidом системной устойчивости растений табака к вирусам (Deng et al., 2016). В работе Zhang et al. (2011) показано, что обработка растений кукурузы brassinosterоидом вызывала увеличение в них содержания АБК и повышение засухоустойчивости при посредничестве NO. Содержание АБК повышалось и при действии донора NO НПН. При этом РТЮ снимал эффект повышения содержания АБК, вызываемый brassinosterоидом и (или) агентом осмотического стресса полиэтиленгликолем.

Связь АФК и NO как сигнальных посредников с ионами кальция при реализации эффектов brassinosterоидов остается изученной очень слабо, хотя в последние годы появились сведения о повышении содержания цитозоль-

ного кальция в клетках растений при их обработке brassinosterоидами (Zhao et al., 2013; Yan et al., 2015; Straltsova et al., 2015).

Заклучение

Действие на растения стресс-факторов и разнообразных стимулов приводит к активации клеточной сигнальной сети. Наряду со специфическими белками, ее функционирование обеспечивают неорганические клеточные посредники: ионы кальция, АФК, оксид азота, сероводород и др. Есть основания полагать, что от их функционального взаимодействия критически зависит сценарий развития физиологических процессов, который может идти как по пути активации протекторных систем и адаптации к неблагоприятному фактору, так и по пути программируемой клеточной гибели (Clarke et al., 2000; Neill et al., 2002). В настоящем обзоре внимание сосредоточено на процессах индуцирования адаптивных реакций растений с участием оксида азота при его тесном взаимодействии с процессами кальциевого и АФК-сигналинга.

О значении NO в адаптации растений к абиотическим стрессорам свидетельствует огромный массив данных об индуцировании устойчивости действием доноров оксида азота.

Значительно меньше экспериментальных данных об изменениях внутриклеточного содержания оксида азота (особенно в конкретных компартментах) при действии стресс-факторов, стрессовых фитогормонов или иных стимулов. Однако имеющиеся данные все же достаточно надежно свидетельствуют о значении (а в большинстве случаев о критической необходимости) оксида азота для формирования адаптивных реакций растений.

Причины повышения внутриклеточного содержания оксида азота при действии на растения стрессоров и стимулов до конца не известны. Уже в течение двух десятилетий продолжается дискуссия о существовании у растений NO-синтазы, подобной соответствующему ферменту животных. Однако молекулярно-генетических доказательств ее существования у высших растений до сих пор не получено, хотя у зеленой водоросли найден гомолог NO-синтазы животных. С другой стороны, не вызывает сомнений наличие у растений L-аргинин-зависимого пути синтеза оксида азот как такового. Остается выяснить природу каталитического комплекса, генерирующего оксид азота путем окисления L-аргинина.

В последние годы активизировалось изучение роли нитратредуктазы в образовании ок-

сида азота за счет восстановления нитратов. Есть основания полагать, что в некоторых случаях этот путь может иметь больший вклад в генерацию NO по сравнению с L-аргинин-зависимым. В то же время почти не исследованным остается вопрос о взаимном влиянии этих путей синтеза NO. Нами впервые показан антагонизм влияния экзогенных L-аргинина и нитрата на содержание оксида азота в тканях (Карпец и др., 2017). При этом остается открытым вопрос о проявлении такого механизма в отсутствие достаточно высоких концентраций экзогенных источников NO.

Одним из механизмов функционального взаимодействия NO с АФК и ионами кальция, по-видимому, является их влияние на ферментативные системы, образующие оксид азота. Лишь в последние годы получены данные, указывающие на роль кальция не только в регуляции активности ферментов, генерирующих NO, но и в превращениях оксида азота в другие химические формы. В частности, интересным феноменом представляется ингибирование особыми формами кальмодулина S-нитрозоглутатионредуктазы, приводящее к уменьшению связывания NO в S-нитрозоглутатион и, как следствие, к увеличению концентрации свободного оксида азота.

Сведения о влиянии АФК на активность ферментов, генерирующих NO, также получены, однако пока нет прямых данных о редокс-зависимых механизмах регуляции активности этих ферментов.

В свою очередь оксид азота способен оказывать влияние на кальциевый гомеостаз. Однако известны не все звенья, с помощью которых происходит индуцированное действием NO открывание кальциевых каналов в растительных клетках. Так, до сих пор не ясно, существует ли в растительных клетках фермент, аналогичный гуанилатциклазе животных и образующий цГМФ, который, влияя на АДФ-рибозилциклазу, активирует образование цАДФ-рибозы, открывающей определенные типы внутриклеточных кальциевых каналов. Также неясно, как происходит открывание кальциевых каналов продуктами реакции, катализируемой фосфатидилинозитол-специфичной фосфолипазой C, поскольку в растительных клетках до сих пор не найдены гомологи ИФ₃-рецепторов, существующие в кальциевых каналах животных клеток. Неясен и механизм активации оксидом азота протеинкиназ, участвующих в регуляции состояния кальциевых каналов растительных клеток.

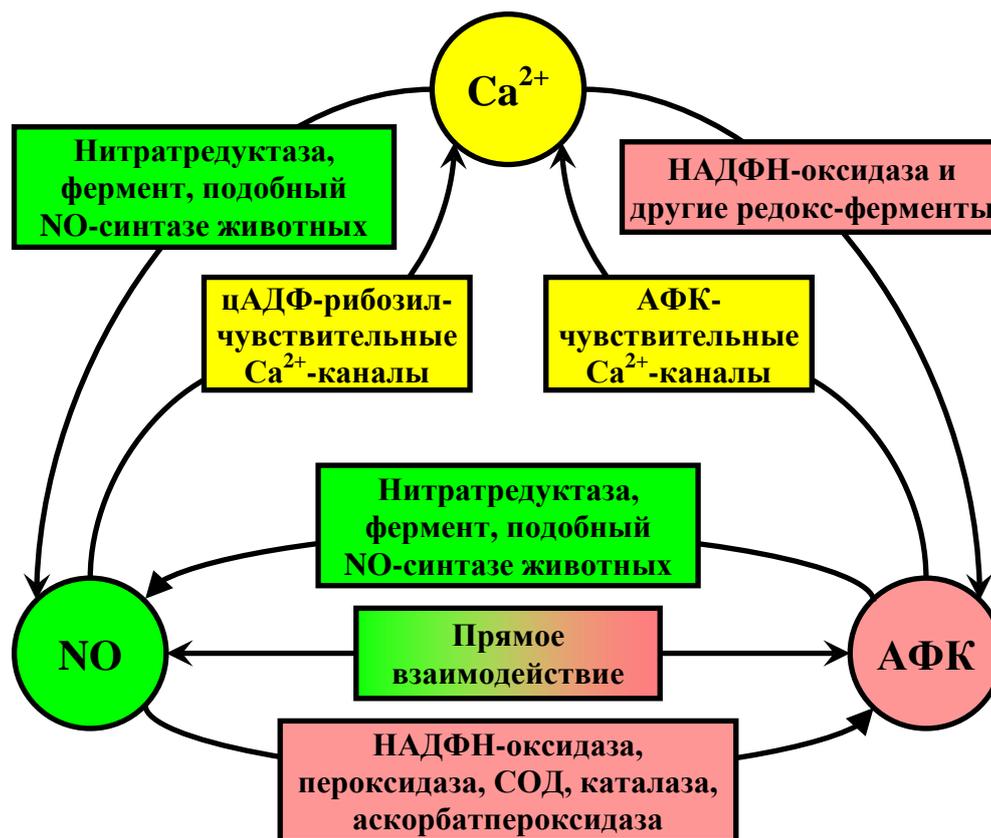


Рис. 6. Функциональное взаимодействие оксида азота, АФК и ионов кальция при формировании ответных реакций растительных клеток на действие стрессоров.

Оксид азота оказывает существенное влияние на генерацию и обезвреживания АФК в клетках растений. В зависимости от количества и, по-видимому, компартиментации оксид азота может тонко регулировать образование и утилизацию АФК в растительных клетках. Это связано как с модификацией активности основного АФК-генерирующего фермента НАДФН-оксидазы, так и с изменением активности антиоксидантных ферментов. Последние могут поддаваться S-нитрозилированию по цистеиновым остаткам, нитрованию по тирозину либо нитрозилированию металлов, входящих в состав активных центров ряда антиоксидантных ферментов. При этом в зависимости от характера взаимодействия возможна как активация, так и ингибирование антиоксидантных ферментов оксидом азоту. С другой стороны, ингибирование антиоксидантных ферментов и накопление АФК может индуцировать экспрессию генов этих ферментов. Заметный вклад в регуляцию содержания АФК оксидом азота и функционирование аскорбат-глутатионового цикла вносят и процессы, связанные с взаимодействием NO с глутатионом, а также прямым взаимодействием между АФК и NO.

Упрощенно обсуждаемые в настоящем обзоре процессы функционального взаимодействия сигнальных посредников можно представить в виде схемы (рис. 6). Воздействие абиотического стрессора раньше всего вызывает изменения кальциевого гомеостаза. Они могут быть обусловлены, например, открыванием механочувствительных кальциевых каналов, обусловленного температурным или иным изменением состояния плазматической мембраны. Ионы кальция могут прямо или опосредованно активировать ферментативные системы, генерирующие АФК (например, НАДФН-оксидазу) и NO (фермент, подобный NO синтазе животных, и нитратредуктазу). Повышение активности этих ферментов приводит к увеличению содержания в клетках АФК и АФА. При этом АФК и оксид азота могут усиливать сигналы друг друга, а также способствовать дополнительному поступлению кальция в цитозоль. АФК и АФА модифицируют собственные белковые мишени, среди которых могут быть как обычные ферменты (например, антиоксидантные), так и ферменты, обслуживающие сигнальные сети (например, различные протеинкиназы), а также факторы регуляции тран-

скрипции. Таким образом, сигналы АФК могут прямо либо путем влияния на экспрессию генов приводить к изменениям активности ферментов, обеспечивающих реализацию ключевых защитных реакций.

Оксид азота задействован также в трансдукции сигналов стрессовых фитогормонов – салициловой, жасмоновой, абсцизовой кислот и брассиностероидов. При этом его эффекты реализуются во взаимодействии с другими сигнальными посредниками – ионами кальция и АФК. Возможно, что во многих случаях накоплению в клетках NO как сигнальной молекулы предшествует выход кальция в цитозоль, активация НАДФН-оксидазы и повышение содержания АФК в тканях. По крайней мере, фармакологическими методами показана роль NO в формировании защитных реакций, индуцируемых действием стрессовых фитогормонов, а также участие АФК в индуцировании накопления NO.

В последние годы установлено, что помимо кальция и АФК, с оксидом азота функционально взаимодействует сероводород. При этом обработка растений экзогенными АФК, донорами NO или H₂S могут активировать одни и те же защитные реакции, индуцируя общие компоненты сигнальной сети (Savvides et al., 2016). Заметим, что механизмы взаимодействия оксида азота с сероводородом изучены значительно слабее, чем с другими посредниками, в частности, неясно «местонахождение» H₂S и NO в сигнальной сети. Сообщается как о зависимости физиологических реакций, индуцируемых оксидом азота, от сероводорода, так и наоборот (Wang Y. et al., 2012; Li et al., 2013). Таким образом, выяснение механизмов взаимодействия оксида азота и сероводорода как сигнальных молекул только начинается. При этом эффекты обоих сигнальных молекул обусловлены в основном с модификацией белков, вследствие чего можно предполагать их взаимодействие между собой, связанное, по крайней мере, с наличием общих белковых мишеней (Antoniou et al., 2016).

В целом, экзогенные АФК, доноры оксида азота и сероводорода, а также соли кальция и салициловая кислота в настоящее время рассматриваются как соединения, очень перспективные для прайминга – индуцирования устойчивости растений до момента влияния на них стрессовых факторов (Antoniou et al., 2016). Указанные соединения являются достаточно дешевыми и способны индуцировать широкий спектр универсальных защитных реакций, по-

лезных для устойчивости растений к стресс-факторам различной природы. При этом сочетанное действие этих посредников нередко позволяет усилить положительный физиологический эффект. В то же время успешное практическое применение воздействий, активирующих сигнальные сети растительных клеток, по видимому, возможно лишь при более четких представлениях о функциональном взаимодействии сигнальных посредников между собой и природе реакций, индуцируемых за счет такого взаимодействия.

ЛИТЕРАТУРА

- Бакакина Ю.С., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д. Влияние холодного стресса на внутриклеточную концентрацию NO и эндогенное содержание цГМФ в проростках *Arabidopsis thaliana* // Весці Нац. акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2009а. – № 3. – С. 43-46.
- Бакакина Ю.С., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д. Влияние высокотемпературного стресса на внутриклеточную концентрацию NO и эндогенное содержание цГМФ в проростках *Arabidopsis thaliana* // Весці Нац. акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2009б. – № 4. – С. 34-39.
- Бакакина Ю.С., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д. Влияние оксида азота на внутриклеточную концентрацию ионов кальция в трансгенных растениях *Nicotiana plumbaginiflora* // Весці Нац. акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2009в. – № 4. – С. 28-33.
- Бакакина Ю.С., Колеснева Е.В., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д. Участие оксида азота и циклического гуанозинмонофосфата в регуляции концентрации ионов Ca²⁺ в цитозоле клеток *Arabidopsis thaliana* при температурном стрессе // Весці Нац. акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2011. – № 1. – С. 50-56.
- Галева Е.И., Трифонова Т.В., Пономарева А.А., Викторовна Л.В., Мунбаева Ф.В. Нитратредуктаза листьев *Triticum aestivum*: регуляция активности и возможная роль в образовании оксида азота // Биохимия. – 2012. – Т. 77, № 4. – С. 512-520.
- Глянько А.К., Васильева Г.Г. Активные формы кислорода и азота при бобово-ризобийном симбиозе (Обзор) // Прикл. биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46, № 1. – С. 21-28.
- Глянько А.К., Ищенко А.А. Активные формы кислорода и азота – возможные медиаторы системной устойчивости у бобовых при действии ризобийной инфекции // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2017. – Вип. 1 (40). – С. 9-20.
- Глянько А.К., Митанова Н.Б., Степанов А.В. Влияние факторов среды на генерацию оксида азота (NO) в корнях этиолированных проростков горо-

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

- ха // Прикл. биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 1. – С. 95-102.
- Дубовская Л.В., Колеснева Е.В., Князев Д.М., Волотовский И.Д.* Защитная роль оксида азота при окислительном стрессе, индуцированном в растениях табака пероксидом водорода // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 6. – С. 847-855.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А.* Функциональное взаимодействие оксида азота и пероксида водорода при формировании индуцированной теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. – 2015а. – Т. 62, № 1. – С. 72-78.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Дмитриев А.П.* Индуцирование синтеза NO в корнях проростков пшеницы и развития их теплоустойчивости экзогенными L-аргинином и нитратом // Доповіді НАН України. – 2017. – № 7. – С. 77-84.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Косаковская И.В.* Оксид азота и пероксид водорода как сигнальные посредники при индуцировании теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенными жасмоновой и салициловой кислотами // Физиология растений и генетика. – 2016а. – Т. 48, № 2. – С. 158-166.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Луговая А.А., Обозный А.И.* Влияние экзогенной жасмоновой кислоты на про-/антиоксидантную систему колеоптилей пшеницы в связи с устойчивостью к гипертермии // Физиология растений. – 2014а. – Т. 61, № 3. – С. 367-375.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Обозный А.И., Ястреб Т.О.* Влияние антагонистов кальция на генерацию активных форм кислорода и развитие теплоустойчивости колеоптилей пшеницы, индуцируемые донором NO // Физиология растений и генетика. – 2015б. – Т. 47, № 4. – С. 338-346.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В., Луговая А.А.* Участие оксида азота в развитии теплоустойчивости проростков пшеницы, индуцированной кратковременным прогревом // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2014б. – Вип. 1 (31). – С. 47-54.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В., Ястреб Т.О.* Индуцирование теплоустойчивости растительных клеток и активация антиоксидантных ферментов под действием оксида азота зависят от изменений кальциевого гомеостаза // Годичное собрание Общества физиологов растений России. Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма. (21–24 июня 2016, С.-Петербург, Россия). – СПб.: Изд-во С.-Петербург. гос. ун-та, 2016б. – С. 331.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О.* Влияние нитропруссиды натрия на теплоустойчивость колеоптилей пшеницы: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 6. – С. 883-890.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И.* Индуцирование теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенными кальцием, пероксидом водорода и донором оксида азота: функциональное взаимодействие сигнальных посредников // Физиология растений. – 2016в. – Т. 63, № 4. – С. 521-531.
- Колупаев Ю.Е.* Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений // Успехи соврем. биологии. – 2016. – Т. 136, № 2. – С. 181-198.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Луговая А.А.* Сигнальные посредники в реализации физиологических эффектов стрессовых фитогормонов // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2016. – Вип. 1 (37). – С. 42-52.
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О.* Стресс-протекторные эффекты салициловой кислоты и ее структурных аналогов // Физиология и биохимия культ. растений. – 2013. – Т. 45, № 2. – С. 113-126.
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Швиденко Н.В., Карпец Ю.В.* Индукция теплоустойчивости колеоптилей пшеницы салициловой и янтарной кислотами: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Прикл. биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 5. – С. 550-556.
- Мамаева А.С., Фоменков А.А., Носов А.В., Мошков И.Е., Мур Л.А.Дж., Холл М.А., Новикова Г.В.* Регуляторная роль оксида азота у растений // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 4. – С. 459-474.
- Северина И.С.* Растворимая гуанилатциклаза в молекулярном механизме физиологических эффектов оксида азота // Биохимия. – 1998. – Т. 63, вып. 7. – С. 939-947.
- Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
- Титов В.Ю., Петренко Ю.М., Ванин А.Ф.* Механизмы ингибирования каталазы нитро- и нитрозосоединениями // Биохимия. – 2008. – Т. 73, вып. 1. – С. 113-118.
- Тян С.Р., Лей Ю.Б.* Физиологические ответные реакции проростков пшеницы на засуху и облучение УФ-Б. Влияние нитропруссиды натрия // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 5. – С. 763-769.
- Чжан Х., Ли Я.Х., Ху Л.Ю., Ван С.Х., Чжан Ф.К., Ху К.Д.* Влияние обработки листьев пшеницы донором окиси азота на антиокислительный метаболизм при стрессе, вызванном алюминием // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 4. – С. 523-528.

- Яруллина Д.Р., Смоленцева О.А., Колпаков А.И., Ильинская О.Н. Высокотемпературный стресс активизирует синтез оксида азота у *Lactobacillus plantarum* // Докл. АН [Россия]. – 2010. – Т. 430, № 5. – С. 709-711.
- Ahmad P., Latef A.A. A., Hashem A., Abd_Allah E.F., Guzel S., Tran L.S.P. Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea // Front. Plant Sci. – 2016. – V. 7:347. – doi: 10.3389/fpls.2016.00347
- Alavi S.M.N., Arvin M.J., Kalantari K.M. Salicylic acid and nitric oxide alleviate osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings // J. Plant Interact. – 2014. – V. 9, № 1. – P. 683-688.
- Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants // J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53. – P. 1331-1341.
- Antonίου C., Savvides A., Christou A., Fotopoulos V. Unravelling chemical priming machinery in plants: the role of reactive oxygen–nitrogen–sulfur species in abiotic stress tolerance enhancement // Curr. Opin. Plant Biol. – 2016. – V. 33. – P. 101-107.
- Arasimowicz-Jelonek M., Floryszak-Wieczorek J., Gwóźdź E.A. The message of nitric oxide in cadmium challenged plants // Plant Sci. – 2011. – V. 181, № 5. – P. 612-620.
- Arasimowicz-Jelonek M., Floryszak-Wieczorek J., Deckert J., Rucińska-Sobkowiak R., Gzyl J., Pawlak-Sprada S., Abramowski D., Jelonek T., Gwóźdź E.A. Nitric oxide implication in cadmium-induced programmed cell death in roots and signaling response of yellow lupine plants // Plant Physiol. Biochem. – 2012. – V. 58. – P.124-134.
- Arora D., Bhatla S.C. Nitric oxide triggers a concentration-dependent differential modulation of superoxide dismutase (FeSOD and Cu/ZnSOD) activity in sunflower seedling roots and cotyledons as an early and long // Plant Signal. Behav. – 2015. – V. 10, № 10. – e1071753ю – doi: 10.1080/15592324.2015.1071753
- Arora D., Jain P., Singh N., Kaur H., Bhatla S.C. Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants // Free Radical Res. – 2016. – V. 50. – P. 291-303. – doi: 10.3109/10715762.2015. 1118473
- Astier J., Lindermayr C. Nitric oxide-dependent posttranslational modification in plants: an update // Int. J. Mol. Sci. – 2012. – V. 13. – P. 15193-15208.
- Bai X, Yang L, Tian M, Chen J, Shi J, Yang Y, Hu X. Nitric oxide enhances desiccation tolerance of recalcitrant *Antiaris toxicaria* seeds via protein S-nitrosylation and carbonylation // PLoS One. – 2011. – e20714.
- Barand A., Nasibi F., ManouchehriKalantari Kh. The effect of arginine pretreatment in the increase of coldtolerance in *Pistacia vera* L. *in vitro* // Russ. Agricult. Sci. – 2015. – V. 41, № 5. – P. 340-346.
- Bartoli C.G., Casalongueb C.A., Simontacchia M. Marquez-Garciac B., Foyer C.H. Interactions between hormone and redox signalling pathways in the control of growth and cross tolerance to stress // Environ. Exp. Bot. – 2013. – V. 94. – P. 73-88.
- Baudouin E., Hancock J.T. Nitric oxide signaling in plants // Front. Plant Sci. – 2013. – V. 4: 553. – doi: 10.3389/fpls.2013.00553
- Baxter A., Mittler R., Suzuki N. ROS as key players in plant stress signalling // J. Exp. Bot. – 2014. – V. 65. – P. 1229-1240.
- Beltran B., Orsi A., Clementi E., Moncada S. Oxidative stress and S-nitrosylation of proteins in cells // Br. J. Pharmacol. – 2000. – V. 129. – P. 953-960.
- Brown GC. Nitric oxide regulates mitochondrial respiration and cell functions by inhibiting cytochrome oxidase // FEBS Lett. – 1995. – V. 369. – P. 136-139.
- Brunelli L., Yermilov V., Beckman J.S. Modulation of catalase peroxidatic and catalatic activity by nitric oxide // Free Radical Bio Med. – 2001. V. 30. – P. 709-714.
- Capone R., Tiwari B.S., Levine A. Rapid transmission of oxidative and nitrosative stress signals from roots to shoots in Arabidopsis // Plant Physiol. Biochem. – 2004. – V. 42. – P. 425-428.
- Chaki M., Valderrama R., Fernández-Ocaña A.M., Carreras A., Gómez-Rodríguez M.V., Pedrajas J.R., Begara-Morales J.C., Sánchez-Calvo B., Luque F., Leterrier M., Corpas F.J., Barroso J.B. Mechanical wounding induces a nitrosative stress by downregulation of GSNO reductase and a rise of S-nitrosothiols in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings // J. Exp. Bot. – 2011. – V. 62. – P. 1803-1813.
- Chakraborty N., Acharya K. “NO way”! Says the plant to abiotic stress // Plant Gene. – 2017. – doi: 10.1016/j.plgene.2017.05.001
- Clark D., Dunar J., Navarre D.A., Klessig D.F. Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase // Mol Plant-Microbe Interact. – 2000. – V. 14. – P. 1380-1384.
- Clarke A., Desikan R., Hurst R.D., Hancock J.T., Neill S.J. NO way back: nitric oxide and programmed cell death in Arabidopsis thaliana suspension cultures // Plant J. – 2000. – V. 24. – P. 667-677.
- Cooper C.E. Nitric oxide and iron proteins // Biochem Biophys Acta. – 1999. – V. 1411. – P. 290-309.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

- Corpas F.J., Barroso J.B.* Nitric oxide synthase-like activity in higher plants // *Nitric Oxide*. – 2017. (In Press). – doi: 10.1016/j.niox.2016.10.009
- Correa-Aragunde N., Graziano M., Lamattina L.* Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato // *Planta*. – 2004. – V. 218. – P. 900-917.
- Courtois C., Besson A., Dehan J., Bourque S., Dobrowolska G., Pugin A., Wendehenne D.* Nitric Oxide Signalling in Plants: Interplays with Ca²⁺ and Protein Kinases // *J. Exp. Bot.* – 2008. – V. 59. – P. 155-163.
- Crawford N.M.* Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants // *J. Exp. Bot.* – 2005. – V. 57. – P. 471-478.
- Crawford N.M., Guo F.Q.* New insights into nitric oxide metabolism and regulatory functions // *Trends Plant Sci.* – 2005. – V. 10. – P. 195-200.
- Cui J.X., Zhou Y.H., Ding J.G., Xia X.J., Shi K., Chen S.C., Asami T., Chen Z., Yu J.Q.* Role of nitric oxide in hydrogen peroxide-dependent induction of abiotic stress tolerance by brassinosteroids in cucumberperce // *Plant Cell Environ.* – 2011. – V. 34. – P. 347-358.
- de Montaigu A., Sanz-Luque E., Galvan A., Fernandez E.* A soluble guanylate cyclase mediates negative signalling by ammonium on expression of nitrate reductase in *Chlamydomonas* // *Plant Cell*. – 2010. – V. 22. – P. 1532-1548.
- del Giudice J., Cam Y., Damiani I., Fung-Chat F., Meilhoc E., Bruand C., Brouquisse R., Puppò A., Boscari A.* Nitric oxide is required for an optimal establishment of the *Medicago truncatula* – *Sinorhizobium meliloti* symbiosis // *New Phytol.* – 2011. – V. 191. – P. 405-417.
- del Rio L.A., Sandalio L.M., Corpas F.J., Palma J.M., Barroso J.B.* Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 330-335.
- Delledonne M., Xia Y., Dixon R.A., Lamb C.* Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance // *Nature*. – 1998. – V. 394. – P. 585-588.
- Deng X.G., Zhu T., Zou L.-J., Han X.Y., Zhou X., Xi D.H., Zhang D.W., Lin H.H.* Orchestration of hydrogen peroxide and nitric oxide in brassinosteroid-mediated systemic virus resistance in *Nicotiana benthamiana* // *Plant J.* – 2016. – V. 85. – P. 478-493.
- Diniz M.C., Olivon V.C., Tavares L.D., Simplicio J.A., Gonzaga N.A., de Souza D.G., Bendhack L.M., Tirapelli C.R., Bonaventura D.* Mechanisms underlying sodium nitroprusside-induced tolerance in the mouse aorta: role of ROS and cyclooxygenase-derived prostanoids // *Life Sci.* – 2017. – V. 176. – P. 26-34.
- Durner J., Wendehenne D., Klessig D.F.* Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP and cyclic ADP-ribose // *Proc Natl. Acad. Sci. USA*. – 1998. – V. 95. – P. 10328-10333.
- El-beltagi H.S., Ahmed O.K., Hegazy A.E.* Protective effect of nitric oxide on high temperature induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*) callus culture // *Not. Sci. Biol.* – 2016. – V. 8, №2. – P. 192-198.
- Fancy N.N., Bahlmann A.K., Loake G.J.* Nitric oxide function in plant abiotic stress // *Plant Cell Environ.* – 2017. – V. 40, № 4. – P. 462-472.
- Farnese F.S., Menezes-Silva P.E., Gusman G.S., Oliveira J.A.* When bad guys become good ones: the key role of reactive oxygen species and nitric oxide in the plant responses to abiotic stress // *Front. Plant Sci.* – 2016. – V. 7: 471.
- Ford P.C.* Reactions of NO and nitrite with heme models and proteins // *Inorg. Chem.* – 2010. – V. 49. – P. 6226-6239.
- Foyer C.H., Noctor G.* Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – V. 11. – P. 861-906.
- Freschi L.* Nitric oxide and phytohormone interactions: current status and perspectives // *Front. Plant Sci.* – 2013. – V. 4: 398.
- Gémes K., Poór P., Horváth E., Kolbert Z., Szopkó D., Szepesi A., Tari I.* Cross-talk between salicylic acid and NaCl-generated reactive oxygen species and nitric oxide in tomato during acclimation to high salinity // *Physiol. Plant.* – 2011. – V. 142. – P. 179-192.
- Gonzalez A., Cabrera A.M., Henriquez M.J., Contreras R.A., Morales B., Moenne A.* Cross talk among calcium, hydrogen peroxide, and nitric oxide and activation of gene expression involving calmodulins and calcium-dependent protein kinases in *Ulva compressa* exposed to copper excess // *Plant Physiol.* 2012. – V. 158. – P. 1451-1462.
- Gould K.S., Lamotte O., Klinguer A., Pugin A., Wendehenne D.* Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response? // *Plant Cell Environ.* – 2003. – V. 26. – P. 1851-1862.
- Gupta K.J., Kaiser W.M.* Production and scavenging of nitric oxide by barley root mitochondria // *Plant Cell Physiol.* – 2010. – V. 51. – P. 576-584.
- He J.M., Ma X.G., Zhang Y., Sun T.F., Xu F.F., Chen Y.P., Liu X., Yue M.* Role and interrelationship of Ga protein, hydrogen peroxide, and nitric oxide in ultraviolet B-induced stomatal closure in *Arabidopsis* leaves // *Plant Physiol.* 2013. – V. 161. – P. 1570-1583.
- Hsu Y.T., Kao C.H.* Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves // *Plant Growth Regul.* – 2004. – V. 42. – P. 227-238.

- Hsu Y.Y., Kao C.H.* Nitric oxide is involved in methyl jasmonate induced lateral root formation in rice // *Crop Environ. Bioinformatics.* – 2011. – V. 8. – P. 160-167.
- Huang X., Stettmaier K., Michel C., Hutzler P., Mueller M.J., Durner J.* Nitric oxide is induced by wounding and influences jasmonic acid signaling in *Arabidopsis thaliana* // *Planta.* – 2004. – 218. – P. 938-946.
- Ischiropoulos H.* Biological selectivity and functional aspects of protein tyrosine nitration // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – V. 305. – P. 776-783.
- Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Yastreb T.O.* Signal mediators at induction of heat resistance of wheat plantlets by short-term heating // *Ukr. Biochem. J.* – 2015. – V. 87, № 6. – P. 104-112.
- Khan M.N., Mohammad F., Mobin M., Ali Saqib M.* Tolerance of plants to abiotic stress: a role of nitric oxide and calcium // *Nitric Oxide in Plants: Metabolism and Role in Stress Physiology* / Eds. Khan M.N. et al. Springer International Publishing Switzerland, 2014. – doi: 10.1007/978-3-319-06710-0_14.
- Klepper L.* NOx evolution by soybean leaves treated with salicylic acid and selected derivatives // *Pest. Biochem. Physiol.* – 1991. – V. 39. – P. 43-48.
- Klessig D.F., Durner J., Noad R., Navarre D.A., Wendehenne D., Kumar D., Zhou J.M., Shah J., Zhang S., Kachroo P., Trifa Y., Pontier D., Lam E., Silva H.* Nitric oxide and salicylic acid signalling in plant defense // *Proc Natl Acad Sci.* – 2000. – V. 97. – P. 8849-8855.
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Dmitriev A.P.* Signal mediators in plants in response to abiotic stress: calcium, reactive oxygen and nitrogen species // *Cytol. Genet.* – 2015. – V. 49. – P. 338-348.
- Krasnylenko Y.A., Yemets A.I., Sheremet Y.A., Blume Ya.B.* Nitric oxide as a critical factor for perception of UV-B irradiation by microtubules in *Arabidopsis* // *Physiol. Plant.* – 2012. – V. 145. – P. 505-515.
- Lamotte O., Courtois C., Barnavon L., Pugin A., Wendehenne D.* Nitric oxide in plants: the biosynthesis and cell signaling properties of a fascinating molecule // *Planta.* – 2005. – V. 221. – P. 1-4.
- Lamotte O., Guold K., Lecourieux D., Sequeira-Legrand A., Lebrun-Garcia A., Durner J., Pugin A., Wendehenne D.* Analysis of nitric oxide signaling functions in tobacco cells challenged by the elicitor cryptogein // *Plant Physiol.* – 2004. – V. 135. – P. 516-529.
- Lamotte O.C., Courtois G., Dobrowolska A. Besson A., Pugin A., Wendehenne D.* Mechanism of nitric oxide-induced increase of free cytosolic Ca²⁺ concentration in *Nicotiana plumbaginifolia* cells // *Free Radic. Biol. Med.* – 2006. – V. 40. – P. 1369-1376.
- Lanteri M., Pagnussat G.C., Lamattina L.* Calcium and calcium-dependent protein kinases are involved in nitric oxide and auxin-induced adventitious root formation in cucumber // *J. Exp. Bot.* – 2006. – V. 57. – P. 1341-1351.
- Lanteri M.L., Laxalt A.M., Lamattina L.* Nitric oxide triggers phosphatidic acid accumulation via phospholipase D during auxin-induced adventitious root formation in Cucumber // *Plant Physiol.* – 2008. – V. 147. – P. 188-198.
- Laspina N.V., Groppa M.D., Tomaro M.L., Benavides M.P.* Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress // *Plant Sci.* – 2005. – V. 169. – P. 323-330.
- Laxalt A.M., Raho N., Ten Have A., Lamattina L.* Nitric oxide is critical for inducing phosphatidic acid accumulation in xylanase-elicited tomato cells // *J. Biol. Chem.* – 2007. – V. 282. – P. 21160-21168.
- Lecourieux D., Mazars C., Pauly N., Ranjeva R., Pugin A.* Analysis and effects of cytosolic free calcium increases in response to elicitors in *Nicotiana plumbaginifolia* cells // *Plant Cell.* – 2002. – V. 14. – P. 2627-2641.
- Li Z.G., Yang S.Z., Long W.B., Yang G.X., Shen Z.Z.* Hydrogen sulphide may be a novel downstream signal molecule in nitric oxide-induced heat tolerance of maize (*Zea mays* L.) seedlings // *Plant Cell Environ.* – 2013. – V. 36. – P. 1564-1572.
- Liu S., Dong Y., Xu L., Kong J.* Effects of foliar applications of nitric oxide and salicylic acid on salt-induced changes in photosynthesis and antioxidative metabolism of cotton seedlings // *Plant Growth Regul.* – 2014. – V. 73. – P. 67-78.
- Lozano-Juste J., Colom-Moreno R., Leon J.* In vivo protein tyrosine nitration in *Arabidopsis thaliana* // *J. Exp. Bot.* – 2011. – V. 62. – P. 3501-3517.
- Ludidi N., Gehring C.* Identification of a novel protein with guanylyl cyclase activity in *Arabidopsis thaliana* // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V. 278. – P. 6490-6494.
- Malyshev I.Yu., Manukhina E.B., Mikoyan V.D., Kubrina L.N., Vanin A.F.* Nitric oxide is involved in heat-induced HSP70 accumulation // *FEBS Lett.* – 1995. – V. 370, Is. 3. – P. 159-162.
- Marino D., Dunand C., Puppo A., Pauly N.* A burst of plant NADPH oxidases // *Trends Plant Sci.* – 2012. – V. 17. – P. 9-15.
- Minibayeva F., Beckett R.P.* The roles of plant peroxidases in the metabolism of reactive nitrogen species and other nitrogenous compounds // *Reactive Oxygen and Nitrogen Species Signaling and Communication in Plants* / Eds. Gupta K.J., Igamberdiev A.U. – Signaling and Communication in Plants. – V. 23. –

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

- Springer International Publishing, Switzerland, 2015. – P. 43-62. – doi 10.1007/978-3-319-10079-1_3
- Minibayeva F.V., Gordon L.K., Kolesnikov O.P., Chasov A.V.* Role of extracellular peroxidase in the superoxide production by wheat root cells // *Protoplasma*. – 2001. – V. 217, № 1-3. – P. 125-128.
- Mur L.A.J., Santosa I.E., Laarhoven L.J., Harren J.F., Smith A.R.* A new partner in the danse Macabre: The role of nitric oxide in the hypersensitive response // *Bulg. J. Plant Physiol.* – 2003. – Spec. Issue. – P. 110-123.
- Mur L.A.J., Mandon J., Persijn S., Cristescu S.M., Moshkov I.E., Novikova G.V., Hall M.A., Harren F.J.M., Hebelstrup K.H., Gupta K.J.* Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge // *AoB Plants*. – 2013. – V. 5: pls052. – doi 10.1093/aobpla/pls052
- Mur L.A.J., Prats E., Pierre S., Hall M.A., Hebelstrup K.H.* Integrating nitric oxide into salicylic acid and jasmonic acid/ethylene plant defense pathways // *Front. Plant Sci.* – 2013. – V. 4:215.
- Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hurst R.D., Hancock J.T.* Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants // *J. Exp. Bot.* – 2002. – V. 53. – P. 1237-1247.
- Neill S., Bright J., Desikan R., Hancock J., Harrison J., Wilson I.* Nitric oxide evolution and perception // *J. Exp. Bot.* – 2008. – V. 59. – P. 25-35.
- Nilanjan C., Krishnendu A.* “NO way”! Says the plant to abiotic stress // *Plant Gene*. – 2017. (In Press). – doi: 10.1016/j.plgene.2017.05.001
- Niu L., Liao W.* Hydrogen peroxide signaling in plant development and abiotic responses: Crosstalk with nitric oxide and calcium // *Front. Plant Sci.* – 2016. – V. 7:230.
- Ogasawara Y., Kaya H., Hiraoka G., Yumoto F., Kimura S., Kadota Y., Hishinuma H., Senzaki E., Yamagoe S., Nagata K., Nara M., Suzuki K., Tanokura M., Kuchitsu K.* Synergistic activation of the *Arabidopsis* NADPH oxidase AtrbohD by Ca²⁺ and phosphorylation // *J. Biol. Chem.* – 2008. – V. 283. – P. 8885-8892.
- Oz M.T., Eyidogan F., Yucel M., Oktem H.A.* Functional role of nitric oxide under abiotic stress conditions // *Nitric Oxide Action in Abiotic Stress Responses in Plants* / Eds. Khan M.N., Mobin M., Mohammad F., Corpas F.J. – Heidelberg, New York, Dordrecht, London, 2015. – P. 21-42.
- Radi R.* Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2004. – V. 101. – P. 4003-4008.
- Rosales E.P., Iannone M.F., Groppa M.D., Benavides M.P.* Nitric oxide inhibits nitrate reductase activity in wheat leaves // *Plant Physiol. Biochem.* – 2011. – V. 49. – P. 124-130. – doi: 10.1016/j.plaphy.2010.10.009
- Roszer T.* Biosynthesis of nitric oxide in plants // *Nitric Oxide in Plants: Metabolism and Role in Stress Physiology* / Eds. Khan M.N. et al. – Springer International Publishing Switzerland, 2014. – P. 17–32. doi: 10.1007/978-3-319-06710-0_2
- Savvides A., Ali S., Tester M., Fotopoulos V.* Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible? // *Trends Plant Sci.* – 2016. – V. 21. – P. 329-340.
- Seabra A.B., Oliveira H.C.* How nitric oxide donors can protect plants in a changing environment: what we know so far and perspectives // *AIMS Mol. Sci.* – 2016. – V. 3, Is. 4. – P. 692-718.
- Shan C., Zhou Y., Liu M.* Nitric oxide participates in the regulation of the ascorbate-glutathione cycle by exogenous jasmonic acid in the leaves of wheat seedlings under drought stress // *Protoplasma*. – 2015. – V. 252. – P. 1397-1405.
- Shi F.-M., Li Y.-Z.* Verticillium dahliae toxins-induced nitric oxide production in Arabidopsis is major dependent on nitrate reductase // *BMB Rep.* – 2008. – V. 41. – P. 79-85.
- Siddiqui M.H., Alamri S.A., Al-Khaishany M.Y.Y., Al-Qutami M.A., Ali H.M., Khan M.N.* Nitric oxide and calcium induced physiobiochemical changes in tomato (*Solanum lycopersicum*) plant under heat stress // *Fresenius Environ. Bull.* – 2017. – V. 26, № 2a. – P. 1663-1672.
- Siddiqui M.H., Al-Wahaibi M.H., Ali H.M., Sakran A.M., Basalah M.O., Al-Khaishany M.Y.Y.* Mitigation of nickel stress by the exogenous application of salicylic acid and nitric oxide in wheat // *Australian J. Crop Sci.* – 2013. – V. 7. – P. 1780-1788.
- Singh H.P., Batish D.R., Kaur G., Arora K., Kohli R.H.* Nitric oxide (as sodium nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots // *Environ. Exp. Bot.* – 2008. – V. 63. – P. 158-167.
- Singh R.J., Hogg N., Goss S.P.A., Antholine W.E., Kalyanaraman B.* Mechanism of superoxide dismutase/H₂O₂-mediated nitric oxide release from S-nitrosoglutathione-role of glutamate // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1999. – V. 372. – P. 8-15.
- Sokolovski S., Hills A., Gay R., Garcia-Mata C., Lamattina L., Blatt M.R.* Protein phosphorylation is a prerequisite for intracellular Ca²⁺ release and ion channel control by nitric oxide and abscisic acid in guard cells // *Plant J.* – 2005. – V. 43. – P. 520-529.
- Song L., Ding W., Zhao M., Sun B., Zhang L.* Nitric oxide protects against oxidative stress under heat stress in the calluses from two ecotypes of reed // *Plant Sci.* – 2006. – V. 171. – P. 449-458.

- Straltsova D., Chykun P., Subramaniam S., Sosan A., Kolbanov D., Sokolik A., Demidchik V.* Cation channels are involved in brassinosteroid signalling in higher plants // *Steroids*. – 2015. – V. 97. – P. 98-106.
- Tewari R.K., Hahn E.J., Paek K.Y.* Function of nitric oxide and superoxide anion in the adventitious root development and antioxidant defence in *Panax ginseng* // *Plant Cell Rep.* – 2008. – V. 27. – P. 563-573.
- Tewari R.K., Paek K.Y.* Salicylic acid-induced nitric oxide and ROS generation stimulate ginsenoside accumulation in *Panax ginseng* roots // *J Plant Growth Regul.* – 2011. – V. 30. – P. 396-404.
- Thapa G., Sadhukhan A., Panda S.K., Sahoo L.* Molecular mechanistic model of plant heavy metal tolerance // *Biomaterials*. – 2012. – V. 25. – P. 489-505.
- Tuteja N., Sopory S.K.* Chemical signaling under abiotic stress environment in plants // *Plant Signal. Behav.* – 2008. – V. 3. – P. 525-536.
- Uchida A., Jagendorf A.T., Hibino T., Takabe T., Takabe T.* Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice // *Plant Sci.* – 2002. – V. 163. – P. 515-523.
- Wang P.G., Xian M., Tang X., Wu X., Wen Z., Cai T., Janczuk A.J.* Nitric oxide donors: chemical activities and biological applications // *Chem. Rev.* – 2002. – V. 102. – P. 1091-1134.
- Wang Y., Loake G.J., Chu C.* Cross-talk of nitric oxide and reactive oxygen species in plant programmed cell death // *Front. Plant Sci.* – 2013. – V. 4:314. – P. 1-7. doi:10.3389/fpls.2013.00314
- Wang Y., Li L., Cui W., Xu S., Shen W., Wang R.* Hydrogen sulfide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway // *Plant Soil.* – 2012. – V. 351. – P. 107-119.
- Wang W.H., Yi X. Q., Han A.D., Liu T.W., Chen J., Wu F.H., Dong X.J., He J.X., Pei Z.M., Zheng H.L.* Calcium-sensing receptor regulates stomatal closure through hydrogen peroxide and nitric oxide in response to extracellular calcium in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot.* – 2012. – V. 63. – P. 177-190.
- Wilson I.D., Neill S.J., Hancock J.T.* Nitric oxide synthesis and signaling in plants // *Plant Cell Environ.* – 2008. – V. 31. – P. 622-631.
- Wimalasekera R., Villar C., Begum T., Scherer G.F.* Coper amine oxidase1 (CuAO) of *Arabidopsis thaliana* contributes to abscisic acid- and polyamine-induced nitric oxide biosynthesis and abscisic acid signal transduction // *Mol. Plant.* – 2001. – V. 4. – P. 663-678.
- Wink D.A., Hanbauer I., Krishna M.C., DeGraff W., Gamson J., Mitchell J.B.* Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1993. – V. 90. – P. 9813-9817.
- Wong H.L., Pinontoan R., Hayashi K., Tabata R., Yaeno T., Hasegawa K., Kojima C., Yoshioka H., Iba K., Kawasaki T., Shimamoto K.* Regulation of rice NADPH oxidase by binding of Rac GTPase to its N-terminal extension // *Plant Cell.* – 2007. – V. 19. – P. 4022-4034.
- Xing H., Tan L., An L., Zhao Z., Wang S., Zhang C.* Evidence for the involvement of nitric oxide and reactive oxygen species in osmotic stress tolerance of wheat seedlings: inverse correlation between leaf abscisic acid accumulation and leaf water loss // *Plant Growth Regul.* – 2004. – V. 42. – P. 61-68.
- Xu M.J., Dong J.F., Zhang X.B.* Signal interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide in heat shock-induced hypericin production of *Hypericum perforatum* suspension cells // *Sci. China. Ser. C: Life Sci.* – 2008. – V. 51. – P. 676-686.
- Xu M.J., Dong J.F., Zhang X.B.* Signal interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide in heat shock-induced hypericin production of *Hypericum perforatum* suspension cells // *Sci. China. Ser. C: Life Sci.* – 2008. – V. 51. – P. 676-686.
- Xu J., Yin H., Li Y., Liu X.* Nitric oxide is associated with long-term zinc tolerance in *Solanum nigrum* // *Plant Physiol.* – 2010. – V. 154. – P. 1319-1334.
- Xu Yu., Sun X., Jin J., Zhou H.* Protective effect of nitric oxide on light-induced oxidative damage in leaves of tall fescue // *J. Plant Physiol.* – 2010. – V. 167. – P. 512-518.
- Yan J., Guan L., Sun Y., Zhu Y., Liu L., Lu R., Jiang M., Tan M., Zhang A.* Calcium and ZmCCaMK are involved in brassinosteroid-induced antioxidant defense in maize leaves // *Plant Cell Physiol.* 2015. – V. 56. – P. 883-896.
- Yun B.W., Feechan A., Yin M., Saidi N.B.B., Le Bihan T., Yu M., Moore J.W., Kang J.G., Kwon E., Kang J.G., Spoel S.H., Pallas J.A., Loake G.J.* S-nitrosylation of NADPH oxidase regulates cell death in plant immunity // *Nature.* – 2011. – V. 478. – P. 264-268.
- Zhang A., Zhang J., Zhang J., Ye N., Zhang H., Tan M., Jiang M.* Nitric oxide mediates brassinosteroid-induced ABA biosynthesis involved in oxidative stress tolerance in maize leaves // *Plant Cell Physiol.* – 2011. – V. 52. – P. 181-192.
- Zhang Y., Wang L., Liu Y., Zhang Q., Wei Q., Zhang W.* Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na⁺/H⁺ antiport in the tonoplast // *Planta.* – 2006. – V. 224. – P. 545-555.
- Zhang A., Jiang M., Zhang J., Ding H., Xu S., Hu X., Tan M.* Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА

- antioxidant defense in maize leaves // *New Phytol.* – 2007. – V. 175. – P. 36-50.
- Zhao Y., Qi Z., Berkowitz G.A. Teaching an old hormone new tricks: cytosolic Ca²⁺ elevation involvement in plant brassinosteroid signal transduction cascades // *Plant Physiol.* – 2013. – V. 163. – P. 555-565.
- Zhou S., Jia L., Chu H., Wu D., Peng X., Liu X., Zhang J., Zhao J., Chen K., Zhao L. Arabidopsis CaM1 and CaM4 promote nitric oxide production and salt resistance by inhibiting S-nitrosoglutathione reductase via direct binding // *PLOS Genet.* – 2016. – V. 12(9): e1006255. – doi:10.1371/journal.pgen.1006255
- Zhu T., Deng X.G., Tan W.R., Zhou X., Luo S.S., Han X.Y., Zhang D.W., Lin H.H. Nitric oxide is involved in brassinosteroid-induced alternative respiratory pathway in *Nicotiana benthamiana* seedlings' response to salt stress // *Physiol. Plant.* – 2016. – V. 156. – P. 150-163.

Поступила в редакцию

05.05.2017 г.

FUNCTIONAL INTERACTION OF NITRIC OXIDE WITH REACTIVE OXYGEN SPECIES AND CALCIUM IONS AT DEVELOPMENT OF PLANTS ADAPTIVE RESPONSES

Yu. V. Karpets¹, Yu. E. Kolupaev^{1,2}

¹*V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)*

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

²*V.N. Karazin Kharkiv National University
(Kharkiv, Ukraine)*

In the review the literary and own data on the change of content of endogenous nitric oxide in plants at adaptation and influence of nitric oxide donors on resistance to abiotic stressors are analysed and generalized. The role of nitrate reductase, animals NO-synthase-like enzyme, and other enzymatic systems in the NO production in plant cells, and also the interaction of various pathways of nitric oxide synthesis is discussed. The role of calcium and reactive oxygen species (ROS) in the regulation of activity of NO-generating enzymes is analysed. The influence of nitric oxide on calcium homeostasis, and also on processes of generation and neutralization of ROS in plant cells is considered. The special attention is paid to the role of S-nitrosylation, nitration on tyrosine and nitrosylations of metals in the regulation of antioxidant enzymes activity. Data on functional interaction of NO with other signaling mediators at the transduction of stress phytohormones signals are provided. The conclusion about the central role of nitric oxide in the functioning of difficult signaling network in plant cells is made.

Key words: *nitric oxide, nitrate reductase, animals NO-synthase-like enzyme, calcium, reactive oxygen species, signaling, antioxidant enzymes, plant adaptive responses*

**ФУНКЦІОНАЛЬНА ВЗАЄМОДІЯ
ОКСИДУ АЗОТУ З АКТИВНИМИ ФОРМАМИ КИСНЮ
ТА ІОНАМИ КАЛЬЦІЮ ПРИ ФОРМУВАННІ
АДАПТИВНИХ РЕАКЦІЙ РОСЛИН**

Ю. В. Карпець¹, Ю. Є. Колупаєв^{1,2}

¹*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)*

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

²*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
(Харків, Україна)*

В огляді проаналізовано та узагальнено літературні і власні дані про зміни вмісту ендогенного оксиду азоту у рослин при адаптації і впливі донорів оксиду азоту на їх стійкість до абіотичних стресорів. Обговорюється роль нітратредуктази, ферменту, подібного до NO-синтази тварин, та інших ферментних систем в утворенні NO у клітинах рослин, а також взаємодія різних шляхів синтезу оксиду азоту. Проаналізовано роль кальцію і активних форм кисню (АФК) у регуляції активності ферментів, що генерують NO. Розглянуто вплив оксиду азоту на кальцієвий гомеостаз, а також на процеси генерації та знешкодження АФК в рослинних клітинах. Особливу увагу приділено ролі S-нітрозилюванню, нітруванню за тирозином і нітрозилюванню металів у регуляції активності антиоксидантних ферментів. Наводяться відомості про функціональну взаємодію NO з іншими сигнальними посередниками при трансдукції сигналів стресових фітогормонів. Зроблено висновок про центральну роль оксиду азоту у функціонуванні складної сигнальної мережі рослинних клітин.

Ключові слова: *оксид азоту, нітратредуктаза, фермент, подібний до NO-синтази тварин, кальцій, активні форми кисню, сигналінг, антиоксидантні ферменти, адаптивні реакції рослин*