ISSN 1992-4917. ВІСНИК ХАРКІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО АГРАРНОГО УНІВЕРСИТЕТУ СЕРІЯ БІОЛОГІЯ, 2018, вип. 1 (43), с. 6-33

ОГЛЯДИ

УДК 581.1

МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К ГИПОТЕРМИИ: РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ

© 2018 г. Ю. Е. Колупаев[1, 2], Е. И. Горелова[1], Т. О. Ястреб[1]

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

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

Окислительный стресс, связанный в первую очередь с нарушением транспорта электронов в электрон-транспортных цепях, обусловленным изменением состояния липидов, рассматривается как одна из важных причин холодового повреждения растений. При действии на растения отрицательных температур дополнительной причиной усиления образования активных форм кислорода (АФК) может быть нарушение функций биомакромолекул и мембранных комплексов вследствие обезвоживания, обусловленного образованием внеклеточного льда. Антиоксидантная система, обеспечивающая контроль содержания АФК, является важной протекторной системой, необходимой для выживания растений при экстремальных низких температурах. Многочисленными исследованиями, выполненными на растениях разной таксономической принадлежности, показана ее активация при закаливании и умеренном холодовом стрессе. Установлена роль комплекса антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных антиоксидантов в холодовой адаптации. Особое значение для устойчивости растений к низким температурам имеют пролин, сахара и некоторые другие соединения, проявляющие наряду с антиоксидантными осмопротекторный, мембранопротекторный и шаперонный эффекты. В качестве компонентов антиоксидантной защиты рассматриваются также альтернативная оксидаза и другие разобщающие белки, функционирование которых снижает вероятность образования АФК в митохондриях в стрессовых условиях. В обзоре рассматриваются вопросы функционального взаимодействия компонентов антиоксидантной и осмопротекторной систем при холодовом стрессе. Подчеркивается необходимость учета видовых особенностей функционирования этих систем при скрининге доноров устойчивости для потребностей селекции. Оценивается роль холодоиндуцированой активации антиоксидантной системы в проявлении эффекта перекрестной устойчивости растений к действию других стрессоров.

Ключевые слова: *активные формы кислорода, антиоксидантная система, осмопротекторная система, холодоустойчивость, морозоустойчивость, кросс-толерантность растений*

Температура окружающей среды является одним из важнейших факторов, обусловливающих рост, развитие растений и их распространение в конкретных климатических зонах (Моргун, Майор, 2009). Большая часть растений на Земле в течение года подвергается действию низких положительных и отрицательных температур и других неблагоприятных сопутствующих факторов. В субтропиках температура часто опускается ниже 0°С, в умеренных зонах до минус 20-40°С. Севернее этих районов находится зона вечной мерзлоты, где температура еще ниже (Трунова, 2007). Действию низких температур подвергаются как культурные, так и дикорастущие растения, жизненный цикл которых захватывает зимний период. В Украине за последние 100 лет гибель

Адрес для корреспонденции: Колупаев Юрий Евгеньевич, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о Докучаевское-2, Харьков, 62483, Украина;
e-mail: plant_biology@ukr.net

озимых злаков происходила вследствие прямого влияния низких температур (35% случаев), чередования морозов и оттепелей (26%), в результате повреждающего влияния ледяной корки (22%); другими причинами гибели озимых являются механические повреждения вследствие выпирания (подъема почвы и растений, вызванного образованием льда в верхнем слое почвы) и инфицирование патогенными грибами (Моргун, Майор, 2009).

Несмотря на наблюдающееся в последние десятилетия повышение среднегодовой температуры, для большинства стран Европы актуальность проблемы холодо- и морозоустойчивости растений не только не снижается, но и возрастает. В последние годы в Украине отмечается большая амплитуда температур в зимний и весенний периоды от высоких к низким, а в ближайшем будущем прогнозируются аномально холодные зимы с резкими перепадами температур и недостатком снежного покрова (Іващенко, Іващенко, 2008). Снежный покров редко сохраняется на протяжении всей зимы или не образуется вообще. Так, вымерзание в Украине озимых культур на значительных площадях в 1994 и 2003 гг. происходило при более высоких температурах на уровне узла кущения, абсолютные минимумы при этом не перекрывались (Моргун, Майор, 2009). Также климатологи допускают опасность неожиданного глобального похолодания (Engvild, 2003). Зимние оттепели, которые чередуются с внезапными морозами, приводят к серьезным повреждениям и снижению урожайности озимых злаков. Более раннее наступление метеорологической весны увеличивает вероятность повреждения растений вследствие весенних заморозков.

Кроме сельскохозяйственного аспекта, проблема холодо- и морозостойкости имеет большое природно-экологическое значение, поскольку способность растений адаптироваться к конкретным условиям перезимовки в разных частях планеты – один из факторов, определяющих ареалы распространения диких видов и возможность их интродукции (Трунова, 2007).

В последние десятилетия сформировались представления, согласно которым повреждения растений вследствие действия низких положительных и отрицательных температур начинаются с нарушений структуры и функций мембран, а свойства холодо- и морозоустойчивости растений развиваются в процессе низкотемпературной адаптации при низких закаливающих температурах (Трунова, 2007). Получены сведения о ключевой роли в формировании устойчивости к гипотермии повышения ненасыщенности жирных кислот в составе липидов мембран (Theocharis et al., 2012), накопления криопротекторов (Trischuk et al., 2006), синтеза различных стрессовых белков (Колесниченко, Войников, 2003), активации антиоксидантной системы (Foyer, Noctor, 2009).

До начала 21 столетия понимание свойств холодо- и морозоустойчивости растений базировалось главным образом на физиологической и биохимической основе. В последние десятилетия удалось идентифицировать гены и кодируемые ими специфические белки с определенной ролью в резистентности растений к низким температурам (Трунова, 2007). К настоящему времени достигнут определенный прогресс в понимании механизмов восприятия растительной клеткой холодового воздействия и трансдукции сигнала в генетический аппарат (Марковская, Шибаева, 2017). Несколько изменились и представления о причинах низкотемпературных повреждений растительных клеток, в частности, выяснена роль вторичного окислительного стресса в развитии негативных последствий охлаждения (Лукаткин, 2002; Войников, 2013).

Наконец, получили развите и представления о вкладе отдельных стресс-протекторных систем в конститутивную и индуцированную устойчивость растений к гипотермии. В частности, в последние годы значительно расширились сведения о роли таких классических протекторов, как сахара (Ramel et al., 2009) и пролин (Liang et al., 2013), о спектре разнообразных антиоксидантов, участвующих в холодовой адаптации и об их функциональном взаимодействии. Однако формирование стройных представлений о функционировании протекторных систем растений при низкотемпературном стрессе и адаптации осложняется, с одной стороны, множественностью эффектов, вызываемых экстремальными температурами и зависимых от интенсивности и продолжительности воздействия, физиологического состояния растений в момент воздействия, а с другой – значительной зависимостью характера защитных реакций от видовых особенностей.

В настоящем обзоре проанализированы современные сведения о функционировании защитных систем растений при действии низких температур, внимание акцентировано на антиоксидантной и осмопротекторной системах, а также возможном функциональном вза-

имодействии их компонентов. Кроме того, рассмотрена роль индуцируемой холодом активации протекторных систем в перекрестной адаптации растений к действию других стресс-факторов.

Причины повреждения растений при действии низких температур

Понятие «низкотемпературный стресс» включает в себя комплекс ответных реакций на действие холода или мороза, соответствующих генотипу растений и проявляющихся на разных уровнях организации растительного организма – от молекулярного до организменного (Трунова, 2007).

По реакции на температуру растения подразделяют на следующие группы (Levitt, 1980):

• теплолюбивые – виды, чувствительные к температурам выше 0°С;

• нежные – виды, чувствительные к заморозкам около 0°С;

• слабо устойчивые – виды, способные развивать некоторую устойчивость к заморозкам; выживание ограничено температурами около минус 5°С;

• умеренно устойчивые – выживание ограничено температурами от минус 5 до минус10°С;

• очень устойчивые – могут выдерживать воздействие температуры до минус 20°С и значительное обезвоживание, связанное с образованием льда;

• особо устойчивые – способны поддерживать воду в жидком переохлажденном состоянии.

Термин «холодоустойчивость» обычно применяют в отношении теплолюбивых растений, повреждающихся при температуре ниже 8-10°С. Под этим свойством подразумевают способность растений выдерживать действие низких положительных температур.

Морозоустойчивость включает в себя свойство холодоустойчивости, но в отличие от холодостойких, морозоустойчивые растения способны выживать при действии отрицательной температуры, сопровождающемся образованием внеклеточного и внеорганного льда (Трунова, 2007).

Холодовое повреждение. Пониженные температуры вызывают многочисленные нарушения ультраструктуры мембран клеток теплолюбивых растений. Так, уменьшается электронная плотность цитоплазмы, происходит конденсация хроматина в ядре, набухание митохондрий и их структурные изменения (дезинтеграция гран, накопление липидных капель, исчезновение крахмальных зерен). Считают, что у ряда теплолюбивых растений (хлопчатник, соя, фасоль) хлоропласт является первичной органеллой, обнаруживающей ультраструктурные повреждения при охлаждении. Установлены также изменения ультраструктуры митохондрий при действии гипотермии (Лукаткин, 2002).

Мембранные изменения являются, по-видимому, наиболее ранней реакцией на действие гипотермии и рассматриваются многими авторами как определяющие (рис. 1). При действии пониженных температур происходит фазовый переход мембран клеток теплолюбивых растений из эластичной жидкостно-кристаллической в твердо-гелевую структуру. Это приводит к значительным изменениям свойств мембран и активности мембраносвязанных ферментов. Считается, что фазовые переходы даже малых фракций мембранных липидов приводят к нарушениям функций клеток. С фазовым переходом связано фазовое разделение компонентов мембран, при котором появляются участки гелеобразных липидов, частично или полностью свободных от белков. При длительном охлаждении нарушения становятся необратимыми, что проявляется во внешних симптомах. У ряда видов тропического происхождения температура латерального фазового перехода мембран выше (около 15°С), чем у растений умеренных зон (6-8°С) (Лукаткин, 2002).

Нарушение функциональной активности мембран в результате перехода их ненасыщенных жирных кислот из жидкостно-кристаллического в состояние геля большинство исследователей считают основной причиной повреждений теплолюбивых растений при действии низких положительных температур (Лось, 2005). Следствием этих повреждений может быть нарушение работы мембранных АТФаз, а следовательно, активного транспорта ионов через мембраны, дезинтеграция электрон-транспортных цепей митохондрий и хлоропластов, что приводит к нарушениям энергетического обмена и фотосинтеза. При нарушении процесса переноса электронов в электрон-транспортных цепях увеличивается вероятность стохастического образования активных форм кислорода, что вызывает вторичный окислительный стресс и дополнительные повреждения, связанные с активацией пероксидного окисления липидов (ПОЛ) (рис. 1).

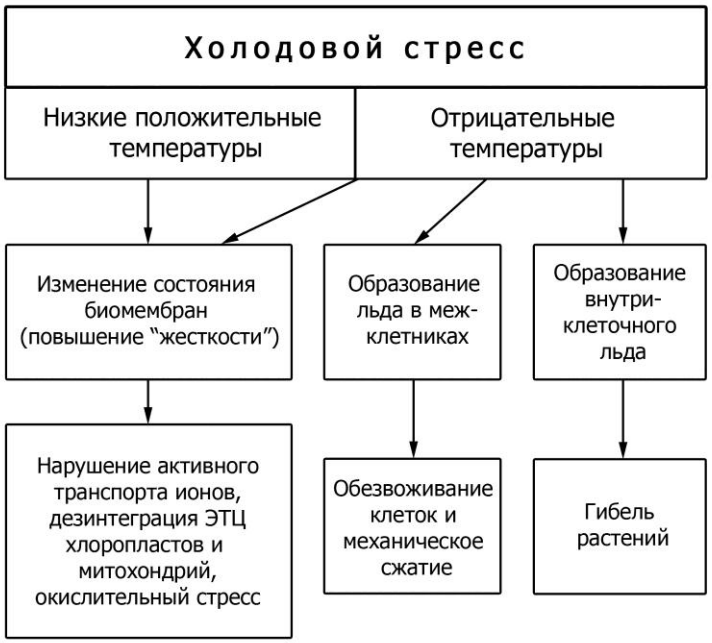

Рис. 1. Основные причины повреждения растений при холодовом стрессе (пояснения в тексте).

Повреждения растений при действии отрицательных температур. Давно известно, что лед может образовываться внутри клеток и в межклетниках. Внутриклеточное льдообразование всегда летально не только для теплолюбивых и холодостойких, но и для морозоустойчивых растений. Мгновенное и необратимое повреждение клеток при образовании внутриклеточного льда свидетельствует о физической природе процесса: происходит разрушение клеточных мембран кристаллами льда, которые формируются в протоплазме (Левитт, 1983). В то же время в естественных условиях чрезвычайно редко имеет место внутриклеточное льдообразование, поскольку оно возможно лишь при очень резком снижении температуры (10-12 град./ч). В природе температура снижается со скоростью 1-2 град./ч или еще медленнее (Самыгин, 1974).

Наиболее распространено в природе внеклеточное образование льда, которое происходит в условиях относительно медленного снижения температуры. Несмотря на негативные последствия, внеклеточное льдообразование является фактически единственным возможным механизмом, обеспечивающим выживание растений в условиях длительного зимнего периода.

В ходе эволюции у растений сформировались механизмы, позволяющие избегать образования внутриклеточного льда. При постепенном снижении температуры происходит медленный выход воды из клеток и ее замерзание в межклетниках. Выходу воды способствует увеличение водной проницаемости мембран (Трунова, 2007). Для образования льда при температуре ниже 0°С необходимо наличие нуклеаторов – химических соединений или сапрофитных бактерий, которые служат центрами кристаллизации. В их присутствии происходит так называемая гетерогенная нуклеация льда. Гомогенная, характерная только для абсолютно чистой воды, начинается при температуре около минус 40°С за счет самозарождения мелких кристаллов (зародышей) льда. В естественных условиях такое переохлаждение тканей без замораживания маловероятно, хотя отдельные ткани зимующих растений могут сохранять воду в незамерзшем состоянии (Трунова, 2007).

Установлено, что нуклеаторами льда в растительных тканях могут быть комплексы, состоящие из фосфолипидов, углеводов и белков. Они выделены, в частности, из листьев ржи (Brush et al., 1994). Распространенными нуклеаторами являются сапрофитные бактерии *Psevdomonas syringae* и *Erwinia herbicola*. Это связано с особенностями их мембран, содержащих комплекс, который состоит из белков, фосфатидилинозитола и сахаров в виде маннозы, глюкозамина и галактозы (Kozloff et al., 1991).

Нуклеация льда в межклетниках хотя и является путем избегания летального внутриклеточного льдообразования, небезопасна для растений и также может вызвать повреждения. Выделяют две основные их причины: обезво-

живание протопластов и механические повреждения обезвоженной протоплазмы (рис. 1). Показано, что морозоустойчивая береза в зимний период теряет до 80% воды. При таком обезвоживании в условиях положительных температур не может выжить ни одно растение. Озимые злаки менее устойчивы к обезвоживанию по сравнению с древесными растениями и при замораживании выдерживают только 50% потерю воды (Трунова, 2007). Обезвоживание протоплазмы является подавляющей причиной гибели незакаленных растений, закаленные чаще погибают из-за механических повреждений (Колесниченко, Войников, 2003).

Вторичный окислительный стресс при действии на растения низких температур

В растительных клетках, как и в животных и прокариотических, происходит постоянное образование активных форм кислорода (АФК) и их взаимодействие с антиоксидантами (АО) различной природы (Szollosi et al., 2014; Paciolla et al., 2016). Как известно, под АФК подразумевают совокупность взаимно превращающихся реакционноспособных форм кислорода, большинство из которых существует короткое время. Среди них выделяют свободнорадикальные частицы – супероксидный анион-радикал ($O_2^{\bullet-}$), гидроксильный радикал ($OH^{\bullet}$), пероксидные радикалы ($RO_2^{\bullet-}$и др.) и нейтральные молекулы, такие как пероксид водорода (H_2O_2), синглетный кислород ($^1O_2$) и пр. (Scandalios, 2002). В зависимости от количества, химической природы, компартментации, времени образования АФК результат их физиологического действия может быть различным. Кратковременное и относительно небольшое увеличение содержания АФК в отдельных компартментах клетки, происходящее в ответ на действие стрессора, может выполнять функции сигнала, обеспечивающего последующее индуцирование защитных реакций, в том числе активацию антиоксидантной системы (Mehla et al., 2017). Более сильная генерация АФК может вызывать программируемую клеточную гибель. Наконец, масштабное стохастическое образование АФК может привести к неконтролируемым клеткой деструктивным изменениям (Petrov et al., 2015).

Еще в 80-90 гг. XX столетия были получены экспериментальные данные, косвенно указывающие на роль окислительного стресса в развитии холодовых повреждений растений. Так, было показано, что низкотемпературный стресс, как и высокая концентрация кислорода и озона в атмосфере, а также обработка растений индуктором окислительного стресса паракватом, вызывают в клеточных мембранах повреждения со сходными симптомами: повышение вязкости, формирование областей гелевой фазы, деградация фосфолипидов и накопление свободных жирных кислот (McKersie et al., 1988). Установлено увеличение содержания пероксида водорода и продукта ПОЛ малонового диальдегида (МДА) у растений ранных видов во время низкотемпературного стресса, особенно при действии отрицательных температур (Войников, 2013).

Поскольку повышение вязкости липидной части клеточных мембран является одним из наиболее частых последствий влияния на растения гипотермии, мембраносвязанные процессы, такие как фотосинтез и дыхание, более чувствительны к температурному стрессу по сравнению с процессами, протекающими вне мембран с участием растворимых ферментов. Если мембраноассоциированные процессы и процессы, осуществляемые в матриксе митохондрий и строме хлоропластов, по тем или иным причинам не скоординированы, то существует вероятность акцептирования электронов от переносчиков электрон-транспортной цепи молекулярным кислородом с образованием его активных форм (Пиотровский и др., 2011). Именно такие процессы происходят при вызываемом холодом изменении состояния липидов внутренних мембран хлоропластов и митохондрий (рис. 2). АФК, образующиеся в результате сбоев в работе электрон-транспортных цепей, в дальнейшем могут инициировать неферментативные реакции, приводящие к дополнительному увеличению их количества. Так, пероксид водорода, вступает в реакцию Фентона, приводящую к образованию крайне агрессивного гидроксильного радикала:

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^{-}.$$

Для такой реакции в хлоропластах имеются соответствующие условия, например, наличие ионов металлов с переменной валентностью (Trchounian et al., 2016). Также в хлоропластах возможна генерация агрессивных АФК в реакциях Хабера-Вейса:

$$Fe^{3+} + O_2^{\bullet-} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{-} + OH^{\bullet}$$

$$O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow OH^{\bullet} + HO^{-} + O_2.$$

О роли АФК, генерируемых хлоропластами, в процессах восприятия стрессовых сигналов см. ниже.

Рис. 2. Пути образования АФК в растительных клетках при холодовом стрессе (пояснения в тексте).

Митохондрии, как и хлоропласты, содержат большое количество переносчиков электронов. Окислительно-восстановительный потенциал тех из них, которые образуют начальные и средние участки цепи, часто оказывается отрицательнее, чем – 0,3 В (потенциал пары $O_2/O_2^{\bullet-}$). Это означает, что случайное взаимодействие данных переносчиков с молекулярным кислородом может привести к одноэлектронному восстановлению O_2 до $O_2^{\bullet-}$. Естественно, что при вызываемом гипотермией нарушении структуры и свойств мембран вероятность таких событий значительно возрастает. В целом считается, что дыхательная цепь митохондрий менее мощный источник АФК по сравнению с электрон-транспортной цепью хлоропластов. Однако в темноте или в незеленых тканях митохондрии могут вносить существенный вклад в генерацию АФК (Rhoads et al., 2006).

АФК могут возникать и в том случае, когда в результате температурного стресса разобщаются процессы переноса электронов, отщепляемых от молекул-доноров, участвующих в окислительных реакциях катаболизма, на молекулы-акцепторы в реакциях анаболизма с помощью коферментов, играющих роль переносчиков электрона, в частности, НАДФН (Войников, 2013).

Воздействие низких повреждающих температур на растения вызывает как стохастическое усиление генерации АФК, так и ферментативное, связанное с активацией НАДФН-оксидазы (Awasthi et al., 2015). Этот эффект может иметь отношение к трансдукции холодового сигнала в генетический аппарат и индуцированию адаптивных реакций (см. ниже).

В некоторых работах показана обратная связь между увеличением содержания АФК и устойчивостью растений к низким температурам. Так, у холодоустойчивого сорта клубники увеличение генерации супероксидного анион-радикала и пероксида водорода при действии околонулевой температуры было менее существенным, чем у чувствительного (Luo et al., 2011).

Восприятие и трансдукция холодового сигнала

Вопрос о холодовых сенсорах растительной клетки пока далек от своего решения. Температура – физический фактор, влияющий на

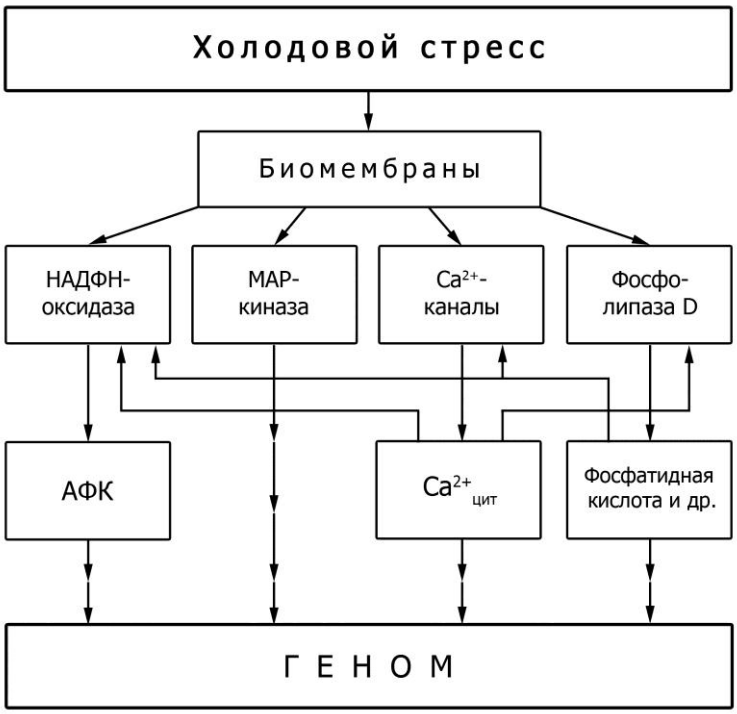

Рис. 3. Возможные ассоциированные с мембранами механизмы восприятия и передачи сигнала холодового стресса.

Пояснения к схеме. Действие холода вызывает повышение вязкости мембран, что может приводить к активации стартовых ферментов сигнальных систем, в частности НАДФН-оксидазы, генерирующей супероксидный анион-радикал, фосфолипазы D, катализирующей образование фосфатидной кислоты, МАР-киназного каскада, а также индуцировать открывание механочувствительных кальциевых каналов. Результатом повышения содержания отдельных посредников может быть активация сигнальной сети в целом: повышение [$Ca^{2+}_{цит.}$] может активировать фосфолипазу D и НАДФН-оксидазу; фосфатидная кислота может способствовать поступлению кальция в цитозоль, а также активировать НАДФН-оксидазу. Сигналы, обсловленные указанными посредниками, передаются в генетический аппарат. Другие пояснения и ссылки на соответствующие источники приведены в тексте.

молекулы (белки, нуклеиновые кислоты, липиды) и надмолекулярные комплексы путем обычных термодинамических эффектов. В связи с этим каждая из упомянутых молекул (структур) может «чувствовать» температуру (Марковская, Шибаева, 2017). Однако для возможности рассмотрения молекулы или структуры в качестве термосенсора необходимо, чтобы ее температурозависимые изменения вызывали каскад реакций, обеспечивающий передачу сигнала в генетический аппарат и формирование физиологического ответа на изменения температуры (Ruelland, Zachowska, 2010).

В настоящее время в качестве кандидатов на роль термосенсоров рассматриваются биомембраны, элементы цитоскелета, хроматин, фитохромы, нуклеиновые кислоты и определенные белки (Марковская, Шибаева, 2017). Предполагается, что в зависимости от характера воздействия (его интенсивности, скорости снижения температуры, продолжительности) ведущую роль могут играть различные структуры или соединения, что позволяет растению гибко и адекватно реагировать на холод.

В целом же, восприятие температурных изменений высшими растениями на молекулярном уровне изучено пока слабо. Значительные успехи в этом направлении достигнуты в исследовании сенсоров цианобактерий (Лось, 2010). Как уже отмечалось, считается, что первичным сигналом при восприятии температурного стресса цианобактериями и, возможно, высшими растениями являются изменения текучести биологических мембран. Вполне вероятно, что уплотнение мембранных липидов при снижении температуры запускает соответствующие стрессовые ответы. Предполагается, что первичным сенсором этих сигналов, соединенным с сигнальной сетью у цианобактерий является гистидинкиназа Hik33. Сенсорная гистидинкиназа мембранной локализации Hik33 воспринимает снижение температуры (вероятно, из-за физического сжатися цитоплазматической мембраны) и автофосфорилируется. Она пере-

носит фосфат на регулятор ответа Pre26, способный связываться с промоторными участками генов и активировать их транскрипцию (Лось, 2010). В то же время предполагается, что у цианобактерий помимо Hik33 существует дополнительный низкотемпературный сенсор (а возможно несколько сенсоров), поскольку не все гены, индуцирмые холодом, находятся под контролем Hik33.

Восприятие и трансдукция холодовых сигналов у высших растений, по-видимому, еще сложнее. Предполагается, что реакция сенсорных белков первоначально связана с изменением свойств липидов (их вязкости), которая ментально реагирует своим повышением на понижение температуры (рис. 3) (Трунова, 2007). Действие температурных стрессоров может быть имитировано обработкой растений соединениями, влияющими на состояние мембран. Так, жесткость плазматической мембраны повышается обработкой диметилсульфоксидом (ДМСО), что может индуцировать экспрессию генов *COR* (холодочувствительных) даже при нормальной температуре, в то время под влиянием мембранного флюидизатора, бензилового спирта, предотвращается индукция экспрессии гена *COR* при низких температурах (Orvar et al., 2000; Sangwan et al., 2001).

Жесткость мембран влияет на ионные (кальциевые) каналы (рис. 3). Поскольку экспрессия гена *COR* нарушалась при обработке клеток арабидопсиса блокатором механочувствительных Ca^{2+}-каналов гадолинием, предполагается, что эти кальциевые каналы могут быть задействованы в восприятии индуцируемой холодом мембранной жесткости (Knight et al., 1991). Позднее на растениях капусты также был продемонстрирован эффект активации механочувствительных кальциевых каналов, связанный с изменением текучести плазматической мембраны под влиянием холода и обработки ДМСО (Гималов и др., 2004). Состояние этих кальцияевых каналов также может изменяться в зависимости от осмотических характеристик цитоплазмы (Медведев, 2005), которая обезвоживается при образовании внеклеточного льда. Указанные представления хорошо согласуются с данными о быстром повышении содержания кальция в цитозоле в ответ на действие низкой температуры (Jian et al., 1997; 1999). Известно, что ионы кальция активируют кальциевые протеинкиназы. В опытах с использованием трансгенных растений и ингибиторов протеинкиназ и фосфатаз была показана зависимость адаптации к холоду от активации Ca^{2+}-зависимых протеинкиназ (Monroy et al., 1993). Также установлено повышение активности кальмодулин-зависимых протеинкиназ под влиянием холода (Awasthi et al., 2015).

Помимо изменения кальциевого гомеостаза, одной из ранних реакций, обусловленных повышением жесткости мембран при действии холода, может быть активация чувствительной к кальцию фосфолипазы D (Тарчевский, 2002) и повышение содержания фосфатидной кислоты, участвующей в липидном сигналинге (Thakur, Nayyar, 2013), а также способной влиять на содержание многих других сигнальных посредников. Так, имеются сведения о том, что фосфатидная кислота может усиливать поступление кальция через мембраны (Медведев и др., 2006). В культуре *Arabidopsis thaliana* показано, что при холодовом стрессе она может активировать каскад сигналинга NO (Testerink, Munnik, 2005). Кроме того, известно, что фосфатидная кислота обладает способностью влиять на активность НАДФН-оксидазы. Установлено наличие в каталитической субъединице НАДФН-оксидазы сайта связывания с фосфатидной кислотой, выступающей в роли активатора фермента (Marino et al., 2012; Baxter et al., 2013). Хорошо известно, что НАДФН-оксидаза также может активироваться ионами кальция (Ogasawara et al., 2008).

Предполагается, что АФК, в т. ч., образуемые НАДФН-оксидазой, могут быть адействованы в передаче холодового сигнала (Awasthi et al., 2015). Повышение активности НАДФН-оксидазы и усиление образования пероксида водорода зарегистрировано как ответ растений кукурузы на действие низких положительных температур (Пиотровский и др., 2011). С использованием растений томата показано, что холодовое закаливание вызывает транзиторное повышение содержания пероксида водорода в тканях и последующее развитие холодоустойчивости. Этот эффект сопровождался усилением экспрессии гена НАДФН-оксидазы и повышением ее активности. При этом скавенджеры пероксида водорода и ингибиторы НАДФН-оксидазы значительно снижали положительное влияние холодового закаливания на окислительно-восстановительный статус глутатиона и устойчивость растений к стрессовым температурам (Zhou et al., 2012). Заметим, что усиление генерации АФК, зависимое от НАДФН-оксидазы, выявлено у растений пшеницы после воздействия высоких закаливающих температур. При этом ингибиторы НАДФН-оксидазы и скавенджеры пероксида водорода нивелирова-

ли положительное влияние закаливания на теплоустойчивость растений и активность антиоксидантных ферментов (Колупаев и др., 2013). АФК, генерируемые на плазматической мембране, могут оказывать влияние на состояние кальциевых каналов, гомеостаз оксида азота, а также на активность MAP-киназ (активированные митогеном протеинкиназы) (Thakur, Nayyar, 2013).

В дополнение к плазматической мембране, где локализована НАДФН-оксидаза (основной ферментативный генератор АФК), хлоропласты также могут играть роль в восприятии температуры окружающей среды. При низкой температуре дисбаланс между мощностью для сбора световой энергии и способностью рассеивать эту энергию путем метаболической активности вызывает перевозбуждение фотосистемы II (ФС II) (эффект фотоингибирования), что приводит к образованию АФК (Miura, Furumoto, 2013), которые могут выступать в роли активаторов сигнальных путей. Предполагается, что ингибирование ФС II может действовать как один из сигналов, вызывающих экспрессию регулируемых холодом генов у ржи, поскольку несколько индуцируемых холодом генов также активируется действием избыточной освещенности (Ndong et al., 1991).

Предполагается, что у высших растений в восприятии холодового сигнала могут принимать и участие MAP-киназы (активированные митогеном протеинкиназы) и фосфатазы. MAP-киназный каскад является положительным регулятором холодового сигналинга у арабидопсиса. Так, растения, сверхэкспрессирующие MKK2 (MAP киназа киназы 2), задействованную в активации MPK4 и MPK6, отличаются конститутивной холодустойчивостью, обусловленной активностью комплекса CBF/DREB1s, регулирующего гены ответа на дегидратацию (Teige et al., 2004; Miura, Furumoto, 2013).

Таким образом, в передаче в генетический аппарат температурных сигналов задействованы биомембраны, различные протеинкиназы, кальциевые каналы, АФК и ферментативные системы их генерирующие (рис. 3). Этим список участников трансдукции температурных сигналов, естественно, не исчерпывается (Марковская, Шибаева, 2017).

Передача холодового сигнала в генетический аппарат клетки вызывает активацию комплекса протекторных систем, среди которых антиоксидантная занимает особое место (рис. 4). Наряду с антиоксидантными ферментами, низкомолекуялрными антиоксидантами, совместимыми осмолитами в предотвращении окислительных повреждений участвуют альтернативная оксидаза, дегидрины (см. ниже) и, вероятно, другие компоненты протекторных систем.

Антиоксидантная система и формирование холодо- и морозоустойчивости растений

Ферментативные антиоксиданты. Ферментативные системы катализируют преимущественно детоксикацию супероксидного анион-радикала и пероксидов. У высших растений, водорослей и цианобактерий эти АФК удаляются индивидуально или кооперативно такими ферментами, как СОД, аскорбатпероксидаза, глутатионпероксидаза, неспецифические пероксидазы (пероксидазы класса III), каталаза (Alscher et al., 2002; Mittler, 2002; Tognolli et al., 2003; Колупаев, 2016). Практически все известные ферментативные АО участвуют в холодовой адаптации растений.

СОД является единственным ферментативным АО, обезвреживающим радикальные АФК, в связи с чем этот фермент рассматривается в качестве первого звена антиоксидантной защиты (Alscher, 2002). Во многих работах показано повышение активности и усиление экспрессии генов различных форм СОД при холодовой адаптации. Повышение общей активности СОД выявлено у растений разных таксономических групп: пшеницы (Дьяченко и др., 2007; Майор та ін., 2011; Колупаев и др., 2015), овса голого (Awasthi et al., 2015). Liu, 2013), сосны шотландской (Wlngsle et al., 1999), клубники (Luo et al., 2011), хризантемы (Chen et al., 2014), огурца (Игнатенко, 2016). У растений картофеля при действии холода показано повышение активности двух изоформ Fe-СОД и одной молекулярной формы Cu/Zn-СОД (Нарайкина, 2017). У растений эхинацеи активность СОД увеличивалась при умеренном охлаждении и снижалась при действии повреждающих температур (Asadi-Sanam, 2015). У ячменя после охлаждения при 2°С наиболее заметное повышение активности СОД происходило в постстрессовый период (Радюк и др., 2009). Трансформанты табака со сверхэкспрессией гена Mn-СОД отличались повышенной холодоустойчивостью (Gupta et al., 1993). Установлена более высокая экспрессия гена Mn-СОД у закаленной озимой пшеницы по сравнению с яровой (Baek, Skinne, 2003). Выявлена тесная корреляция ((r = + 0,88) между увелчиением общей активности СОД в листьях и развитием морозоустойчивости молодых рас-

Рис. 4. Холодоиндуцируемая активация протекторных систем у растений.
Пояснения к схеме. Вызываемые холодовым стрессом изменения состояния мембран и усиление стохастического образования АФК приводит к формированию сигнала, индуцирующего экспрессию генов, участвующих в формировании защитных ответов (гены антиоксидантных ферментов, альтернативной оксидазы, дегидринов, ферментов регенерации оскорбата и глутатиона, а также ферментов синтеза пролина и других полифункциональных защитных соединений). Другие пояснения и ссылки на соответствующие источники приведены в тексте.

тений мягкой озимой пшеницы при недельном холодовом закливании (Репкина и др., 2017). Показано, что уже через 1 ч от начала действия температуры 4°С в листьях проростков происходило повышение уровня мРНК гена Fe-СОД. Наибольшее содержание мРНК гена Fe-СОД отмечено на 5-7-е сутки закаливания. Накопление транскриптов гена Mn-СОД в листьях начиналось позже, чем Fe-СОД, – через одни сутки от начала действия закаливающей температуры. Дальнейшее повышение уровня экспрессии гена Mn-СОД происходило в течение 5-7 суток закаливания (Репкина и др., 2017). При этом в течение всего эксперимента содержание транскрипов Fe-СОД было большим, чем Mn-СОД. Авторы полагают, что это связано с необходимостью активации Fe-СОД для обеспечения защиты хлоропластов и одного из важнейших и наиболее холодочувствительных процессов – фотосинтеза.

Считается, что в тесном функциональном взаимодействии с СОД находится каталаза, которая участвует в разложении больших количеств пероксида водорода (Guan, Scandalios, 2000). Показано повышение активности фермента при промораживании овса голого (Liu et al., 2013). Холодовое закаливание также может вызывать усиление экспресси генов и повышение активности каталазы. Такой эффект, в частности, выявлен у хризантемы. При длительной холодовой адаптации (21 день) растений этого вида повышалась экспрессия генов каталазы (Chen et al., 2014).

У пшеницы в зеленых листьях при закаливании повышалась активность каталазы, такой же эффект вызывало и избыточное освещение, которое индуцировало морозоустойчивость (Janda et al., 2007). В побегах этиолированных проростков мягкой и твердой пшеницы, ржи и ячменя активность каталазы в процессе

холодового закаливания также заметно повышалась (Колупаев и др., 2015). Закаливающее охлаждение вызывало повышение активности фермента и развитие морозоустойчивости эхинацеи (Asadi-Sanam, 2015). Усиление экспрессии гена *KAT1* под влиянием холодового закаливания обнаружено у растений картофеля (Нарайкина, 2017). Растения риса, трансформированные геном каталазы пшеницы, отличались эффективной детоксикацией пероксида водорода и более высокой холодоустойчивостью по сравнению с обычными растениями (Matsumura et al., 2002). Сообщается о более высокой экспрессии гена каталазы у морозоустойчивой озимой пшеницы по сравнению с неустойчивой яровой (Baek, Skinner, 2003).

У многих видов растений в ответ на действие холода зарегистрировано повышение активности неспецифической пероксидазы. Такой эффект выявлен у растений овса при умеренных морозах (Liu et al., 2013). При действии закаливающей низкой температуры электрофоретический спектр пероксидазы расширялся у растений пшеницы (Дьяченко и др., 2007). Холодовое закаливание вызывало существенное (2-3-кратное) повышение активности гваяколпероксидазы у зеленых растений и этиолированных проростков ржи (Streb et al., 1999; Колупаев и др., 2015). Кроме того, растения ржи отличались более высокой конститутивной активностью фермента по сравнению с менее морозоустойчивыми злаками (мягкой и твердой пшеницами и ячменем) (Колупаев и др., 2015). При этом существенное повышение активности гваяколпероксидазы при холодовом закаливании происходило у всех указанных видов. Следует отметить, что активность гваяколпероксидазы, в отличие от других антиоксидантных ферментов, повышалась у проростков разных видов злаков не только при их закаливании, но и после проморaживания (Колупаев и др., 2015). Однако остается неясным, когда именно происходило повышение активности фермента – в момент проморaживания или после оттаивания, поскольку для анализа использовали оттаявшие растения. Феномен повышения активности пероксидазы после проморaживания растений был выявлен и на других объектах (Синькевич и др., 2009).

При холодовом закаливании растений различных видов происходит повышение активности аскорбатпероксидазы. Такие эффекты характерны для озимой пшеницы и других злаков (Janda, 2003; Janda et al., 2007; Майор та ін., 2011), эхинацеи (Asadi-Sanam, 2015). У холодочувствительных растений ячменя при действии температуры 2°С, инициирующей повышение содержания АФК, отмечалось повышение активности аскорбатпероксидазы и каталазы (Радюк и др., 2009). Показана связь между активностью аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы и морозоустойчивостью злаков различных генотипов, подвергнутых холодовому закаливанию (Janda, 2003; Janmohammadi et al., 2012).

Несмотря на положительную связь между эффектами холодового закаливания и повышения активности аскорбатпероксидазы, а также между активностью фермента и холодоустойчивостью вида (сорта) в отдельных исследованиях отмечается более низкая активность этого фермента у устойчивых растений по сравнению с неустойчивыми. Так, при сравнении реакции двух сортов клубники на действие околонулевой температуры были установлены более низкие значения активности аскорбатпероксидазы у устойчивого сорта (Luo et al., 2011). Вероятно, у указанных растений активно функционируют другие защитные системы (см. ниже).

В реакции растений на гипотермию принимают участие и ферменты метаболизма глутатиона. Так, в ответ на действие умеренных низких температур повышение активности глутатиоредуктазы зарегистрировано у растений пшеницы (Janda et al., 2007), ячменя (Радюк и др., 2009), сосны шотландской (Wlngsle et al., 1999). Отмечается, что у ячменя активность глутатионредуктазы особенно важна для восстановления пула глутатиона в постстрессовый период (Радюк и др., 2009).

Альтернативная оксидаза. Как известно, электрон-транспортная цепь митохондрий является одним из важных источников АФК в клетках растений и животных. Основными сайтами утечки электронов у растений, как и у животных, считаются комплексы I и III (Cvetkovska, Vanlerberghe, 2013). Однако в последнее время получены весомые доказательства большого вклада комплекса II (сукцинатдегидрогеназы, КФ 1.3.99.1) в образование АФК в митохондриях клеток животных и растений (Huang, Millar, 2013). В целом, у растений взаимосвязь между транспортом электронов, окислительным фосфорилированием и генерацией АФК в митохондриях более сложная, чем у животных в связи с наличием альтернативной оксидазы, катализирующей окисление убихинола и восстановление молекулярного кислорода до воды. При этом предотвращается вероятность образования $O_2^{\bullet-}$ вследствие утеч-

ки электрона от комплекса III. Наряду с этим транспорт электронов в обход комплекса III, цитохрома *c* и комплекса IV уменьшает перевосстановление митохондрий, их мембранный потенциал и, как следствие, вероятность образования АФК (Moller, 2001). Таким образом, альтернативную оксидазу митохондрий можно рассматривать как компонент антиоксидантной системы.

Альтернативную оксидазу содержат филогенетически различные организмы: высшие растения, водоросли, большинство грибов и некоторые простейшие (Рогов, Звягильская, 2015). Этот белок кодируется ядерным геномом, имеет мол. массу 32-36 кДа и локализируется на внутренней стороне митохондриальной мембраны. Показано повышение уровня экспрессии гена альтернативной оксидазы у растений при действии неблагоприятных факторов различной природы: экстремальных температур (Searle et al., 2011; Wang et al., 2011), осмотического стресса (Smith et al., 2009; Wang, Vanlerberghe, 2013), непосредственных агентов окислительного стресса (Costa et al., 2010). Установлено, что промотор гена *AOX1a* чувствителен к действию пероксида водорода (Ho et al., 2008).

В ряде работ исследовано участие альтернативной оксидазы в формировании устойчивости к гипотермии. Большое количество исследований свидетельствует о повышении уровня транскриптов, содержания белка и активности альтернативной оксидазы при действии низких положительных температур у растений разных видов (Kurimoto et al., 2004; Matos et al., 2007; Грабельных и др., 2011; Wang et al., 2011; Shi et al., 2011; Chen et al., 2014). Однако в некоторых работах указывается на отсутствие положительной связи между активностью фермента и холодоустойчивостью растений (Ribas-Carbo et al., 2000).

У растений пшеницы идентифицировано два гена, кодирующих альтернативную оксидазу – *WAOX1a* и *WAOX1c*, количество транскриптов которых возрастает при холодовом закаливании (Takumi et al., 2002; Mizuno et al., 2008). Наряду с накоплением транскриптов увеличивается способность фермента к транспорту электронов, причем в большей степени у более морозоустойчивой озимой пшеницы по сравнению яровой (Mizuno et al., 2008).

Результаты трансформации растений арабидопсиса геном пшеницы *WAOX1a* свидетельствуют в пользу гипотезы об антиоксидантной функции альтернативной оксидазы при низкой температуре (Sugie et al., 2006). Растения арабидопсиса с усиленной экспрессией гена *AOX1a* отличались от обычных растений повышенной конститутивной устойчивостью к гипотермии. Однако после холодового закаливания эти различия нивелировались (Grabelnych et al., 2016).

С использованием этиолированных проростков пшеницы показано, что закаливание низкими положительными температурами вызывает индукцию синтеза альтернативной оксидазы и разобщающих белков, сопряженную с повышением способности альтернативной оксидазы к транспорту электронов в дыхательной цепи митохондрий (Грабельных и др., 2014). Дальнейшее повышение способности альтернативной оксидазы к транспорту электронов после действия на проростки закаливающей отрицательной температуры связано с сохранением в этих условиях высокой активности НАДН-дегидрогеназы. В целом энергорассеивающие системы митохондрий участвуют в антиоксидантной защите и адаптации озимых злаков к холоду и морозу (Грабельных и др., 2014; Grabelnych et al., 2016).

Низкомолекулярные антиоксиданты. Аскорбат у растений является самым распространенным низкомолекулярным антиоксидантом. В тканях высших растений (*Arabidopsis thaliana*) его содержание составляет 5 мкмоль/г сырого вещества (Kaur, Nayyar, 2014). Аскорбат обладает способностью непосредственно взаимодействовать с радикальными АФК, синглетным кислородом и пероксидом водорода, выступать в роли восстановителя при обезвреживании пероксида водорода пероксидазами и участвовать в восстановлении других низкомолекулярных антиоксидантов (Gill, Tuteja, 2010).

Имеются сведения о повышении его содержания у растений при холодовой адаптации (закаливании). Так, отмечено увеличение количества восстановленного аскорбата у сосны шотландской (Wlngsle et al., 1999), ржи (Galiba, 2013) и ячменя (Радюк и др., 2009). Примечательно, что у растений ячменя при действии температуры 2°С отмечалось увеличение не только восстановленного аскорбата, но и общего, что свидетельствует о возможности не только восстановления окисленной формы аскорбата, но и его синтеза *de novo* в таких условиях (Радюк и др., 2009).

Однако положительная связь между содержанием аскорбата и устойчивостью растений к холоду проявляется не всегда. Так, у более холодоустойчивого сорта клубники содер-

жание аскорбата было ниже, чем у слабоустойчивого (Luo et al., 2011). По-видимому, несмотря на универсальность аскорбата как наиболее распространенного АО, возможны видовые и сортовые особенности его участия в адаптационных процессах. Следует отметить, что пул аскорбата имеет значение не только для защиты растительных клеток от окислительных повреждений в момент действия стрессора, но и для восстановительных процессов в постстрессовый период (Радюк и др., 2009).

Глутатион (L-γ-глутамил-L-цистеинилглицин) как антиоксидант, содержащий сульфгидрильную группу может прямо взаимодействовать с пероксидом водорода, а также участвовать в восстановлении дегидроаскорбата (Foyer, Noctor, 2009).

Для постоянного удаления пероксида водорода необходимо, чтобы уровень восстановленных аскорбиновой кислоты и глутатиона был достаточно высоким. Для этого совместно действуют нескольких ферментов в так называемом аскорбат-глутатионовом цикле, обеспечивающем обезвреживание пероксида водорода. Цикл включает взаимосвязанные окислительно-восстановительные реакции с участием аскорбата, глутатиона и НАДФН (Asada, 1999). Аскорбатпероксидаза обезвреживает пероксид, окисляя аскорбат до монодегидроаскорбата. Последний может восстанавливаться монодегидроаскорбатредуктазой за счет НАДФН. Другой путь заключается в окислении монодегидроаскорбата до дегидроаскорбата. Для его восстановления дегидроаскорбатредуктазой используется воссстановленный глутатион (GSH). В свою очередь окисленный глутатион восстанавливается глутатионредуктазой с использованием НАДФН (Asada, 1999).

Получены сведения о повышении содержания восстановленного глутатиона при холодовой адаптации сосны шотландской (Wingsle, et al. 1999), клубники (Luo et al., 2011), ячменя (Радюк и др., 2009) и растений многих других видов. Обычно показатели содержания GSH и аскорбата оказываются взаимозависимыми (Galiba, 2013).

Флавоноиды являются полифенольными антиоксидантами, широко распространенными в растительном мире. Разнообразие флавоноидов огромно и составляет около восьми тысяч соединений (Тараховский и др., 2013). Все они в той или иной степени участвуют в антиоксидантной защите клеток. В соответствии с общепринятой точкой зрения антиоксидантные свойства флавоноидов объясняются их способностью служить ловушками для свободных радикалов, а также хелатировать ионы металлов, участвующих в радикальных процессах (Es-Safi et al., 2007). Подробно их роль в антиоксидантной защите растений при действии стрессовых факторов рассмотрена в нашем предыдущем обзоре (Колупаев, Ястреб, 2015).

Холодовое и другие стрессовые воздействия оказывают существенное влияние на содержание флавоноидов в растительных тканях. Так, сочетанное действие холодовой адаптации и повышенной освещенности на растения арабидопсиса приводило к увеличению содержания бесцветных флавоноидов (поглощающих в области УФ-В) в 2,5 раза, а антоцианов в 4 раза (Havaux, Kloppstech, 2001). Этиолированные проростки ржи, отличающиеся определенным уровнем конститутивной морозоустойчивости, содержали значительно большее количество антоцианов по сравнению с неустойчивыми проростками пшеницы (Колупаев и др., 2016). При холодовом закаливании морозоустойчивого сорта пшеницы содержание флавоноидов возрастало в 3 раза, а у неустойчивого – в 1,5 раза (Олениченко и др., 2008). Отмечена высокая корреляция между содержанием флавоноидов в листьях и морозоустойчивостью злаков (Климов, 2008). У растений кукурузы при воздействии холода (10°С) отмечалось усиление экспрессии генов фенилаланинаммонийлиазы и других ферментов, вовлеченных в синтез флавоноидов (Christie et al., 1994). О роли антоцианов в антиоксидантной защите свидетельствуют данные о более сильном окислительном повреждении мутантных растений арабидопсиса, не содержащих антоцианов, при действии на них избыточного освещения и низких температур (Havaux, Kloppstech, 2001).Следует отметить, что в листьях растений кукурузы содержание антоцианов повышалось не только при стрессовых температурах, но и при незначительном отклонении температуры от оптимума (ниже 20°С) (Pietrini, Massacci, 1998). Предполагается их участие в адаптивных настройках фотосинтетического аппарата.

Наряду с гидрофильными низкомолекулярными антиоксидантами в защите клеток от вторичного окислительного стресса при гипотермии задействованы и липидные АО. Так, у растений ржи при холодовом закаливании происходило двукратное повышение содержания каротиноидов и токоферола (Sterb et al., 1999).

Полифункциональные протекторы. Растворимые углеводы не только выполняют функции совместимого осмолита, что важно

для морозоустойчивости растений, но и стабилизируют биомембраны и выступают в качестве эффективных антиоксидантов (Колупаев, Трунова, 1992; Синькевич и др., 2009; Ramel et al., 2009). Антиоксидантное действие сахаров может быть прямым, связанным с перехватом свободных радикалов, что показано в модельных системах, генерирующих гидроксильный радикал (Morelli et al., 2003). В изолированных тилакоидах ингибирование тиол-регулируемого фермента цикла Кальвина фосфорибулокиназы гидроксил-радикалом предотвращалось при внесении в среду маннита (Shen et al., 1997). В растениях арабидопсиса, обработанных глюкозой или сахарозой, накапливалось меньше синглетного кислорода и пероксида водорода, при этом они были устойчивы к действию индуктора окислительного стресса атразина (Ramel et al., 2009).

У растений картофеля, трансформированных геном дрожжевой инвертазы и содержащих вследствие этого большее количество сахаров в листьях, наблюдалась более высокая устойчивость не только к холодовому, но и к окислительному (обработка паракватом) стрессам (Синькевич и др., 2009; 2010). При этом повышенная устойчивость обеспечивалась не ферментативной, а низкомолекулярной составляющей антиоксидантной защиты, в частности сахарами, содержание которых в клетках растений приблизительно на четыре порядка выше содержания аскорбата (Синькевич, 2010).

В то же время антиоксидантное действие сахаров может быть и непрямым – связанным с метаболической регуляцией компонентов антиоксидантной системы. Показана возможность индуцирования глюкозой многих генов стрессового ответа у арабидопсиса, в частности генов глутатион-S-трансфераз и транспортеров конъюгатов глутатиона (Couee et al., 2006). У растений брокколи синтез аскорбата активировался сахарозой. Интересно, что глюкоза была в этом отношении неактивной (Couee et al., 2006).

Сахара, по-видимому, могут оказывать косвенное влияние и на другие компоненты антиоксидантной системы. Так, в присутствии сахаров повышалась активность альтернативной оксидазы (Боровик и др., 2014). Также сообщается об индукции сахарами синтеза защитных белков дегидринов (Боровик, 2015). Сахара влияют и на активность H^+АТФаз плазмалеммы и на ионный транспорт (Климов, 2008).

Вполне естественно, что накоплен огромный объем сведений о повышении содержания сахаров при холодовой адаптации растений. Так, доминирующими водорастворимыми соединениями, накапливающимися в узлах кущения пшеницы при холодовом закаливании, являются фруктаны (Yoshida, Kavakami, 2013). Эффект накопления фруктозы, сахарозы и фруктанов заметно проявлялся у растений пшеницы через 3 суток закаливания (Vagujfalvi et al., 1999). У растений ржи при холодовой адаптации наблюдалось достаточно быстрое повышение содержания сахарозы и раффинозы, эффект увеличения содержания пролина проявлялся позже (Koster, Linch, 1992). Показано накопление сахаров у рапса при акклимации при температуре 4°C, которое наблюдалось через 7 и достигало максимума через 14 дней (Burbulis et al., 2011). У растений арабидопсиса формирование морозоустойчивости при действии низкой положительной температуры (1°C) тесно коррелировало с накоплением сахаров (Wanner, Junttila 1999).

Однако, вероятно, не все углеводы задействованы в процессе закаливания. Так, при холодовом закаливании растений арабидопсиса содержание раффинозы увеличилось с 0,02 до 1,68 мкмоль/г сырой массы. В то же время, трансгенные линии, конститутивно накапливающие большие количества раффинозы, не развивали морозоустойчивость (Zuther at al., 2004). Примечательно, что при холодовой акклимации арабидопсиса при 4°C отмечалось увеличение содержания крахмала в листьях (Guy et al., 2008).

Есть сведения о роли сахаров и в холодовой адаптации других теплолюбивых видов. Так, при акклимации *Jatropha curcas* при 12°C повышалось содержание сахаров (Ao et al., 2013). Сообщается также о различном влиянии на углеводный обмен условий закаливания. Так, при кратковременном (на 2 ч) снижении температуры ежедневно в течение недели в семядольных листьях огурца формировался более высокий метаболический статус, чем при непрерывном действии низкой температуры (происходило накопление как олигосахаридов, так и глюкозы, фруктозы, раффинозы) (Марковская и др., 2010). Авторы предположили, что при закаливании поддерживаются два пула сахаров, один из которых для конститутивных потребностей клеток, а другой – собственно для устойчивости.

В последнее время активно исследуется роль трегаллозы в адаптивных процессах. Показано повышение морозоустойчивости экзогенной трегаллозой, связанное со стабилизаци-

ей мембран этим углеводом (Janmohammadi, 2012).

Пролин сочетает в себе функции осмопротектора, мембранозащитного соединения и антиоксиданта (Liang et al., 2013). Помимо данных о способности пролина к связыванию свободных радикалов имеются подтверждения его антиоксидантной активности и в экспериментах *in vivo*. Например, показано, что растения сахарного тростника, трансформированные геном Δ^1-пирролин-5-карбоксилатсинтазы и накапливающие большое количество пролина, отличались от обычных растений высокой устойчивостью к агенту окислительного стресса параквату (Molinari et al., 2007). Известно, что наличие пролина в клеточной среде способствует повышению растворимости белков в воде и формированию термодинамически устойчивой их структуры, что важно для резистентности к осмотическим стрессам (Hassan et al., 2004), в т.ч. к обезвоживанию протопластов, обусловленному внеклеточным льдообразованием. В связи с этим предполагается, что его накопление наряду с сахарами может играть критически важную роль в устойчивости растений к гипотермии.

Повышение содержания пролина при холодовом закаливании зарегистрировано у многих видов растений: ржи (Koster, Linch, 1992), риса (Aghaee, 2011), овса (Liu et al., 2013), злакового растения трахинии двуколосковой (Colton-Gagnon et al., 2014), озимого рыжика (Семенова, Преснякова, 2007), бермудской травы (Zhang et al., 2010), капусты (Klima et al., 2012), табака (Konstantinova et al., 2002), хризантемы (Chen et al., 2014), ятрофы куркас (Ao et al., 2013) и др. Для растений некоторых видов (рожь, клевер) показано повышение содержания пролина при повреждающих, в т.ч. отрицательных температурах (Svenning et al., 1997; Колупаев и др., 2015).

Предполагается, что в накоплении пролина при холодовой адаптации как посредник задействован пероксид водорода, который может индуцировать экспрессию гена ключевого фермента синтеза пролина – Δ^1-пирролин-5-карбоксилатсинтазы (Kocsy et al., 2011). У растений *Jatropha curcas* зафксирована более высокая экспрессия гена и активность этого фермента после холодового закаливания (12°C), а также при повреждающей температуре (1°C) (Ao et al., 2013).

При холодовой деакклимации рапса экзогенный пролин вызывал повышение содержания сахаров и стабилизировал мембраны деакклимированных растений при их промораживании (Jonytiene et al., 2012). Трансформанты табака с повышенной экспрессией гена ключевого фермента синтеза пролина – Δ^1-пирролин-5- карбоксилат синтазы отличались высоким содержанием пролина и высокой устойчивостью к гипотермии (Konstantinova et al., 2002).

В то же время не во всех исследованиях подтверждается связь между накоплением растениями пролина и развитием их устойчивости к гипотермии. Так, изучение динамики содержания пролина в листьях озимой пшеницы в полевых условиях показало его повышение уже после воздействия морозов (Майор та ін., 2009). Показано увеличение содержания пролина при холодовом закаливании растений арабидопсиса, однако связи между динамикой накопления пролина и развитием морозоустойчивости не выявлено (Wanner, Junttila, 1999). Авторы рассматривают накопление пролина как следствие действия на растения низких температур, а не причину устойчивости к ним. У холодоустойчивого генотипа риса при нормальной и пониженной температуре содержание пролина в листьях и побегах было ниже, чем у неустойчивого (Aghaee et al., 2011).

Показано отсутствие различий в базовом содержании пролина в листьях озимой и яровой мягких пшениц (Apostolova et al., 2008). После холодового закаливания содержание пролина увеличивалось, однако различий между сортами не отмечалось. В то же время в работе Джавадиан и др. (2010) выявлено более существенное увеличение содержания пролина у морозоустойчивого сорта озимой пшеницы по сравнению со среднеустойчивым при длительном холодовом закаливании. В сообщении Tantau et al. (2004) показана достаточно тесная связь между накоплением пролина и морозоустойчивостью линий ячменя, выращиваемых *in vitro*. У более холодоустойчивого генотипа земляники отмечено более высокое содержание пролина при холодовой адаптации, которое сочеталось с меньшим проявлением окислительных повреждений (Luo et al., 2011). Таким образом, по-видимому, у отдельных видов растений вклад пролина в антиоксидантную защиту при холодовом стрессе может быть достаточно высоким.

Защитные белки

К белкам, важным для устойчивости растений к гипотермии, относятся молекулярные шапероны и дегидрины, защищающие макромолекулы и мембраны от повреждений, связанных с обезвоживанием клеток и тепловой денатурацией белков; антифризные белки, предот-

вращающие образование льда; белки, разобщающие дыхание и фосфорилирование (Гамбург и др., 2014). Они могут в той или иной степени оказывать косвенное антиоксидантное действие, предотвращая нарушения функций мембран, которые приводят к усилению стохастического образования АФК. В то же время вклад некоторых групп этих белков в предотвращение развития окислительного стресса может быть весьма существенным. Роль альтернативной оксидазы в снижении образования АФК в митохондриях рассмотрена выше.

Дегидрины, синтез которых индуцируется действием низких температур, засухи, засоления, ионов тяжелых металлов, выполняют не только шаперонную, криопротекторную, антифризную, но и антиоксидантную и ионсвязывающую функции, что выявлено и в экспериментах *in vitro* (Kosova et al., 2010). Для незакаленных растений экстремофилов *Thellungiella salsuginea* ((Pall.) O.E. Schulz), обладающих способностью выдерживать действие темпеаратуы до минус 15°С без закаливания, было характерным высокое содержание дегидринов, их спектр был более разнообразным, чем у арабидопсиса, у которого иммунохимически обнаруживался только один дегидрин с мол. массой 70 кДа. У *Thellungiella* при этом были выявлены белки с мол. массой 72, 70 и 51 кДа (Гамбург и др., 2014). При закаливании у *Arabidopsis* происходило увеличение содержания только дегидрина мол. массой 70 кД. Закаливание *Thellungiella* приводило к снижению содержания этих белков по сравнению с незакаленными растениями. При этом у нее появлялись два новых белка (M_r 42 и 45 кДа), содержание которых было очень высоким. Дегидрины со сходной молекулярной массой отсутствовали у *Arabidopsis.* Таким образом, несмотря на близкое родство растений *Arabidopsis* и *Thellungiella*, наряду с наличием одинаковых по молекулярной массе дегидринов, у *Thellungiella* обнаруживались специфичные для нее белки (Гамбург и др., 2014).

Возможно, различия растений арабидопсиса и теллунгиеллы по конститутивной и индуцированной устойчивости к заморозкам связаны с этими белками. Следует отметить, что готовность *Thellungiella* противостоять стрессу (Amtmann, 2005) требует значительных затрат. Вероятно, именно поэтому растения теллунгиеллы в обычных условиях растут и развиваются медленнее, чем растения арабидопсиса (Wong et al., 2011).

В почках березы плосколистной (*Betula platyphylla* Sukacz.) выявлены две группы дегидринов: белки с мол. массой 73 кДа, которые обнаруживались круглогодично, но их содержание снижалось летом; и протеины с мол. массой 15-21 кДа, очевидно, связанные с формированием морозоустойчивости, поскольку они отсутствовали летом и содержались в большом количестве зимой (Пономарев и др., 2014). Накопление дегидрина (47 кД) наблюдалось у растений капусты в каллусной культуре и было связано с морозоусточивостью видов и сортов (Klima et al., 2012). Считается, что дегидрины могут быть использованы в качестве непрямых стресс-маркеров, в том числе и маркеров морозоустойчивости (Kosova et al., 2010).

Как уже отмечалось, был выявлен эффект индуцирования накопления дегидринов действием сахарозы у проростков пшеницы (Боровик, 2015). Также в регуляции экспрессии гена дегидрина у растений пшеницы принимает участие абсцизоваая кислота (АБК). Ингибирование синтеза АБК флуридоном предотвращало накопление дегидрина, вызываемое холодом (Шакирова и др., 2009).

Функциональное взаимодействие компонентов антиоксидантной системы

Компоненты антиоксидантной системы находятся в функциональном взаимодействии не только с сигнальными и гормональными посредниками (Колупаев, Карпец, 2017), но и друг с другом. Несмотря на то, что функционирование антиоксидантной системы растений в стрессовых условиях активно исследуется уже в течение четверти столетия, влияние одних ее компонентов на функционирование других до сих пор остается малоизученным. В то же время имеются примеры влияния низкомолекулярных АО на активность ферментативной составляющей антиоксидантной системы и наоборот (Колупаев, 2016). Такие эффекты могут проявляться в особенностях адаптивных изменений антиоксидантной системы растений в условиях действия холода.

Так, у растений картофеля, трансформированных геном дрожжевой инвертазы и накапливающих повышенное количество сахаров в листьях, а также у растений дикого типа, выращиваемых на среде с сахарозой, в условиях адаптации к холоду отмечалась более низкая активность СОД, чем у контрольных (Синькевич и др., 2009). Авторы полагают, что это связано со способностью сахарозы связывать радикальные АФК, т. е. СОД и сахара рассматри-

ваются как функционально взаимозаменяемые компоненты антиоксидантной системы.

При сравнении функционирования антиоксидантной системы злаков, различающихся по морозоустойчивости – проростков озимых ржи (*Secale cereale* L.), мягкой (*Triticum aestivum* L.) и твердой (*T. durum* L.) пшеницы и ячменя (*Hordeum vulgare* L.) было сделано заключение о видовых различиях вклада разных защитных компонентов (Колупаев и др., 2015). Так, конститутивная морозоустойчивость ржи, проявляющаяся без закаливания, может быть обусловлена высоким базовым содержанием низкомолекулярных протекторов – сахаров и особенно пролина. При этом у незакаленных проростков ржи проявлялась и устойчивость к окислительным повреждениям, вызываемым промораживанием, что выражалось в отсутствии характерного для других видов злаков повышения содержания продукта ПОЛ МДА. В проявлении морозоустойчивости проростков мягкой пшеницы, по-видимому, также играют роль сахара и пролин, однако увеличение их содержания, необходимое для достижения определенного уровня морозоустойчивости, происходит только после воздействия закаливающих температур. Изменения активности СОД в большей степени вносят вклад в развитие индуцированной закаливанием морозоустойчивости проростков твердой пшеницы и ячменя.

Также установлено, что особенностью морозоустойчивых злаков является их способность к накоплению пролина при действии отрицательных температур. Возможно, что пролин, проявляя упомянутые выше свойства молекулярного шаперона, способствует сохранению активности антиоксидантных ферментов в условиях криостресса. Примечательно, что именно у видов злаков, накапливающих дополнительное количество пролина при действии отрицательных температур (рожь и мягкая пшеница), повышение количества продуктов ПОЛ при криострессе было менее существенным, чем у ячменя и твердой пшеницы, у которых содержание пролина в этих условиях не увеличивалось (Колупаев и др., 2015).

Сравнительно недавно получены сведения о способности пролина модифицировать экспрессию генов антиоксидантных ферментов у растений (Радюкина и др., 2011; Carvalho et al., 2013).

С другой стороны, в культурах клеток показано повышение экзогенным пролином активности СОД, каталазы, ферментов аскорбат-глутатионового цикла при действии различных агентов окислительного стресса (Islam et al., 2009; Xu et al., 2009). Можно предположить, что это связано с шаперонным (антиденатурационным) действием пролина, которое установлено в отношении ряда белков (Mishra, Dubey, 2006). Экзогенный пролин частично нивелировал повышение активности СОД и каталазы в листьях винограда, вызываемое их обработкой пероксидом водорода, но в то же время способствовал сохранению активности аскорбатпероксидазы и неспецифической пероксидазы (Ozden et al., 2009).

Таким образом, путем влияния на содержание АФК, пролин может снижать экспрессию генов антиоксидантных ферментов. С другой стороны, действуя как шаперон, эта аминокислота может способствовать сохранению активности антиоксидантных ферментов в стрессовых условиях. Возможно, что подобные эффекты на ферментативные компоненты антиоксидантной системы оказывают и другие низкомолекулярные соединения.

Холодоустойчивость и кросс-толерантность

Термин «кросс-толерантность» или «перекрестная устойчивость» впервые был использован Hale в 1969 году и означает формирование устойчивости организма к одному неблагоприятному фактору предварительным действием другого (Hale, 1969). Несмотря на богатую феноменологию эффектов перекрестной устойчивости к стрессорам растений и других организмов (Cheeseman, 2007; Ахмад и др., 2010; Zhong-Guang et al., 2011), механизмы этого явления до сих пор исследованы недостаточно. Существует точка зрения, согласно которой кросс-толерантность базируется в первую очередь на неспецифических механизмах устойчивости. В частности, вероятно, что индуцирование перекрестной резистентности обусловлено перекрыванием сигнальных путей и систем (Тарчевский, 2002).

В последнее время становится все более популярной гипотеза о том, что основой кросс-адаптации растений является эффективное функционирование антиоксидантной защитной системы, поскольку окислительный стресс – это общее негативное следствие действия практически любого стрессора (Радюкина и др., 2012). Все неблагоприятные условия окружающей среды приводят к увеличению образования АФК или нарушению баланса между образованием АФК и их обезвреживанием.

В ряде исследований продемонстрировано участие антиоксидантной системы в формировании перекрестной устойчивости растений к холодовому и другим стрессам. Так, показано, что предварительное воздействие на проростки ячменя низкой (около 0°С) температуры вызывало повышение их устойчивости к гипертермии, что сопровождалось повышением активности СОД, аскорбатпероксидазы, каталазы и глутатионредуктазы в условиях последующего действия высоких температур (Mei, Song, 2010).

Как уже отмечалось, у растений ржи, отличающихся от других злаков (в том числе озимой пшеницы), определенным уровнем конститутивной морозоустойчивости, проявляются специфические особенности функционирования антиоксидантной системы, в частности, высокое содержание пролина в тканях, высокая активность гваяколпероксидазы и других антиоксидантных ферментов и низкий уровень ПОЛ после воздействия криостресса (Колупаев и др., 2015). Еще одной особенностью растений ржи является большое содержание антоцианов, обладающих чрезвычайно высокой антиоксидантной активностью. При этом оказалось, что проростки ржи в незакаленном состоянии отличались от проростков пшеницы большей устойчивостью к двум агентам окислительного стресса – пероксиду водорода и сульфату железа (II) (Колупаев и др., 2016). У незакаленных проростков ржи при действии агентов окислительного происходило повышение активности комплекса антиоксидантных ферментов – СОД, каталазы и гваяколпероксидазы, и сохранялся более высокий по сравнению с проростками пшеницы пул антоцианов.

С другой стороны, предварительное холодовое закаливание индуцировало проявление повышенной активности антиоксидантных ферментов у проростков обоих видов при действии агентов окислительного стресса. В целом, изложенные результаты свидетельствуют о связи между как конститутивной, так и индуцированной холодовым закаливанием морозоустойчивостью злаков и их резистентностью к агентам окислительного стресса (Колупаев и др., 2016).

На основании приведенных примеров, однако, нельзя умалять значение специфических механизмов адаптации. Антиоксидантная система является важным, но далеко не единственным механизмом устойчивости, проявление которого зависит от других составляющих резистентности. Так, показано, что у устойчивых к охлаждению сортов риса, в отличие от чувствительных, в условиях холодового стресса не проявлялись признаки окислительных повреждений и сохранялась высокая активность антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы и аскорбатпероксидазы). Однако при действии засухи холодоустойчивые сорта проявляли признаки окислительных повреждений, активность антиоксидантных ферментов у них была низкой (Guo et al., 2006). В то же время у засухоустойчивых сортов не проявлялись признаки глубокого окислительного стресса в условиях засухи, но снижалась активность антиоксидантных ферментов и происходило накопление пероксида водорода и продуктов ПОЛ в условиях гипотермии (Guo et al., 2006).

По-видимому, функционирование антиоксидантной системы значительно зависит от состояния систем, специфически повреждаемых тем или иным стресс-фактором. В случае с холодовым стрессом, вероятно, функционирование антиоксидантной системы зависит от способности растений сохранять функциональные свойства мембран. Изучение влияния низких температур на интенсивность образования АФК и процессов ПОЛ в листьях растений, трансформированных геном *desA* Δ12-ациллипидной десатуразы из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803, показало, что жесткое краткосрочное их охлаждение не вызывало сильного всплеска свободнорадикального окисления, в то же время у нетрансформированных растений происходило резкое увеличение количества АФК и конечных продуктов ПОЛ (Демин и др., 2008). По мнению авторов, устойчивость трансформантов к окислительному стрессу связана с обусловленным активностью гетерологичной Δ12-ацил-липидной десатуразы образованием второй двойной связи после 12-го атома углерода олеата с его превращением в линолевую кислоту, придающую биологическим мембранам бóльшую текучесть и устойчивость к низкотемпературному стрессу (Демин и др., 2008).

Следует отметить, что трансформанты, содержащие ген *desA* цианобактерии, оказались устойчивыми и к прямому агенту окислительного стресса. При обработке паракватом у этих растений генерация супероксидного анион-радикала, накопление диеновых конъюгатов и малонового диальдегида проявлялись слабее, чем у нетрансформированных растений (Демин и др., 2011). При этом у трансформантов в ответ на обработку агентом окислительного стресса активация СОД, каталазы и пероксида-

зы была менее существенной, чем у обычных растений. Авторы предполагают, что экспрессия дополнительного гена гетерологичной Δ12-ацил-липидной десатуразы в растениях картофеля, трансформированных геном *desA*, приводит к повышению устойчивости трансформантов к окислительному стрессу за счет более эффективного поддержания стабильности функционирования мембранных структур клетки, позволяющей предотвращать «сброс» электронов на кислород, и, в результате, усиление образования АФК (Демин и др., 2011).

Заключение

Несмотря на повышение среднегодовой температуры, которое наблюдается в последние десятилетия, актуальность проблемы холодо- и морозоустойчивости растений не только не снижается, но и возрастает. В последние годы в Украине и сопредельных странах отмечается большая амплитуда температур в зимний и весенний периоды от высоких к низким, а в ближайшем будущем прогнозируются аномально холодные зимы с резкими перепадами температур и недостатком снежного покрова. В связи с этим познание механизмов адаптации растений к гипотермии имеет не только важное фундаментальное, но и прикладное значение.

В последние десятилетия достигнуты значительные успехи в понимании механизмов повреждения теплолюбивых растений при действии низких положительных температур и устойчивых к низким температурам при действии мороза.

Нарушение функциональной активности мембран (в первую очередь внутренних мембран хлоропластов и митохондрий) в результате перехода их ненасыщенных жирных кислот из жидкостно-кристаллического в состояние геля считается ведущей причиной повреждений теплолюбивых растений при действии низких положительных температур. Следствием этих повреждений может быть дезинтеграция электрон-транспортных цепей, нарушение активности мембранных АТФаз, процессов энергетического обмена и фотосинтеза.

При действии отрицательных температур у растений происходит образование льда в межклетниках. Такое явление позволяет им избежать летального образования льда внутри клеток. Однако образование внеклеточного льда может приводить к существенному обезвоживанию протопластов и механическим повреждениям обезвоженной протоплазмы. Прямое влияние температуры на состояние липидов мембран и липидно-белковые связи является причиной повреждения растений не только при низких положительных, но и при отрицательных температурах.

Окислительный стресс, связанный в первую очередь с нарушением транспорта электронов в электрон-транспортных цепях, также рассматривается как одна из важных причин повреждения растений. Такие процессы обусловлены вызываемым холодом изменением состояния липидов внутренних мембран хлоропластов и митохондрий. АФК, образующиеся в результате сбоев в работе электрон-транспортных цепей, в дальнейшем могут инициировать неферментативные реакции Фентона и Хабера-Вейса, приводящие к дополнительному увеличению их количества.

Механизмы восприятия растением сигнала холодового стресса и его трансдукции в генетической аппарат пока понятны далеко не полностью. Предполагается, что первичным сигналом при восприятии температурного стресса растениями являются изменения текучести биологических мембран. Однозначных представлений о том, что может быть первичным сенсором этих сигналов пока нет. Получены доказательства роли гистидинкиназы Hik33 в восприятии снижения температуры цианобактериями. Другими температурными сенсорами могут быть кальциевые каналы, а также стартовые ферменты сигнальных цепей. В частности, получены данные, указывающие на роль НАДФН-оксидазы, локализованной в плазматической мембране, в формировании реакций на холодовой стресс. Тем не менее, четких представлений о последовательности событий в растительной клетке при восприятии и трансдукции сигнала гипотермии пока нет.

Среди защитных систем растений, активирующихся при холодовом закаливании и важных для выживания при экстремальных низких температурах, особое место занимает антиоксидантная система. Многочисленными исследованиями, выполненными на растениях разной таксономической принадлежности, показана ее активация при закаливании и умеренном холодовом стрессе. В то же время антиоксидантная система является многокомпонентной. Ее составляющие находятся в функциональном взаимодействии, особенности которого начали активно изучать только в последние годы. В настоящее время как компоненты антиоксидантной защиты рассматриваются альтернативная оксидаза и другие разобщающие белки, функционирование которых снижает ве-

роятность образования АФК в митохондриях в стрессовых условиях.

Одной из причин образования АФК при действии на растения отрицательных температур может быть нарушение функций биомакромолекул и мембранных комплексов вследствие обезвоживания, обусловленного образованием внеклеточного льда. В связи с этим агенты, предотвращающие обезвоживание, а также оказывающие мембраностабилизирующее и антиденатурационное действие могут рассматриваться как компоненты антиоксидантной системы. Хорошо известно участие пролина и сахаров в этих процессах. В то же время указанные соединения обладают и прямым антиоксидантным действием, что позволяет относить их к важным полифункциональным защитным факторам. Определенный вклад в поддержание про-/антиоксидантного равновесия, вероятно, вносят и белки-дегидрины. В связи с этим заманчивой представляется количественная оценка вклада этих агентов в антиоксидантную защиту и устойчивость растений к низким температурам. В то же время роль тех или иных защитных систем может существенно отличаться у растений разных видов. Таким образом, скриниг доноров устойчивости для потребностей селекции возможен только с учетом видовых особенностей функционирования антиоксидантной и осмопротекторной систем. При этом отдельно взятый антиоксидантный фермент или низкомолекулярный АО вряд ли могут быть оценочными критериями.

Известно, что антиоксидантная, а также другие протекторные системы растений, могут быть индуцированы действием экзогенных сигнальных посредников и стрессовых фитогормонов (Колупаев, Карпец, 2017). Однако использование таких приемов с целью повышения холодо- и морозоустойчивости растений остается весьма проблематичным в связи со сложностью и значительной продолжительностью адаптивных изменений. Кроме того, проявление свойства холодо- и морозоустойчивости на уровне целого растения в естественных условиях, как правило, существенно отличается от такового на модельных объектах и в факторостатных условиях (Gusta et al., 2013). Однако это не означает бесперспективность приемов индуцирования устойчивости растений экзогенными соединениями. С учетом видовых особенностей такие подходы могут оказаться эффективными.

Устойчивость растений к низким температурам зависит не только от физиолого-биохимических процессов, происходящих при акклимации, но и при деакклимации. В связи с нестабильным температурным режимом в зимний период изучение процессов деакклимации приобретает особое значение. В то же время удельный вес таких исследований пока весьма незначителен (Gusta et al., 2013).

Исследования перекрестной устойчивости растений к неблагоприятным климатическим факторам также сохраняют свою актуальность. Наличие специфических механизмов холодо- и морозоустойчивости осложняет возможности сочетания этих свойств с засухо- и жароустойчивостью. В то же время контроль устойчивости одновременно к нескольким факторам, как сопровождение исследований в области селекции, по-видимому, необходим для предотвращения потери резистентности к одним факторам при ее повышении к другим.

ЛИТЕРАТУРА

Ахмад П., Джалил К.А., Шарма С. Влияние солевого стресса на систему антиоксидантной защиты, перекисное окисление липидов, ферменты метаболизма пролина и биохимическую активность у двух генотипов шелковицы // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, № 4. – С. 547-555.

Боровик О.А., Грабельных О.И., Королева Н.А., Побежимова Т.П., Войников В.К. Влияние углеводного статуса и низкой температуры на дыхательный метаболизм митохондрий из этиолированных листьев озимой пшеницы // J. Stress Physiol. Biochem. – 2014. – Т. 10, № 4. – С. 118-130.

Боровик О.А. Функционирование альтернативной оксидазы и НАД(Ф)Н-дегидрогеназ II типа в митохондриях из этиолированных и зеленых побегов озимой пшеницы при холодовом закаливании: Автореферат дисс. … канд. биол. наук. – Иркутск, 2015. – 22 с.

Войников В.К. Энергетическая и информационная системы растительных клеток при гипотермии. – Новосибирск: Наука, 2013. – 212 с.

Гамбург К.З., Коротаева Н.Е., Бадуев Б.К., Боровский Г.Б., Войников В.К. Взаимосвязь различий в устойчивости к заморозкам арабидопсиса и теллунгиеллы с содержанием белков теплового шока и дегидринов // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 3. – С. 343-349.

Гималов Ф.Р., Баймиев А.Х., Матниязов Р.Т., Чемерис А.В. Вахитов В.А. Начальные этапы низкотемпературной индукции экспрессии гена белка холодового шока капусты // Биохимия. – 2004. – Т. 69, № 5. – С. 706-711.

Грабельных О.И., Боровик О.А., Таусон Е.Л., Побежимова Т.П., Катышев А.И., Павловская Н.С., Королева Н.А., Любушкина И.В., Башмаков В.Ю., Попов В.Н., Боровский Г.Б., Войников В.К. Мито-

хондриальные энергорассеивающие системы (альтернативная оксидаза, разобщающие белки и «внешняя» NADH-дегидрогеназа) вовлечены в развитие морозоустойчивости проростков озимой пшеницы // Биохимия. – 2014. – Т. 79, вып. 6. – С. 645-660.

Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Корзун А.М., Возненко С.А., Королева Н.А., Павловская Н.С., Боровик О.А., Войников В.К. Участие цианидрезистентного дыхания в термогенерации и антиокислительной защите клетки в проростках озимой пшеницы при холодовом воздействии // J. Stress Physiol. Biochem. – 2011. – V. 7, № 4. – P. 446-456.

Дёмин И.Н., Дерябин А.Н., Синькевич М.С., Трунова Т.И. Введение гена *desA* Δ12-ацил-липидной десатуразы цианобактерии повышает устойчивость растений картофеля к окислительному стрессу, вызванному гипотермией // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – С. 710-720.

Дёмин И.Н., Нарайкина Н.В., Цыдендамбаев В.Д., Мошков И.Е., Трунова Т.И. Введение гена *desA* Δ12-ацил-липидной десатуразы цианобактерии повышает устойчивость картофеля к окислительному стрессу, индуцированному паракватом // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 4. – С. 574-581.

Джавадиан Н., Каримзаде Г., Мафузи С., Ганати Ф. Вызванные холодом изменения активности ферментов и содержания пролина, углеводов и хлорофиллов у пшеницы // Физиология растений. – 2010. – Т. 57. – С. 580-588.

Дьяченко Л.Ф., Тоцкий В.Н., Файт В.И., Топтиков В.А. Экспрессивность некоторых ген-энзимных систем в проростках, различающихся по генам *Vrd* линий озимой мягкой пшеницы в процессе закаливания // Вісн. Одеськ. нац. ун-ту. Біологія. – 2007. – Т. 12, вип. 5. – С. 103-111.

Игнатенко А.А., Репкина Н.С., Титов А.Ф., Таланова В.В. Реакция растений огурца на низкотеимературные возднействия разной интенсивности // Тр. Карельск. научн. центра РАН. – 2016. – № 11. – С. 57-67.

Іващенко О.О., Іващенко О.О. Шляхи адаптації землеробства в умовах змін клімату // Збірн. наук. праць Нац. наукового центру «Інститут землеробства УААН». – К.: ВД «ЕКМО», 2008. – С. 15-21.

Климов С.В., Бураханова Е.А., Дубинина И.М., Алиева Г.П., Сальникова Е.Б., Олениченко Н.А., Загоскина Н.В., Трунова Т.И. Подавление донорной функции влияет на распределение углерода и морозостойкость вегетирующих растений озимой пшеницы // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 3. С. 340-347.

Колесниченко А.В., Войников В.К. Белки низкотемпературного стресса растений. – Иркутск: Арт-пресс, 2003. – 196 с.

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. Роль сигнальных посредников и стрессовых гормонов в регуляции антиоксидантной стстемы растений // Физиология растений и генетика. – 2017. – Т. 49, № 6. – С. 463-481.

Колупаев Ю.Е., Обозный А.И., Швиденко Н.В. Роль пероксида водорода в формировании сигнала, индуцирующего развитие теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 2. – С. 221-229.

Колупаев Ю.Е., Рябчун Н.И., Вайнер А.А., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Активность антиоксидантных ферментов и содержание осмолитов в проростках озимых злаков при закаливании и криострессе // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 4. – С. 533-541.

Колупаев Ю.Е., Трунова Т.И. Особенности метаболизма и защитные функции углеводов растений в условиях стрессов // Физиология и биохимия культ. растений. – 1992. – Т. 24, № 6. – С. 523-533.

Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И., Рябчун Н.И., Кириченко В.В. Конститутивная и индуцированная холодом устойчивость проростков ржи и пшеницы к агентам окислительного стресса // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 3. – С. 346-358.

Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Физиологические функции неэнзиматических антиоксидантов растений // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2015. – Вип. 2 (35). – С. 6-25.

Левитт Дж. Повреждения и выживание после замораживания и связь с другими повреждающими воздействиями // Холодоустойчивость растений / Пер. с англ. Г.Н. Зверевой. М.М. Тюриной. Под ред. и с предисл. Г.А. Самыгина. – М.: Колос, 1983. – С. 10-36.

Лось Д.А. Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений // Вестн. Российск. АН. – 2005. – Т. 75, № 4. – С. 338-345.

Лось Д.А. Сенсорные системы цианобактерий. – М.: Научный мир, 2010. – 218 с.

Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. – 208 с.

Майор П.С., Захарова В.П., Великожон Л.Г. Зміни вмісту вільного проліну у рослинах озимої пшениці протягом осінньо-зимового періоду // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т. 41, № 5. – С. 371-383.

Майор П.С., Захарова В.П., Великожон Л.Г. Активність деяких антиоксидантних ферментів у рослинах озимої пшениці за природних умов загар-

тування // Физиология и биохимия культ. растений. – 2011. – Т. 43, № 6. – С. 507-512.

Марковская Е.Ф., Шерудило Е.Г., Галибина Н.А., Сысоева М.И. Роль углеводов в реакции теплолюбивых растений на кратковременные и длительные низкотемпературные воздействия // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, № 5. – С. 687-694.

Марковская Е.Ф., Шибаева Т.Г. Низкотемпературные сенсоры у растений: гипотезы и предположения // Изв. Российск. АН. Сер. Биологическая. – 2017. – № 2. – С. 120-128.

Медведев С.С. Кальциевая сигнальная система растений // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 2. – С. 283-305.

Медведев С.С., Танкелюн О.В., Батов А.Ю., Воронина О.В., Мартинец Я., Махачкова И. Ионофорные функции фосфатидной кислоты в растительной клетке // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 1. – С. 45-53.

Моргун В.В., Майор П.С. Зимо- і морозостійкість озимих злакових культур // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. – К.: Логос, 2009. – Т. 2. – С. 105-165.

Нарайкина Н.В. Особенности закаливания холодостойких растений картофеля к гипотермии и роль Δ12-ацил-липидной десатуразы: Автореферат дисс. … канд. биол. наук. – М., 2017. – 20 с.

Олениченко Н.А., Загоскина Н.В., Астахова Н.В., Трунова Т.И., Кузнецов Ю.В. Первичный и вторичный метаболизм озимой пшеницы при холодовом закаливании и действии антиоксидантов // Прикл. биохимия и микробиология. – 2008. – Т. 44, № 5. – С. 589-594.

Пиотровский М.С., Шевырева Т.А., Жесткова И.М., Трофимова М.С. Активация НАДФ·Н-оксидазы плазмалеммы при действии низких положительных температур на этиолированные проростки кукурузы // Физиология растений. – 2011. – Т. 58. – С. 234-242.

Пономарев А.Г., Татаринова Т.Д., Перк А.А., Васильева И.В., Бубякина В.В. Дегидрины, ассоциированные с формированием морозоустойчивости березы плосколистной // Физиология растений. – 2014. Т. 61, № 1. – С. 114-120.

Радюк М.С., Доманская И.Н., Щербаков Р.А., Шалыго Н.В. Влияние низкой положительной температуры на содержание низкомолекулярных антиоксидантов и активность антиоксидантных ферментов в зеленых листьях ячменя // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 2. – С. 193-199.

Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Макарова С.С., Кузнецов Вл.В. Экзогенный пролин модифицирует дифференциальную экспрессию генов супероксиддисмутазы в растениях шалфея при UV-B облучении // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 1. – С. 49-57.

Радюкина Н.Л., Тоайма В.И.М., Зарипова Н.Р. Участие низкомолекулярных антиоксидантов в кросс-адаптации лекарственных растений к последовательному действию UV-B облучения и засоления // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 1. – С. 80–88.

Репкина Н.С., Игнатенко А.А., Панфилова К.М., Титов А.Ф. , Таланова В.В. Динамика активности супероксиддисмутазы и экспрессии кодирующих ее генов в листьях пшеницы при холодовой адаптации // Тр. Карельск. научн. центра РАН. – 2017. – № 5. – С. 89-98.

Рогов А.Г., Звягильская Р.А. Физиологическая роль митохондриальной альтернативной оксидазы (от дрожжей до растений) // Биохимия. – 2015. – Т. 80, вып. 4. - С. 472-479.

Самыгин Г.А. Причины вымерзания растений. – М., 1974. – 196 с.

Семенова Е.Ф., Преснякова Е.В. Биохимический мониторинг морозоустойчивости растений озимого рижика // С.-х. биология. – 2007. – № 3. – С. 106-109.

Синькевич М.С., Дерябин А.Н., Трунова Т.И. Особенности окислительного стресса у растений картофеля с измененным углеводным метаболизмом // Физиология растений. – 2009. – Т. 56. – С. 186-192.

Синькевич М.С., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И. Участие сахаров в системе антиоксидантной защиты от индуцированного паракватом окислительного стресса у картофеля, трансформированного геном инвертазы дрожей // Докл. АН. [Россия]. – 2010. – Т. 434, № 4. – С. 570-573.

Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. – Пущино: Synchrobook, 2013. – 310 с.

Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.

Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс: 64-е Тимиряз. чт. – М.: Наука, 2007. – 54 с.

Шакирова Ф.М., Аллагулова Ч.Р., Безрукова М.В., Авальбаев А.М., Гималов Ф.Р. Роль эндогенной АБК в индуцируемой холодом экспрессии *TADHN* гена дегидрина в проростках пшеницы // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 5. – С. 796-800.

Aghaee A., Moradi F., Zare-Maivan H., Zarinkamar F., Pour Irandoost H., Sharifi P. Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage // Afr. J. Biotechnol. – 2011. – V. 10. – P. 7617-7621.

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.

Amtmann A. Learning from evolution: Thellungiella // Mol. Plant. – 2009. – V. 2. – P. 3-12.

Ao P.X., Li Z.G., Gong M. Involvement of compatible solutes in chill hardening-induced chilling tolerance in *Jatropha curcas* seedlings // Acta Physiol. Plant. – 2013. – V. 35. – P. 3457-3464. – Doi: 10.1007/s11738-013-1381-z.

Apostolova P., Yordanova R., Popova L. Response of antioxidative defence system to low temperature stress in two wheat cultivars // Gen. Appl. Plant Physiol. – 2008. – V. 34. – P. 281-294.

Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1999. – V. 50. – P. 601-639.

Asadi-Sanam S., Pirdashti H., Hashempour A., Zavareh M., Nematzadeh G.A., Yaghoubian Y. The Physiological and biochemical responses of eastern purple coneflower to freezing stress // Rus. J. Plant Physiol. – 2015. – V. 62. – P. 515-523.

Awasthi R., Bhandari K., Nayyar H. Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops // Front. Environ. Sci. – 2015. – V. 3:11. – Doi: 10.3389/fenvs.2015.00011.

Baek K.H., Skinner D.Z. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines // Plant Sci. – 2003. – V. 165. – P. 1221-1227.

Baxter A., Mittler R., Suzuki N. ROS as key players in plant stress signalling // J. Exp. Bot. – 2013. – Doi:10.1093/jxb/ert375

Brush RA, Griffith M, Mlynarz A. Characterization and quantification of intrinsic ice nucleators in winter rye (*Secale cereale*) leaves // Plant Physiol. – 1994. – V. 104. – P. 725-735.

Burbulis N., Jonytiene V., Kupriene R., Blinstrubiene A. Changes in proline and soluble sugars content during cold acclimation of winter rapeseed shoots *in vitro* // J. Food Agricult. Environ. – 2011. – V. 9. – P. 371-374.

Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic *Swingle citrumelo* // Mol. Biol. Rep. – 2013. – V. 40. – P. 3269-3279.

Cheeseman J.M. Hydrogen peroxide and plant stress: a challenging relationship // Plant Stress. – 2007. – V. 1, № 1. – P. 4-15.

Chen Y., Jiang J., Chang Q., Gu C., Song A., Chen S., Dong B., Chen F. Cold acclimation induces freezing tolerance via antioxidative enzymes, proline metabolism and gene expression changes in two chrysanthemum species // Mol. Biol. Rep. – 2014. – V. 41. – P. 815-822.

Christie P.J., Alfenito M.R., Walbot V. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings // Planta. – 1994. – V. 194. – P. 541-549.

Colton-Gagnon K., Ali-Benali M.A., Mayer B.F., Dionne R., Bertrand A., Do Carmo S., Charron J.B. Comparative analysis of the cold acclimation and freezing tolerance capacities of seven diploid *Brachypodium distachyon* accessions // Ann. Bot. – 2014. – V. 113. – P. 681-693.

Costa J.H., Mota E.F., Cambursano M.V., Lauxmann M.A., de Oliveira L.M., Silva Lima Mda G., Orellano E.G., Fernandes de Melo D. Stress-induced co-expression of two alternative oxidase (*VuAox1* and *2b*) genes in *Vigna unguiculata* // J. Plant Physiol. – 2010. – V. 167. – P. 561-570.

Couee I., Sulmon C., Gouesbet G., Amrani A.E. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants // J. Exp. Bot. – 2006. – V. 57. – P. 449-459.

Cvetkovska M., Vanlerberghe G.C. Alternative oxidase impacts the plant response to biotic stress by influencing the mitochondrial generation of reactive oxygen species // Plant Cell Environ. – 2013. – V. 36. – P. 721-732.

Engvild K.C. A review of the risks of sudden global cooling and its effects on agriculture // Agricult. Forest Meteorol. – 2003. – V. 115, iss. 3-4. – P. 127-137.

Es-Safi N. E., Ghidouche S., Ducrot P.H. Flavonoids: hemisynthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity // Molecules. – 2007. – V. 12. – P. 2228-2258.

Foyer C.H., Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications // Antioxid. Redox Signal. – 2009. – V. 11. – P. 861-906.

Galiba G., Vanková R., Tari I., Bánfalvi Z., Poór P., Dobrev P., Boldizsár Á., Vágújfalvi A., Kocsy G. Hormones, NO, antioxidants and metabolites as key players in plant cold acclimation // Plant and Microbe Adaptations to Cold in a Changing World / Eds. R. Imai et al. – New York: Springer Science+Business Media, 2013. – P. 73-87. – Doi: 10.1007/978-1-4614-8253-6_7.

Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // Plant Physiol. Biochem. – 2010. – V. 48. – P. 909-930.

Grabelnych O.I., Borovik O.A., Pobezhimova T.P., Koroleva N.A., Lyubushkina I.V., Zabanova N.S., Voinikov V.K. Change of *AOX1a* expression, encoding mitochondrial alternative oxidase, influence on the frost-resistance of arabidopsis plants // J. Stress Physiol.Biochem. – 2016. – V. 12, № 4. – P. 78-90.

Guan L.M., Scandalios J.G. Hydrogen peroxide-mediated catalase gene expression in response to wounding // Free Radical Biol. Med. – 2000. – V. 28. – P. 1182-1190.

Guo Z., Ou W., Lu S., Zhong Q. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity // Plant Physiol. Biochem. – 2006. – V. 44. – P. 828-836.

Gupta S., Webb P.R., Holaday A.S., and Allen R.D. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress (Induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase-overexpressing plants) // Plant Physiol. – 1993. – V. 103. – P. 1067-1073.

Gusta L.V., Wisniewski M. Understanding plant cold hardiness: an opinion // Physiol. Plant. – 2013. – V. 147. – P. 4-14.

Guy C., Kaplan F., Kopka J., Selbig J., Hincha D.K. Metabolomics of temperature stress // Physiol. Plant. – 2008. – V. 132. – P. 220-235.

Hale H.B. Cross adaptation // Environm. Res. – 1969. – V. 2, № 2. – P. 323-334.

Hassan N.S., Shaaban L.D., Hashem E.-S.A., Seleem E.E. In vitro selection for water stress tolerant callus line of *Helianthus annus* L. cv. Myak // Int. J. Agr. Biol. – 2004. – V. 1. – P. 13-18.

Havaux M., Kloppstech K. The protective functions of carotenoid and flavonoids pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in Arabidopsis *npq* and *tt* mutants // Planta. – 2001. – V. 213. – P. 953-966.

Ho L. H., GiraudE., Uggalla V., Lister R., Clifton R., Glen A., Thirkettle-Watts D., Van Aken O., Whelan J. Identification of regulatory pathways controlling gene expression of stress-responsive mitochondrial proteins in Arabidopsis // Plant Physiol. – 2008. – V. 147. – P. 1858-1873.

Huang S., Millar A.H. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme // Curr. Opin. Plant Biol. – 2013. – V. 16, № 3. – P. 344-349.

Islam M., Hoque A., Okuma E., Banu M.N., Shimoishi Y., Nakamura Y., Murata Y. Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells // J. Plant Physiol. – 2009. – V. 166. – P. 1587-1597.

Janda T., Szalai G., Leskó K., Yordanova R., Apostol S., Popova L.P. Factors contributing to enhanced freezing tolerance in wheat during frost hardening in the light // Phytochem. – 2007. – V. 68. – P. 1674-1682.

Janda T., Szalai G., Rios-Gonzalez K., Veisz O., Páldi E. Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals // Plant Sci. – 2003. – V. 164. – P. 301-306.

Janmohammadi M., Enayati V., Sabaghnia N. Impact of cold acclimation, de-acclimation and re-acclimation on carbohydrate content and antioxidant enzyme activities in spring and winter wheat // Icel. Agric. Sci. – 2012. – V. 25. – P. 3-11.

Jian L.C., Li P.H., Sun L.H., Chen T.H.H. Alterations in ultrastructure and subcellular localization of Ca^{2+} in poplar apical bud cells during the induction of dormancy // J. Exp. Bot. – 1997. – V. 48. – P. 1195-1207.

Jian L.C., Li J.H., Chen W.P., Li P.H., Ahlstrand G.G. Cytochemical localization of calcium and Ca^{2+}-ATPase activity in plant cells under chilling stress: a comparative study between the chillingsensitive maize and the chilling-insensitive winter wheat // Plant Cell Physiol. – 1999. – V. 40. – P. 1061-1071.

Kaur R., Nayyar H. Ascorbic acid a potent defender against environmental stresses // Oxidative Damage to Plants Antioxidant Networks and Signaling / Ed. P. Ahmad. – Academic Press is an imprint of Elsevier, 2014. – P. 235-287.

Klíma M., Vítámvás P., Zelenková S., Vyvadilová M., Prášil I.T. Dehydrin and proline content in Brassica napus and B. Carinata under cold stress at two irradiances // Biol. Plant. – 2012. – V. 56. – P. 157-161.

Knight M.R., Campbell A.K., Smith S.M., Trewavas A.J. Transgenic plant aequorin reports the effects of touch and cold-shock and elicitors on cytoplasmic calcium // Nature. – 1991. – V. 352. – P. 524-526.

Kocsy G., Simon-Sarkadi L., Kovács Z., Boldizsár Á., Sovány C., Kirsch K., Galiba G. Regulation of free amino acid and polyamine levels during cold acclimation in wheat // Acta Biol. Szeged. – 2011. – V. 55. – P. 91-93.

Konstantinova T., Parvanova D., Atanassov A., Djilianov D. Freezing tolerant tobacco, transformed to accumulate osmoprotectants // Plant Sci. – 2002. – V. 163. – P. 157-164.

Kosova K., Prasil I.T., Vitamvas P. Role of dehydrins in plant stress response // Handbook of Plant and Crop Stress / Ed. M. Pessarakli. – Tucson: CRC, 2010. – P. 239-285.

Koster K.L., Lynch D.V. Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of puma rye // Plant Physiol. – 1992. – V. 98. – P. 108-113.

Kozloff L.M., Turner M.A., Arellano F.J. Formation of bacterial membrane ice-nucleating lipoglycoprotein complexes // Bacteriol. – 1991. – V. 173. – P. 6528-6536.

Kurimoto K., MillarA.H., Lambers H., Day D.A., Noguchi K. Maintenance of growth rate at low temperature in rice and wheat cultivars with a high degree of respiratory homeostasis is associated with a high efficiency of respiratory ATP production // Plant Cell Physiol. – 2004. – V. 45. – P. 1015-1022.

Levitt J. Responses of plants to environmental stresses. – London etc: Acad. Press, 1980. – V. 1. – 497 p.

Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival // Antioxid. Redox Signal. – 2013. – V. 19. – P. 998-1011.

Liu W., Yu K., He T., Li F., Zhang D., Liu J. The low temperature induced physiological responses of *Av-*

ena nuda L., a cold-tolerant plant species // Sci. World J. – 2013. – V. 2013. – Article ID 658793. – Doi.org/10.1155/2013/658793.

Luo Y., Tang H. Zhang Y. Production of reactive oxygen species and antioxidant metabolism about strawberry leaves to low temperatures // J. Agr. Sci. – 2011. V. 3. – P. 89-96.

Marino D., Dunand C., Puppo A., Pauly N. A burst of plant NADPH oxidases // Trends Plant Sci. – 2012. – V. 17. – P. 9-15.

Matos A.R., Hourton-Cabassa C., Ciçek D., Rezé N., Arrabaça J.D., Zachowski A., Moreau F. Alternative oxidase involvement in cold stress response of Arabidopsis thaliana fad2 and FAD3+ cell suspensions altered in membrane lipid composition // Plant Cell Physiol. – 2007. – V. 48. – P. 856-865.

Matsumura T., Tabayashi N., Kamagata Y., Souma C., Saruyama H. Wheat catalase expressed in transgenic rice can improve tolerance against low temperature stress // Physiol. Plant. – 2002. – V. 116. – P. 317-327.

McKersie B.D., Senaratna T., Walker M.A., Kendall E.J. Hetherington P.R. Deterioration of membranes during aging in plants: evidence for free radical mediation // Senescence and Aging in Plants / Eds L.D. Nooden, A.C. Leopold. – Academic Press, 1988. – P. 441-464.

*Mehla N., Sindhi V., Josula D., Bisht P., Wani S.*H. An introduction to antioxidants and their roles in plant stress tolerance // Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress / Eds. M.I.R. Khan, N.A. Khan. – Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2017. – P. 1-24.

Mei Y., Song S. Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination // J. Zhejiang Univ. Sci. B. – 2010. – V. 11. – P. 965-972.

Mishra S., Dubey R.S. Inhibition of ribonuclease and protease activities in arsenic exposed rice seedlings: role of proline as enzyme protectant // J. Plant Physiol. – 2006. – V. 163. – P. 927-936.

Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. – 2002. – V. 7. – P. 405-410.

Miura K., Furumoto T. Cold signaling and cold response in plants // Int. J. Mol. Sci. – 2013. –V. 14. – P. 5312-5337.

Mizuno N., Sugie A., Kobayashi F., Takumi S. Mitochondrial alternative pathway is associated with development of freezing tolerance in common wheat // Plant Physiol. – 2008. – V. 165. – P. 462-467.

Molinari H.B.C., Marura C.J., Daros E., De Campos M.K.F., De Carvalho J.F.R.P., Filho J.C.B., Pereira L.F.P., Vieira L.G.E. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress // Physiol. Plant. – 2007. – V. 130. – P. 218-229.

Moller I.M., Sweetlove L.J. ROS signaling-specificity is required // Trends Plant Sci. – 2010. – V. 15. – P. 370-374.

Monroy A.F., Sarhan F., Dhindsa R.S. Cold-Induced changes in freezing tolerance, protein phosphorylation, and gene expression (evidence for a role of calcium) // Plant Physiol. – 1993. – V. 102. – P. 1227-1235.

Morelli R., Russo-Volpe S., Bruno N., Lo Scalzo R. Fenton-dependent damage to carbohydrates: free radical scavenging activity of some simple sugars // J. Agric. Food Chem. – 2003. – V. 51. – P. 7418-7425.

Ndong C., Danyluk J., Huner N.P., Sarhan F. Survey of gene expression in winter rye during changes in growth temperature, irradiance or excitation pressure // Plant Mol. Biol. – 2001. – V. 45. – P. 691-703.

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 Ca^{2+} and phosphorylation // J. Biol. Chem. – 2008. – V. 283. – P. 8885-8892.

Orvar B.L., Sangwan V., Omann, F., Dhindsa R.S. Early steps in cold sensing by plant cells: The role of actin cytoskeleton and membrane fluidity // Plant J. – 2000. – V. 23. – P. 785-794.

Ozden M., Demirel U., Kahraman A. Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H_2O_2 // Sci. Horticult. – 2009. – V. 119. – P. 163-168.

Paciolla C., Paradiso A., de Pinto M.C. Cellular redox homeostasis as central modulator in plant stress response // Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses / Eds. D.K. Gupta et al. – Springer International Publishing Switzerland, 2016. – P. 1-23.

Petrov V., Hille J., Mueller-Roeber B., Gechev T.S. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants // Front. Plant Sci. – 2015. – V. 6:69. – Doi: 10.3389/fpls.2015.00069.

Pietrini F., Massacci A. Leaf anthocyanin content changes in *Zea mays* L. grown at low temperature: Significance for the relationship between the quantum yield of PS II and the apparent quantum yield of CO_2 assimilation // Photosynthesis Res. – 1998. – V. 58. – P. 213-219,

Ramel F., Sulmon C., Bogard M., Couée I., Gouesbet G. Differential patterns of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms during atrazine injury and sucrose-induced tolerance in *Arabidopsis thaliana* plantlets // BMC Plant Biol. – 2009. – V. 9:28.

Rhoads D.M., Umbach A.L., Subbaiah C.C., Siedow J.N. Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling // Plant Physiol. – 2006. – V. 141. – P. 357–366.

Ribas-Carbo M., Aroca R., Conzalez-Meler M.A., Irigoyen J.J., Sanchezdiaz M. The electron partitioning between the cytochrome and alternative respiratory pathways during chilling recovery in two cultivars of maize different in chilling sensitivity // Plant Physiol. – 2000. – V. 122. – P. 199-204.

RuellandE., Zachowski A. How plants sense temperature // Envir. Exp. Bot. – 2010. – V. 69. – P. 225-232.

Sangwan V., Foulds I., Singh J., Dhindsa R.S. Cold-Activation of *Brassica napus* BN115 promoter is mediated by structural changes in membranes and cytoskeleton, and requires Ca^{2+} influx // Plant J. – 2001. – V. 27. – P. 1-12.

Scandalios J.G. The rise of ROS // Trends Biochem. Sci. – 2002. – V. 27. – P. 483-486.

Searle S.Y., Thomas S., Griffin K.L., Horton T., Kornfeld A., Yakir D., Hurry V., Turnbull M. H. Leaf respiration and alternative oxidase in field-grown alpine grasses respond to natural changes in temperature and light // New Phytol. – 2011. – V. 189. – P. 1027-1039.

Shen B., Jensen R.G., Bohnert H.J. Mannitol protexts against oxidation by hydroxyl redicals // Plant Physiol. – 1997. – V. 115. – P. 527-532.

Shi K., Fu L.J., Zhang S., Li X., Liao Y.W.K., Xia X.J., Zhou Y.H., Wang R.Q., Chen Z.X., Yu, J.Q. Flexible change and cooperation between mitochondrial electron transport and cytosolic glycolysis as the basis for chilling tolerance in tomato plants // Planta. – 2013. – V. 237. – P. 589-601. – Doi: 10.1007/s00425-012-1799-3.

Streb P., Shang W, Feierabend J Resistance of cold-hardened winter rye leaves (*Secale cereale* L.) to photo-oxidative stress// Plant Cell Environ. – 1999. – V. 22. – P. 1211-1223.

Sugie A., Naydenov N., Mizuno N., Nakamura C., Takumi S. Overexpression of wheat alternative oxidase gene Waoxla alters respiration capacity and response to reactive oxygen species under low temperature in transgenic Arabidopsis // Genes Genet. Syst. – 2006. – V. 81. – P. 349-354.

Svenning M.M., Røsnes K., Junttila O. Frost tolerance and biochemical changes during hardening and dehardening in contrasting white clover populations // Physiol. Plant. – 1997. – V. 101. – P. 31-37.

Szollosi R. Superoxide dismutase (SOD) and abiotic stress tolerance in plants: an overview. oxidative damage to plants //Antioxidant Networks and Signaling / Ed P. Ahmad. – Elsevier Inc., 2014. – P. 89-129.

Takumi S., Tomioka M., Eto K., Naydenov N., Nakamura C. Characterization of two non-homoeologous nuclear genes encoding mitochondrial alternative oxidase in common wheat // Gen. Cenet. Syst. – 2002. – V. 77. – P. 81-88.

Tantau H., Balko C., Brettschneider B., Melz G., Dorffling K. Improved frost tolerance and winter survival in winter barley (*Hordeum vulgare* L.) by in vitro selection of proline overaccumulating lines // Euphytica. – 2004. – V. 139. – P. 19-32.

Teige M., Scheikl E., Eulgem T., Doczi R., Ichimura K., Shinozaki K., Dangl J.L., Hirt H. The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in Arabidopsis // Mol. Cell. – 2004. – V. 15. – P. 141-152.

Theocharis A., Clement C., Barka E.A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures // Planta. – 2012. – V. 235. – P. 1091-1105.

Testerink C., Munnik T. Phosphatidic acid: a multifunctional stress signaling lipid in plants // Trends Plant Sci. – 2005. – V. 10. – P. 368-375.

Thakur P., Nayyar H. Chapter 2. Facing the cold stress by plants in the changing environment: sensing, signaling, and defending mechanisms // plant acclimation to environmental stress / Eds. N. Tuteja, S. Singh Gill. – New York: Springer Science+Business Media, 2013. – P. 29-69. – Doi 10.1007/978-1-4614-5001-6_2.

Tognolli M., Penel C., Greppin H., Simon P. Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana* // Gene. – 2003. – V. 288. – P. 129-138.

Trchounian A., Petrosyan M., Sahakyan N. Plant cell redox homeostasis and reactive oxygen species // Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses / Eds. D.K. Gupta et al. – Springer International Publishing Switzerland, 2016. – P. 25-50.

Trischuk R.G., Schilling B.S., Wisniewski M., Gusta L.V. Freezing stress: systems biology to study cold tolerance // Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. / Eds. K. Madhava Rao, A. Raghavendra, K. Janardhan Reddy. Dordrecht: Springer, 2006. – P. 131-155. – Doi: 10.1007/1-4020-4225-6_5.

Vagujfalvi A., Kerepesi I., Galiba G., Tischner T., Sutka J. Frost hardiness depending on carbohydrate changes during cold acclimation in wheat // Plant Sci. – 1999. – V. 144. – P. 85–92.

Wang J., Rajakulendran N., Amirsadeghi S., Vanlerberghe G.C. Impact of mitochondrial alternative oxidase expression on the response of *Nicotiana tabacum* to cold temperature // Physiol. Plant. – 2011. – V. 142. – P. 339-351.

Wanner L.A., Junttila O. Cold-induced freezing tolerance in Arabidopsis // Plant Physiol. – 1999. – V. 120. – P. 391-399.

Wlngsle G., Karpinski S., Hällgren J.E. Low Temperature, high light stress and antioxidant defence mech-

anisms in higher plants // Phyton (Austria). – 1999. – V. 39. – P. 253-268.

Wong C.E., Li Y., Whitty B.R., Diaz-Camino C., Akhter S.R., Brandle J.E., Golding G.B., Weretilnyk E.A., Moffatt B.A., Griffith M. Expressed sequence tags from the Yukon ecotype of Thellungiella reveal that gene expression in response to cold, drought and salinity shows little overlap // Plant Mol. Biol. – 2005. – V. 58. – P. 561-574.

Xu J., Yin H., Li X. Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. // Plant Cell Rep. – 2009. – V. 28. – P. 325-333.

Yoshida M., Kawakami A. Molecular analysis of fructan metabolism associated with freezing tolerance and snow mold resistance of winter wheat // Plant and Microbe Adaptations to Cold in a Changing World / Eds. R. Imai et al. – New York Springer Science+Business Media, 2013. – P. 231-243. – Doi 10.1007/978-1-4614-8253-6_20.

Zhang X., Wang K., Ervin E.H., Waltz C., Murphy T. Metabolic changes during cold acclimation and deacclimation in five bermudagrass varieties. I. Proline, total amino acid, protein, and dehydrin expression // Crop Sci. – 2011. – V. 51. – P. 838–846.

Zhong-Guang L., Ming G. Mechanical stimulation-induced cross-adaptation in plants: An overview // J. Plant Biol. – 2011. – V. 54. – P. 358-364.

Zhou J., Wang, J., Shi, K., Xia, X.J., Zhou, Y.H., Yu, J.Q. Hydrogen peroxide is involved in the cold acclimation-induced chilling tolerance of tomato plants // Plant Physiol. Biochem. – 2012. – V. 60. – P. 141-149.

Zuther E., Buchel K., Hundertmark M., Stitt M., Hinch D.K., Heyer A.G. The role of raffinose in the cold acclimation response of *Arabidopsis thaliana* // FEBS Lett. 2004. – V. 576. – P. 169-173.

Поступила в редакцию
05.01.2018 г.

MECHANISMS OF PLANT ADAPTATION TO HYPOTHERMIA: ROLE OF ANTIOXIDANT SYSTEM

Yu. E. Kolupaev[1, 2], E. I. Gorelova[1], T. O. Yastreb[1]

[1]*Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University*
(Kharkiv, Ukraine)
E-mail: plant_biology@ukr.net
[2]*Karazin Kharkiv National University*
(Kharkiv, Ukraine)

Oxidative stress, associated primarily with violation of electron transport in electron transport chains due to changes in state of lipids, is considered as one of the important causes of cold damage to plants. When plants are exposed to negative temperatures, an additional reason for enhancing formation of reactive oxygen species (ROS) may be a disruption of functions of biomacromolecules and membrane complexes due to dehydration caused by extracellular ice formation. An antioxidant system, which provides control of ROS content, is an important protective system necessary for survival of plants at extreme low temperatures. Numerous studies performed on plants of different taxonomic affiliation showed its activation during hardening and moderate cold stress. The role of a complex of antioxidant enzymes and low-molecular antioxidants in cold adaptation has been established. Of particular importance for plant resistance to low temperatures are proline, sugars and some other compounds that manifest along with antioxidant osmoprotective, membrane-protective and chaperone effects. As components of antioxidant protection, alternative oxidase and other uncoupling proteins are also considered, functioning of which reduces the likelihood of ROS formation in mitochondria under stress conditions. The review deals with the functional interaction of the components of antioxidant and osmoprotective systems under cold stress. The need to take into account the specific features of functioning of these systems under screening of resistance donors for breeding needs is emphasized. The role of cold-induced activation of antioxidant system in manifestation of the cross-tolerance effect of plants to an action of other stressors is evaluated.

Key words: *reactive oxygen species, antioxidant system, osmoprotective system, cold resistance, frost resistance, plants cross-tolerance*

МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ РОСЛИН ДО ГІПОТЕРМІЇ: РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ

Ю. Є. Колупаев[1, 2], О. І. Горєлова[1], Т. О. Ястреб[1]

[1]Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)
E-mail: plant_biology@ukr.net
[2]Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
(Харків, Україна)

Окиснювальний стрес, пов'язаний в першу чергу з порушенням транспорту електронів в електрон-транспортних ланцюгах, зумовленим зміною стану ліпідів, розглядається як одна з важливих причин холодового ушкодження рослин. За дії на рослини негативних температур додатковою причиною посилення утворення активних форм кисню (АФК) може бути порушення функцій біомакромолекул і мембранних комплексів внаслідок зневоднення, зумовленого утворенням позаклітинного льоду. Антиоксидантна система, що забезпечує контроль вмісту АФК, є важливою протекторною системою, необхідною для виживання рослин за екстремальних низьких температур. Численними дослідженнями, виконаними на рослинах різної таксономічної приналежності, показана її активація при загартуванні і помірному холодовому стресі. Встановлено роль комплексу антиоксидантних ферментів і низькомолекулярних антиоксидантів у холодовій адаптації. Особливе значення для стійкості рослин до низьких температур мають пролин, цукри і деякі інші сполуки, що проявляють поряд з антиоксидантними осмопротекторний, мембранопротекторний і шаперонний ефекти. Як компоненти антиоксидантного захисту розглядаються також альтернативна оксидаза та інші роз'єднувальні білки, функціонування яких знижує ймовірність утворення АФК в мітохондріях за стресових умов. В огляді розглядаються питання функціональної взаємодії компонентів антиоксидантної та осмопротекторной систем при холодовому стресі. Підкреслюється необхідність врахування видових особливостей функціонування цих систем при скринінгу донорів стійкості для потреб селекції.Оцінюється роль холодоіндукованої активації антиоксидантної системи у прояві ефекту перехресної стійкості рослин до дії інших стресорів.

Ключові слова: *активні форми кисню, антиоксидантана система, осмопротекторна система, холодостійкість, морозостійкість, крос-толерантність рослин*