

ОГЛЯДИ

УДК 581.1

ІНДУКУВАННЯ ПРОТЕКТОРНИХ СИСТЕМ РОСЛИН ДІЄЮ СТРЕСОРІВ, ЕКЗОГЕННИХ СИГНАЛЬНИХ ПОСЕРЕДНИКІВ І ФІТОГОРМОНІВ

© 2016 р. Ю. Є. Колупаєв

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

Проаналізовано сучасні відомості про механізми індукування стійкості рослин до екстремальних температур та інших абіотичних стресорів помірно дією самих стрес-факторів, впливом екзогенних сигнальних посередників і стресових фітогормонів (саліцилової і жасмонової кислот, брасиностероїдів). Обговорюється роль іонів кальцію, активних форм кисню, оксиду азоту як сигнальних посередників у процесах температурного загартування рослин та реалізації фізіологічних ефектів стресових фітогормонів. Аналізуються особливості функціонування антиоксидантної та осмопротекторної систем при адаптації рослин до дії стрес-факторів. Значну увагу приділено аналізу результатів досліджень індукування протекторних систем рослин, проведених у ХНАУ ім. В.В. Докучаєва.

Ключові слова: *стійкість рослин, абіотичні стресори, загартування, сигнальні посередники, фітогормони, протекторні системи, антиоксиданти*

*До 200-річчя Харківського національного
аграрного університету ім. В.В. Докучаєва*

З'ясування механізмів стійкості рослин до несприятливих умов навколишнього середовища в останні десятиліття увійшло до числа найбільш актуальних проблем фізіології рослин і загальної біології. Вона за своєю значущістю випереджає багато інших завдань сучасної біології (Гродзинский, 2013). Це зумовлено, зокрема, глобальними кліматичними змінами та зростанням антропогенного тиску на біосферу.

Дія на рослини екстремальних температур є одним з найбільш поширених абіотичних несприятливих чинників (стресорів). На 40% територій помірного клімату Землі рослини зазнають впливу підвищених стресових температур. Особливої актуальності проблема теплостійкості рослин набуває у зв'язку з глобальним потеплінням. Воно загрожує не лише сільськогосподарській сфері, а й збереженню біорізноманіття.

Так, згідно з прогнозами, наступне підвищення середньої температури на 1°C може призвести до скорочення видового різноманіття рослин в Європі на третину (Thuiller et al., 2005). Водночас, незважаючи на підвищення середньорічної температури, для більшості країн Європи актуальність проблеми холодо- і морозостійкості рослин також посилюється. Зимові відлиги, що чергуються з раптовими морозами, призводять до серйозних ушкоджень і зниження урожайності озимих злаків. Більш раннє настання метеорологічної весни підвищує ймовірність ушкодження рослин внаслідок весняних заморозків.

Іншим несприятливим кліматичним чинником, дія якого посилюється, є нестача вологи. Так, на території України в останню чверть століття спостерігається стійка тенденція до зниження річної кількості опадів (Моргун та ін., 2009). Водночас зростає частота опадів зливового характеру, що також негативно позначається на продуктивності рослин (Powell et al., 2012).

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

ИНДУКУВАННЯ ПРОТЕКТОРНИХ СИСТЕМ РОСЛИН

Крім сільськогосподарського аспекту, проблема стійкості має велике природно-екологічне значення, адже здатність рослин адаптуватися до умов існування – один із факторів, що визначає ареали поширення видів на планеті і можливість їх інтродукції.

Актуальність досліджень стійкості рослин також зумовлюється посиленням впливу на них різноманітних чинників антропогенного походження (важкі метали, газоподібні токсиканти, органічні ксенобіотики, різні види випромінювання тощо) (Кордюм и др., 2003).

Упродовж більшої частини 20 століття досліджувалася феноменологія загального адаптаційного синдрому і фізіологічних змін, що супроводжують пристосування рослин до конкретних несприятливих чинників. На якісно новому рівні дослідження механізмів адаптації почалися після з'ясування загальних принципів рецепції і трансдукції стресових сигналів в рослинних клітинах, ідентифікації генів і кодованих ними специфічних білків, причетних до розвитку стійкості (Тарчевский, 2002; Дмитриев, 2003; Kasperska, 2004; Bhattacharjee, 2005; Kaur, Gupta, 2005, Колупаев, Карпец, 2010).

Поняття «стійкість» і «адаптація» хоча й перекриваються у ряді аспектів в плані їх змісту, однак не синонімічні за своєю основною суттю (Гродзинский, 2013). Під стійкістю розуміють конститутивно забезпечену відповідними біохімічними, фізіологічними і морфологічними механізмами здатність організму витримувати вплив факторів навколишнього середовища, відмінний від фізіологічної норми. Поняття ж «адаптація» полягає в індукуванні під впливом стресових чинників нових, не конститутивних властивостей рослин, завдяки яким рослинний організм набуває підвищеної стійкості до стресорів тієї чи іншої природи. Фактично ініціація нових адаптивних механізмів призводить до появи індукованої стійкості.

Питання способів і механізмів індукування стійкості рослин має велике фундаментальне і прикладне значення. Поступ у його розв'язанні відкриває шляхи до керування стійкістю. Дослідження механізмів стійкості і адаптації рослин в останню чверть століття проводяться у Харківському національному аграрному університеті (ХНАУ) ім. В.В.Докучаєва досить інтенсивно. Прикладні ж дослідження у галузі стійкості рослин були започатковані ще у другій половині ХХ століття одним із фундаторів фітофізіології у тодішньому Харківському сільськогосподарському інституті доктором біологічних наук, професором, чл.-кор. АН УРСР

Ф.П. Мацковим (Мацков, 1976). Метою даного огляду є аналіз досліджень механізмів індукування протекторних систем рослин дією помірних доз самих стресових чинників (ефект загартування), а також екзогенним впливом сигнальних посередників та фітогормонів і висвітлення результатів у цій галузі, отриманих за останнє десятиліття на Кафедрі ботаніки і фізіології рослин та у Міжкафедральній науково-дослідній лабораторії фізіології і біохімії стресу рослин ХНАУ.

Індукування стійкості рослин до гіпертермії короточасним впливом високих температур та його механізми

Феномен теплового загартування рослин.

Явище теплового загартування рослин детально вивчене ще у 70-80-і роки минулого століття (Alexandrov et al., 1970; Александров, 1975; 1985; Дроздов и др., 1984). Його суть полягає у підвищенні теплостійкості рослин у відповідь на дію температури, що перевищує оптимальну. У працях В.Я. Александрова вживається термін «супероптимальна температура» (Александров, 1985). Для отримання помітного ефекту теплового загартування може бути достатнім одноразове нагрівання, необхідна його тривалість залежить від його інтенсивності і варіює від кількох секунд до кількох діб (Александров, 1985). Вважається, що теплове загартування за природних умов можна спостерігати майже щоліта, принаймні у рослин жаркого клімату (Александров, 1975).

Водночас відомо, що процес температурного загартування рослин включає в себе «лаг-період» – проміжок часу, протягом якого стійкість рослин достовірно не збільшується (Титов и др., 1989). Так, встановлено, що при загартуванні проростків пшениці дією температури 40°C підвищення їх теплостійкості відбувалося через 5 хв, рослин огірка при загартуванні за температури 38°C – через 45 хв. Після завершення лаг-періоду теплостійкість монотонно зростала протягом кількох годин (Титов и др., 2006). Примітно, що при перенесенні проростків пшениці через 15-30 хв після дії загартовуючої температури (40°C) в фізіологічно нормальні умови (23°C) відзначалося додаткове підвищення їх теплостійкості через 2-4 год (Титов и др., 2006). Ефект затримки підвищення теплостійкості клітин після дії на них загартовуючих температур зареєстрований на різних об'єктах, у т. ч. на тваринних і бактеріальних клітинах (Li et al., 1982a; 1982b; Lin et al., 1984). Частіше така затримка спостерігається після інтенсивного короточасного загартовуючого на-

гріву. Існує припущення, що розвиток ефекту загартування в часі зумовлений необхідністю репарації певних функцій після дії сублетальної температури (Александров, 1985).

У нашій лабораторії було досліджено вплив однохвилинного прогріву рослинних об'єктів (проростків сосни, пшениці і сім'ядоль огірка) на подальший розвиток їх стійкості до потенційно летального прогріву. Було показано, що температури, які викликають максимальний остаточний загартовуючий ефект, спричиняли зниження теплостійкості об'єктів протягом першої години після прогріву, надалі теплостійкість поступово зростала, досягаючи максимуму через 24 год після впливу загартовуючої температури (Карпець, 2009).

Таким чином, для найбільш повного включення захисних механізмів необхідне завдання ушкоджень рослинним об'єктам. Зауважимо, що такий висновок стосується передусім загартування короткочасним впливом високої температури (Карпець, Колупаєв, 2008). В цілому можливість загартування рослин дією ушкоджуючих температур зареєстрована у ряді експериментів інших авторів (див. огляд: Александров, Кислюк, 1994). Можна припустити, що ушкоджуючий вплив спричиняє появу та/або збільшення вмісту в клітинах сполук, які є результатом певних (оборотних) порушень і водночас виконують функції сигналу, що опосередковано запускає механізми формування підвищеної резистентності. За відсутності чи недостатньої сили такого сигналу (за дії нижчих температур) адаптивний потенціал рослин, очевидно, виявляється не повною мірою (Карпець, 2009). Принаймні одним з продуктів стресового метаболізму за дії ушкоджуючих температур можуть бути активні форми кисню (АФК) (Suzuki, Mittler, 2006). Подальші дослідження підтвердили це припущення.

Активні форми кисню як посередники у процесі індукування теплостійкості рослин. Термін «активні форми кисню» означає сукупність реакційно-здатних взаємоперетворюваних форм кисню, більшість з яких має короткий час існування. АФК виникають внаслідок збудження атомів кисню або в окиснювально-відновних реакціях. Їх утворення відбувається в реакціях одно- двох- і трьохелектронного відновлення кисню в результаті спонтанного і ферментативного окиснення, а також у фотоіндукованих реакціях (Scandalios, 2002; Bailey, Mittler, 2006). Серед АФК вирізняють вільно-радикальні частинки – супероксидний аніон-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гідроксильний радикал (OH^{\cdot}), пероксильні ради-

кали (RO_2^{\cdot}) та ін. – і нейтральні молекули, такі як пероксид водню (H_2O_2), синглетний кисень (1O_2), озон (O_3) тощо (Mittler, 2002). Посилення утворення АФК є однією з найменш специфічних реакцій живих організмів на дію стресорів, у т. ч. абіотичних. Нині АФК розглядаються як «подвійні агенти». Вони або безпосередньо ініціюють інтенсивний окиснювальний стрес, що супроводжується пошкодженням чи загибеллю клітин і організму, або діють як сигнальні посередники, що індують фізіологічні реакції, які сприяють підвищенню стійкості організму (Vranova et al., 2002; Колупаєв, Карпець, 2010; Jaspers, Kangasjarvi, 2010; Креславский и др., 2012).

У нашій лабораторії на прикладі рослин з різних таксономічних груп (проростки сосни, пшениці і сім'ядолі огірка) було досліджено динаміку вмісту в тканинах пероксиду водню після однохвилинного загартовуючого прогріву (Карпець, Колупаєв, 2008; Карпець, 2009). У всіх об'єктів протягом перших приблизно 30 хв після прогріву спостерігали збільшення вмісту пероксиду водню у тканинах. Надалі вміст АФК знижувався і у момент максимального розвитку теплостійкості рослинних об'єктів (приблизно через 24 год після загартовуючого прогріву) був зазвичай дещо нижчим, ніж у незагартованих зразках. Передобробка рослинних об'єктів антиоксидантами іонолом або диметилтіосечовиною нівелювала ефект підвищення вмісту АФК у рослинних тканинах і водночас значно знижувала позитивний ефект теплового загартування рослин (Карпець, Колупаєв, 2008; Kolupaev et al., 2008; Колупаєв и др., 2013). Таким чином, є підстави вважати, що АФК можуть бути необхідним посередником у формуванні сигнального каскаду, що індукує розвиток теплостійкості рослинних об'єктів після впливу на них загартовуючої температури.

У зв'язку з цим постало питання про «джерела», які постачають в клітину сигнальні АФК. Відомо, що генерація АФК у рослин відбувається в клітинних стінках, плазматичній мембрані, хлоропластах, мітохондріях, пероксисомах і, можливо, в інших компартментах (Foyer, Noctor, 2009).

Процес фотосинтезу є одним з основних джерел утворення АФК в клітинах зелених рослин. Супероксидний аніон-радикал – головний первинний продукт відновлення молекулярного кисню в хлоропластах при функціонуванні фотосистеми I. Фотоіндукована генерація АФК в основному залежить від умов зовнішнього середовища і фізіологічного стану фотосинтетич-

ного апарату (Foyer, Shigeoka, 2011). При обмеженні фіксації CO₂ в умовах дії посухи, засолення, високих температур та інших стресорів пул НАДФН витрачається слабо, внаслідок цього відбувається «витік» електрона від ферредоксину до молекулярного кисню з утворенням супероксидного аніон-радикала.

Мітохондрії, як і хлоропласти, містять велику кількість переносників електронів. Окислювально-відновний потенціал тих з них, які утворюють початкові і середні ділянки ланцюга, часто виявляється більш від'ємним, ніж потенціал пари O₂/O₂⁻. Це означає, що випадкова взаємодія даних переносників з молекулярним киснем може призвести до одноелектронного відновлення кисню до супероксидного аніон-радикала (Moller, 2001; Svetkovska et al., 2013). Швидкість генерації АФК в мітохондріях залежить насамперед від ступеня відновленості електрон-транспортного ланцюга і мембранного потенціалу. Дисипація мембранного потенціалу відбувається при окиснювальному фосфорилуванні АДФ. Тому, якщо в мітохондріях достатньо АДФ і він активно фосфорилується, дисипація протонного градієнта знижує мембранний потенціал і ймовірність генерації O₂⁻ (Svetkovska et al., 2013).

Отже, в контексті сигнальних функцій АФК у рослинних клітинах як потенційне їх джерело розглядається насамперед електрон-транспортний ланцюг хлоропластів (Shao et al., 2007; Креславский и др., 2012), а також редокс-системи мітохондрій (Rhoads et al., 2006) і апопласту (Sagi, Fluhr, 2006).

Припускають, що саме апопласт є компартментом, в якому локалізовані сенсори стресових сигналів і система їх передачі до білків-регуляторів (Пиотровский и др., 2011). Генерація АФК в апопласті значною мірою зумовлена активністю НАДФН-оксидази (інтегральним білком плазматичної мембрани) (Sagi, Fluhr, 2006; Глянько и др., 2009) і пероксидаз класу III (Minibayeva et al., 2001; 2009).

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

Примітно, що НАДФН-оксидаза може бути активована самими АФК (молекулами пероксиду водню) (Bailey-Serres, Chang, 2005). У клітині можуть формуватися градієнти H₂O₂, що виконують сигнальну роль (Mittler et al.,

2011). Існує концепція сигнальної хвилі АФК, згідно з якою передача сигналів між клітинами може відбуватися шляхом активації НАДФН-оксидази під впливом пероксиду водню, що утворюється в апопласті сусідньої клітини (Mittler et al., 2011). Ймовірно, за допомогою подібних механізмів можуть реалізовуватися стресові фізіологічні реакції на рівні цілого організму (Foyer, Noctor, 2009).

Нашою науковою групою були проведені дослідження із з'ясування можливої ролі окремих ферментних систем в утворенні АФК-сигналу після дії на рослини загартовуючої температури. Для з'ясування внеску НАДФН-оксидази і апопластних пероксидаз у спричинюване тепловим загартуванням збільшення кількості пероксиду водню в тканинах коренів проростків пшениці використовували інгібіторний аналіз (Колупаев и др., 2013; Обозний, 2014).

Інгібітор НАДФН-оксидази імідазол частково знімав ефект збільшення вмісту пероксиду водню, спричинюване тепловим загартуванням. Інгібітор пероксидази саліцилгідроксамова кислота також помітно зменшувала підвищення вмісту АФК, індуковане гіпертермією. Це дає підстави припускати наявність, принаймні, двох джерел генерації H₂O₂, що беруть участь в реакції коренів проростків на загартовуючі впливи – НАДФН-оксидази і пероксидази (Обозний, 2014).

Вважається, що сигнальні функції в клітинах виконує насамперед H₂O₂ – стабільна молекула, здатна проникати через мембрани (Bienert et al., 2007). Конвертація супероксидного аніон-радикала, що генерується НАДФН-оксидазою і, можливо, пероксидазами, у пероксид водню відбувається спонтанно і з участю супероксиддисмутази (СОД). У наших експериментах показано, що інгібітор СОД діетилдитіокарбомат натрію повністю усував спричинюваний загартуванням ефект підвищення вмісту пероксиду водню в коренях проростків пшениці (Колупаев и др., 2013).

Обробка проростків пшениці інгібіторами НАДФН-оксидази, пероксидази і СОД перед тепловим загартуванням значною мірою нівелювала їх позитивний вплив на теплостійкість (Колупаев и др., 2013; Обозний, 2014). Таким чином, є підстави вважати, що збільшення вмісту пероксиду водню, яке спостерігається після короткочасного загартовуючого прогріву і виконує сигнальні функції, відбувається за участю НАДФН-оксидази, пероксидази і СОД.

Питання про те, що є первинним «сенсором» дії гіпертермії, і яким чином сигнал від сенсора спричиняє активацію АФК-генеруючих ферментних систем залишається відкритим. Зауважимо, що природа можливих кандидатів на роль сенсорів температурних і осмотичних змін у рослин розглянута в публікаціях (Wohlbach et al., 2008; Лось, 2010; Hirayama, Shinozaki, 2010; Los et al., 2010). У ціанобактерій термосенсорні функції виконує гістидинкіназа Hik34, що виступає в ролі негативного регулятора транскрипції генів БТШ, який стримує експресію генів БТШ за нормальної температури. За теплового стресу Hik34 втрачає здатність до автофосфорилування. За таких умов запускається транскрипція генів БТШ, раніше репресована активною формою Hik34 (Suzuki et al., 2005; Лось, 2010). Механізм сприйняття теплового сигналу вищими рослинами, ймовірно, ще складніший і напевно включає в себе не один, а декілька сенсорів, що можуть сприймати окремі аспекти теплового стресу. Не виключено, що зміна стану ліпідної частини мембран («розрідження») призводить до відкриття певних типів кальцієвих каналів, що формує кальцієвий сигнал (Liu et al., 2003). Він може призводити до активації НАДФН-оксидази та інших АФК-генеруючих ферментів і таким чином тепловий сигнал конвертується в кальцієвий, а останній в АФК-сигнал. Не можна також виключити, що спонтанне стрес-індуковане утворення АФК у мембранах, які містять електрон-транспортні ланцюги, спричиняє активацію НАДФН-оксидази (Mittler et al., 2011). Водночас можливо, що АФК-сигнал формується за участю певних протеїнкіназ, які є сенсорами теплового сигналу (за аналогією з гістидинкіназою Hik34 ціанобактерій) і надалі прямо чи опосередковано фосфорилують інші білки. Проте експериментальних доказів подібних припущень поки що явно недостатньо.

Водночас є підстави вважати, що сигнальні функції АФК реалізуються у тісному функціональному зв'язку з іншими сигнальними посередниками, зокрема, оксидом азоту та іонами кальцію (Колупаєв і др., 2015а).

Роль оксиду азоту (NO) у розвитку теплостійкості рослин. Оксид азоту (NO) нині розглядається як важливий компонент сигнальної мережі клітин рослин і тварин (Mur et al., 2013). Вважається, що головним шляхом синтезу монооксиду азоту є окислювально-відновне перетворення аргініну за участю НАДФН і молекулярного кисню. Припускають, що дана реакція каталізується ферментом, подібним до NO-

синтази тварин, локалізованим в цитоплазмі, хлоропластах, мітохондріях і пероксисомах (Neill et al., 2008; Wilson et al., 2008). Проте гомолог тваринного ферменту з рослин досі не виділений, хоча встановлена його наявність у зелених водоростей (Roszer, 2014). Іншим ферментативним джерелом оксиду азоту у рослин може бути нітратредуктаза, здатна перетворювати нітрит на оксид азоту в НАДФН-залежній реакції (Neill et al., 2008).

Є відомості про зміни вмісту ендogenous NO у рослин за дії абіотичних стресорів. На культурі клітин тютюну (Gould et al., 2003) і калусній культурі цукрової тростини (Song et al., 2006) показано посилення синтезу NO у відповідь на вплив гіпертермії. Подібні ефекти встановлені і на рослинах арабидопсису при дії високих і низьких температур (Бакакіна і др., 2009а; 2009б). У той же час малодослідженим залишається можливий зв'язок між процесами утворення NO і формуванням стійкості. У роботі Song зі співавт. (Song et al., 2013) показано підвищення вмісту оксиду азоту в листках рису за двогодинної дії загартовуючої температури 38°C. Обробка рослин скавенджером оксиду азоту РТІО (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxid) перешкоджала розвитку їх теплостійкості. У роботах Ю.В. Карпця і співавт. (Карпец і др., 2014б; 2015а) була досліджена можлива участь оксиду азоту у формуванні теплостійкості проростків пшениці після короткочасного впливу високої температури.

Було встановлено, що загартовуючий прогрів спричиняв достовірне підвищення вмісту NO уже через 15 хв (Карпец і др., 2014б). Кількість NO в тканинах коренів залишалася підвищеною на 25-35% протягом перших двох годин після загартування, максимальний ефект відзначався через 0,5-1,0 год. Через 4 год вплив прогріву на вміст оксиду азоту істотно зменшувався, а до 24 год вміст NO в коренях загартованих проростків майже не відрізнявся від величин контролю. Підвищення вмісту оксиду азоту помітно пригнічувалося обробкою проростків інгібітором ферменту, подібного до NO-синтази тварин L-NAME (N^G-nitro-L-arginine methyl ester) та меншою мірою інгібітором нітратредуктази вольфраматом натрію, що дає підстави припускати функціонування щонайменше двох ферментативних джерел оксиду азоту за вказаних експериментальних умов (Карпец і др., 2014б; Karpets et al., 2015). Різні антагоністи оксиду азоту РТІО, L-NAME, вольфрамат натрію тією чи іншою мірою зменшували роз-

ІНДУКУВАННЯ ПРОТЕКТОРНИХ СИСТЕМ РОСЛИН

виток теплостійкості проростків після загартування (Карпец и др., 2014; 2015a; Karpets et al., 2015), що дозволяє говорити про участь оксиду азоту у трансдукції сигналу, який зумовлює розвиток теплостійкості проростків після загартовуючого прогріву.

Універсальні месенджери іони кальцію і функціональний зв'язок між сигнальними посередниками при індукуванні теплостійкості рослин. Нині кальцій визнаний універсальним посередником в клітинних реакціях рослинних і тваринних організмів (Kaur, Gupta, 2005; Kim et al., 2009). Саме цитозольний кальцій може служити сполучною ланкою для багатьох сигнальних шляхів, забезпечуючи формування сигнальної мережі рослинної клітини (Kaur, Gupta, 2005; Johnson et al., 2014). Надходження іонів Ca^{2+} в цитозоль відбувається завдяки відкриттю кальцієвих каналів різних типів. Кальційпроникні канали виявлені в плазмалемі, тонопласті, мембранах ендоплазматичного ретикулуму, мітохондрій та ядерній мембрані (Demidchik et al., 2002; Kim et al., 2009).

Роль кальцію у формуванні адаптивних реакцій рослин на тепловий стрес досліджена недостатньо. Встановлений ефект підвищення концентрації цитозольного кальцію у рослинних клітинах майже одразу після дії гіпертермії (Liu et al., 2003). У наших дослідженнях була показана можливість індукування розвитку теплостійкості проростків пшениці дією екзогенного кальцію (Kolupaev et al., 2008) та нівелювання позитивного впливу короткочасного загартування на теплостійкість за обробки рослин антагоністами кальцію (Карпец, Колупаев, 2008). Пізніше з використанням інгібіторного аналізу було проведено дослідження можливої функціональної взаємодії іонів кальцію, АФК та оксиду азоту при формуванні теплостійкості, індукованої загартовуючим прогрівом (Karpets et al., 2015). Обробка хелатором зовнішнього кальцію ЕГТА, блокаторм кальцієвих каналів різних типів хлоридом лантану та інгібітором фосфоліпази С неоміцином (зменшує утворення інозитол-1,4,5-фосфату, що бере участь у відкриванні внутрішньоклітинних кальцієвих каналів) значною мірою пригнічувала ефект підвищення вмісту H_2O_2 в коренях, спричинюваний загартовуючим прогрівом. Так само всі три вказані антагоністи кальцію зменшували індуковане загартовуючим прогрівом підвищення вмісту оксиду азоту в клітинах коренів проростків (Karpets et al., 2015).

Обробка проростків антагоністами кальцію не впливала на їх конститутивну стійкість

до гіпертермії. Однак ЕГТА, LaCl_3 і неоміцин частково знімали розвиток індукованої теплостійкості після загартовуючого прогріву проростків (Karpets et al., 2015).

Дані літератури дозволяють припускати не тільки залежність вмісту АФК і оксиду азоту в клітинах від кальцієвого гомеостазу (Courtois et al., 2008; Ogasawara et al., 2008), а й можливість взаємного впливу NO на вміст H_2O_2 в тканинах і навпаки (Tewari et al., 2008; Xu et al., 2008). В експериментах, проведених нашою дослідницькою групою, передобробка коренів проростків антиоксидантом іонолом і скавенжером H_2O_2 диметилсечовиною перешкоджала підвищенню вмісту NO в коренях після загартовуючого прогріву проростків. З іншого боку, скавенжер NO РТЮ майже повністю, а інгібітор NO-синтази L-NAME частково знімали спричинюване дією гіпертермії підвищення вмісту пероксиду водню в коренях (Карпец и др., 2015a). Схожий ефект викликала і обробка проростків вольфраматом натрію – інгібітором іншого ензиму, ймовірно, задіяного в синтезі NO – нітратредуктази. Під його впливом частково нівелювалося спричинюване загартуванням підвищення вмісту пероксиду водню в тканинах коренів (Karpets et al., 2015).

В цілому отримані результати свідчать про участь всіх трьох досліджуваних сигнальних посередників – кальцію, пероксиду водню та оксиду азоту – в процесах, що зумовлюють спричинюваний загартовуючим прогрівом розвиток теплостійкості проростків пшениці. Так, прояву ефектів загартовування перешкоджали як антагоністи кальцію різної природи, так і антиоксиданти і інгібітори ензимів, задіяних в синтезі NO (Karpets et al., 2015). При цьому антагоністи кальцію перешкоджали збільшенню після прогріву вмісту в коренях як пероксиду водню, так і оксиду азоту.

Можна вважати, що загартовуючий прогрів проростків викликає кальційзалежне підвищення активності ензимів, що генерують АФК і оксид азоту. Як уже зазначалося, підвищення вмісту пероксиду водню, спричинюване загартовуючим прогрівом, зумовлене насамперед майже одночасним збільшенням активності НАДФН-оксидази, що генерує супероксидний аніон-радикал, і СОД, яка перетворює його на пероксид водню (Kolupaev и др., 2013). Як відомо, НАДФН-оксидаза, що вважається основним ензимом, який генерує «сигнальні» АФК, активується за участю кальцію. Це узгоджується з отриманими даними про інгібування антагоністами кальцію спричинюваного прогрівом

підвищення вмісту H_2O_2 в рослинних клітинах (Карпец, Колупаєв, 2008; Karpets et al., 2015).

Ферментні системи, що генерують NO, і активуються під впливом загартовуючого прогріву, також є кальційзалежними. Відомо, що рослинний ензим, подібний до NO-синтази тварин, активується за участю кальцію та/або кальмодуліну (Courtois et al., 2008; Roszer, 2014), що добре узгоджується з виявленими ефектом пригнічення антагоністами кальцію підвищення вмісту NO в коренях, спричинюваного гіпертермією (Karpets et al., 2015). У той же час залежність активності іншого джерела NO – нітратредуктази – від іонів кальцію поки що не доведена. Проте допускається можливість впливу кальцію на активність нітратредуктази через каскад реакцій, в якому задіяні АФК і протеїнкінази (Mur et al., 2013). Таким чином, в цілому можна констатувати залежність вмісту NO і АФК в рослинних клітинах від кальцієвого гомеостазу.

У той же час між пероксидом водню і оксидом азоту також відбувається функціональна взаємодія. У літературі є відомості про те, що оксид азоту може впливати на ферментні системи, котрі генерують АФК, зокрема, на НАДФН-оксидазу, як позитивно, так і негативно (Tewari et al., 2008; Yun et al., 2011), а також на антиоксидантні ензими (Мамаєва и др., 2015) і таким чином регулювати вміст АФК. Менш досліджений вплив АФК на активність ензимів, що генерують NO. Однак крім відомостей про підвищення вмісту NO в рослинних тканинах під дією екзогенного пероксиду водню (Xu et al., 2008), є і дані про активацію нітратредуктази під впливом пероксиду водню (Dubovskaya et al., 2011).

У свою чергу ефекти АФК і оксиду азоту як сигнальних посередників реалізуються за участю кальцію. І АФК, і NO здатні змінювати стан кальцієвих каналів різних типів, внаслідок чого можуть впливати на багато кальційзалежних процесів (Колупаєв и др., 2015а). Ймовірно, кальцій, міститься на різних ділянках сигнальних ланцюгів, що беруть участь у формуванні адаптивних реакцій рослин (Kaur, Gupta, 2005). В цілому можна говорити про тісну функціональну взаємодію кальцію, АФК і NO при індукуванні теплостійкості рослинних об'єктів після короткочасного впливу загартовуючої температури (Karpets et al., 2015). На користь такого висновку свідчать і результати експериментів з індукування теплостійкості проростків пшениці екзогенними кальцієм, пероксидом водню і донором оксиду азоту нітропрусидом

натрію (Карпец и др., 2016б). Всі три екзогенні чинники спричиняли підвищення теплостійкості проростків. Але при цьому позитивний вплив кальцію на теплостійкість нівелювався у присутності антиоксидантів і антагоністів оксиду азоту, прояву ефекту пероксиду водню перешкоджали хелатор кальцію, блокатор кальцієвих каналів і антагоністи NO, а позитивна дія донору оксиду азоту пригнічувалася антиоксидантами та антагоністами кальцію.

Індукування антиоксидантної системи після короткочасного впливу гіпертермії. У клітинах відбувається постійне утворення активних форм кисню (АФК) і їх взаємодія з антиоксидантами різної природи. Окислювально-відновний потенціал визначається наявністю відновлених і окиснених сполук у відповідних співвідношеннях. Його відхилення від гомеостатичного значення може виконувати роль як клітинного сигналу, так і чинника, що призводить до окиснювальних пошкоджень біомакромолекул і деструктивних клітинних процесів, які прийнято називати окиснювальним стресом. Передумови для збільшення вмісту АФК в клітинах, пов'язані з посиленням стохастичного їх утворення (наприклад, внаслідок порушення структури і функцій мембран, що містять електрон-транспортні ланцюги), з'являються за дії на рослини стресорів найрізноманітнішої природи. Через це антиоксидантна система вважається однією з універсальних протекторних систем. Просторово-часовий баланс між генерацією і видаленням АФК регулюється великою мережею генів (Rucciariello et al., 2012). Антиоксидантна система включає в себе широкий спектр сполук як білкової природи, так і низькомолекулярних. Крім добре відомих ферментативних і низькомолекулярних антиоксидантів, здатність прямо і опосередковано взаємодіяти з АФК виявляють і багато інших сполук, що накопичуються в рослинних клітинах у великій кількості: пролін, цукри, поліаміни та ін. (Колупаєв, 2016).

Нашою групою досліджувався вплив короткочасного загартовуючого прогріву на активність антиоксидантних ферментів у коренях і пагонах проростків пшениці (Обозний, 2014). Було показано, що теплове загартування спричинювало підвищення у цих органах активності СОД, яка вважається ключовим ферментом антиоксидантного захисту. Активність каталази і аскорбатпероксидази в коренях також істотно підвищувалася після теплового загартування. У пагонах етіюльованих проростків пшениці тепловий загартовувачий вплив викликав підви-

ІНДУКУВАННЯ ПРОТЕКТОРНИХ СИСТЕМ РОСЛИН

щення активності каталази, але слабо змінював активність аскорбатпероксидази. Водночас активність гваяколпероксидази істотно підвищувалася і у коренях, і у пагонах.

Після ушкоджуючого впливу гіпертермії у загартованих проростках активність всіх антиоксидантних ферментів зберігалася на більш високому рівні, ніж у незагартованих.

Можна припустити, що індукція активності антиоксидантних ферментів після загартування проростків зумовлена спричинюваним ним короточасним збільшенням вмісту АФК в рослинних тканинах. Для з'ясування можливої ролі АФК і ферментних систем, що їх генерують, в індукції антиоксидантних ферментів проростків пшениці вивчали вплив їх обробки антиоксидантом диметилтіосечовиною (ДМТС) та інгібіторами НАДФН-оксидази (імідазолом) і СОД (діетилдитіокарбаматом натрію) на активність антиоксидантних ферментів через 24 год після загартування (коли спостерігалася максимальна теплостійкість проростків) (Колупаєв, Обозный, 2012; Колупаєв и др., 2013). Всі вказані сполуки знижували спричинюване загартовуваним прогрівом збільшення активності СОД, каталази, аскорбатпероксидази і розчинної гваяколпероксидази в коренях проростків. Отже, показано усунення позитивного впливу теплового загартування на всі досліджувані ферменти попередньою обробкою проростків скавенжером пероксиду водню ДМТС, інгібітором НАДФН-оксидази імідазолом та інгібітором СОД діетилдитіокарбаматом натрію. Це дає підстави вважати, що спричинюване загартуванням транзиторне підвищення вмісту пероксиду водню, яке відбувається за участю НАДФН-оксидази і СОД, є необхідним для подальшої активації ферментативних компонентів антиоксидантної системи проростків пшениці.

Примітно, що теплове загартування проростків пшениці спричиняло підвищення не лише активності, а й термостабільності антиоксидантних ферментів (СОД, каталази і гваяколпероксидази). Такий ефект, очевидно, відбувається за рахунок посилення біосинтезу більш термостабільних молекулярних форм ферментативних білків, оскільки пригнічується інгібітором біосинтезу білка циклогексимідом (Карпець, 2009). Ймовірними сигнальними месенджерами, які беруть участь в активації цього процесу, можуть бути АФК. Адже ефекти змін активності і термостабільності названих ферментів значною мірою нівелювалися антиоксидантом іонолом.

На прикладі пероксидази продемонстрована поява нових молекулярних форм в коренях проростків пшениці через 1 і 24 год після однохвилинної дії температури 42°C. Даний ефект загартовуючого прогріву усувався циклогексимідом (Карпець та ін., 2009).

Явище індукування антиоксидантної системи рослин показано у наших дослідженнях і за дії екзогенних сигнальних посередників. Так, обробка проростків пшениці хлоридом кальцію спричиняла підвищення активності гваяколпероксидази і каталази (Kolupaev et al., 2008). Під впливом екзогенного пероксиду водню зростала активність СОД і каталази в колеоптилях пшениці (Колупаєв, Карпець, 2008). Донор оксиду азоту нітропрусид натрію індукував активність СОД, каталази і гваяколпероксидази в ізольованих колеоптилях й коренях інтактних проростків пшениці (Карпець и др., 2011; 2015б).

Таким чином, індукування ферментативної антиоксидантної системи, ймовірно, включає в себе каскад сигнальних процесів, що змінюють експресію відповідних генів і синтез ферментних білків. При цьому функціональні зв'язки між різними сигнальними посередниками, ймовірно, зумовлюють можливість індукування антиоксидантної системи сигнальними сполуками різної природи.

Індукування протекторних систем рослин при холодоровому загартуванні

Одним із способів підвищення стійкості рослин до низьких стресових температур (як і високих) в природних і експериментальних умовах є загартування. Здатність до холодорового загартування притаманна якщо не всім, то більшості видів рослин і розглядається як важлива конститутивна ознака. При цьому стійкість не є сталою ознакою рослини, а змінюється у досить широких межах залежно від об'єкта (генотипу) і умов середовища (Титов и др., 2006).

Питання сприйняття рослиною сигналу дії низьких температур, як і інших абіотичних стрес-факторів, далеке від розв'язання. Прямим і, ймовірно, найбільш раннім наслідком впливу флуктуацій температури на клітини є зміна текучості мембран, пов'язана з переходом насичених жирних кислот з рідиннокристалічного в стан гелю. Припускають, що плазматична мембрана діє як первинний сенсор температурних флуктуацій внаслідок змін її фізичних характеристик (Гималов и др., 2004). Ймовірно, такі зміни призводять до відкриття активованих розтягуванням механочутливих Ca^{2+} -каналів. Зниження текучості мембрани і дестабілізація

компонентів цитоскелету спричиняють активацію кальцієвих каналів і надходження кальцію в цитозоль. Подальші зміни включають в себе вплив кальцію на протеїнкінази і фосфорилування білків, у т. ч. факторів регуляції транскрипції.

Дещо інша модель сприйняття холодового сигналу запропонована на підставі вивчення реакції ціанобактерій (*Synechocystis*) на зниження температури (Suzuki et al., 2001). Було встановлено, що холодовій індукції гена десатурази (адаптивній реакції на охолодження) передує активація гістидинкінази, що виявляється в її автофосфорилуванні. Наділі фосфатна група через кілька посередників передається до фактора регуляції транскрипції десатурази. Активація експресії гена десатурази і підвищення активності відповідного ферменту, що перетворює насичені жирні кислоти на ненасичені, і зумовлює підвищення холодостійкості ціанобактерії. Пізніше, коли була отримана бібліотека мутантів за всіма гістидинкіназами *Synechocystis*, ця гістидинкіназа виявилася під порядковим номером 33 і отримала звучну назву Нік33 (Лось, 2010). Однак, дослідження мутанту за Нік33 показали, що ця гістидинкіназа контролює не всі гени, індуковані холодом. Виявилось, що з 38 генів, транскрипція яких зростає на холоді більш ніж утричі, лише 23 гени перебувають під контролем сигнального шляху Нік33. Решта 15 генів не контролюються цим сенсором. Тим не менше Нік33 вважається одним з молекулярних сенсорів низької температури. Її мономер на своєму N-кінці має два трансмембранні домени, здатні сприймати зміни поверхневого заряду мембрани або її ущільнення, спричинене стресовими впливами (Los et al., 2008).

Таким чином, нині припускають існування принаймні двох механізмів сприйняття рослиною температурного (низькотемпературного) сигналу, один з яких пов'язаний з активацією кальцієвих каналів, а інший з прямим підвищенням активності протеїнкіназ, здатних до автофосфорилування. Водночас в обох випадках первинним стимулом може бути зміна фізико-хімічних характеристик плазмалеми (Гималов и др., 2004; Los et al., 2008).

Ефекти холодового загартування вищих рослин, безумовно, складні і напевно не можуть ініціюватися лише одним чи кількома конкретними сенсорами дії низької температури. У цих процесах, ймовірно, задіяні різноманітні сигнальні посередники. Як уже зазначалося, сприйняття рослиною клітиною низьких

температур спричиняє відкриття кальцієвих каналів і тимчасове зростання вмісту цитозольного кальцію. Ще у 90-і роки минулого століття було показано зняття ефекту холодового загартування дією на рослини блокаторів кальцієвих каналів (Monroy et al., 1995).

Крім іонів кальцію в індукуванні холодостійкості як посередники, ймовірно, задіяні АФК. Окремі роботи, в яких досліджена динаміка утворення АФК і змін в антиоксидантній системі за дії помірних стресорів, свідчать на користь такого припущення. Так, на проростках кукурудзи показано, що 4-годинний вплив температури 1°C з наступним 6-годинним витриманням рослин за температури 26°C спричинював транзиторне збільшення вмісту пероксиду водню і зростання їх стійкості до тривалого впливу низьких позитивних температур (Li et al., 2011). При цьому спостерігалось підвищення активності СОД, гваяколпероксидази, каталази, глутатіонредуктази. Схожі результати отримані на прикладі рослин гібрида *Fragaria* × *Ananassa Duch* (Zhang et al., 2008). Їх холодова аклімація викликала транзиторне підвищення вмісту H₂O₂ і наступне зростання активності СОД, каталази і пероксидази.

Останнім часом досить інтенсивно досліджується зв'язок між розвитком холодо- (морозо-) стійкості і змінами у функціонуванні антиоксидантної системи. Відомо, що однією з причин пошкодження рослин при дії низьких температур є вторинний окислювальний стрес, зумовлений в першу чергу зміною стану мембран (Penfield, 2008). У деяких роботах встановлено підвищення активності антиоксидантних ферментів в процесі холодового загартовування рослин (Нарайкіна и др., 2014; Колупаєв и др., 2015б). Також є відомості про зв'язок між активністю антиоксидантних ферментів і стійкістю рослин різних генотипів. Наприклад, показана досить висока позитивна кореляція між активністю гваяколпероксидази і конститутивною морозостійкістю ряду генотипів озимої пшениці, при цьому більш виразно подібна залежність виявлялася після загартування (Janda et al., 2003). Холодостійкі генотипи рису відповідали на дію низьких позитивних температур підвищенням активності СОД, каталази і аскорбатпероксидази (Guo et al., 2006). У цих сортів також в стресових умовах зберігався пул низькомолекулярних антиоксидантів. З іншого боку, у чутливих до холоду сортів рису спостерігалось зниження активності антиоксидантних ферментів і виснаження пулу низькомолекулярних антиоксидантів. У той же час багатьма авторами

ІНДУКУВАННЯ ПРОТЕКТОРНИХ СИСТЕМ РОСЛИН

zareєстровані різноспрямовані зміни активності окремих антиоксидантних ферментів у відповідь на дію низьких температур, що не дозволяє робити однозначні висновки про їхню роль в адаптації рослин до гіпотермії (Apostolova et al., 2008; Джавидиан и др., 2010).

Були спроби встановити зв'язок між вмістом проліну і морозостійкістю рослин. Пролін останнім часом розглядається не тільки як сумісний осмоліт, а й як антиоксидант (Liang et al., 2013). Показано збільшення вмісту проліну при холододовому загартуванні рослин арабідопсису, проте зв'язку між динамікою накопичення проліну і розвитком морозостійкості не виявлено (Wanner, Junttila, 1999). Автори розглядають накопичення проліну як наслідок дії на рослини низьких температур, а не причину стійкості до них. У холодостійких генотипів рису при нормальній і зниженій температурі вміст проліну в листках і пагонах був нижчим, ніж у нестійкого (Aghaee et al., 2011).

Показано відсутність відмінностей у базовому вмісті проліну в листках озимої і ярої м'яких пшениць (Apostolova et al., 2008). Після холододового загартування вміст проліну збільшувався, однак відмінностей між сортами не відзначалося. У той же час в роботі (Джавидиан и др., 2010) виявлено більш істотне підвищення вмісту проліну у морозостійкого сорту озимої пшениці порівняно із середньостійким при тривалому холододовому загартуванні. У дослідженнях Tantau et al. (2004) показано досить тісний зв'язок між накопиченням проліну і морозостійкістю ліній ячменю, вирощуваних *in vitro*. У більш холодостійких генотипів суниці відзначено вищий вміст проліну за холододової адаптації, що поєднувалося з меншим проявом окиснювальних пошкоджень (Luo et al., 2011). Таким чином, очевидно, у окремих видів рослин внесок проліну в антиоксидантний захист при холододовому стресі може бути досить високим.

Нами спільно з науковцями Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України було досліджено вплив холододового загартування проростків жита (*Secale cereale* L.) і пшениці (*Triticum aestivum* L.) на їх резистентність до дії агентів окиснювального стресу (ОС) – 50 мМ пероксиду водню і 5 мМ сульфату заліза (II). Отримані результати в цілому засвідчили наявність зв'язку між морозостійкістю рослин та їх резистентністю до дії безпосередніх агентів ОС. Так, після впливу на незагартовані проростки обох агентів ОС у жита, що відрізняється наявністю конститутивної морозостійкості, інгібування росту було меншим порівняно з пше-

ницею, у якої в наших експериментальних умовах не виявлялася властивість базової морозостійкості (Колупаев и др., 2016в).

Холодове загартування викликало підвищення стійкості проростків обох видів злаків як до кріостресу, так і до дії агентів ОС. Це виявлялося в меншому рістінгібуючому впливі останніх на загартовані проростки обох видів порівняно з незагартованими (Колупаев и др., 2016в). При цьому зберігалися відмінності між видами: загартовані проростки жита виявляли вищу стійкість до агентів ОС, ніж загартовані проростки пшениці.

Отримані результати дозволяють пов'язати відмінності у базовій та індукованій морозостійкості і резистентності досліджуваних рослин до агентів ОС з вмістом або активністю окремих компонентів антиоксидантної системи. Незагартовані проростки жита, що виявляли, на відміну від проростків пшениці, конститутивну морозостійкість і вищу резистентність до сульфату заліза (II), відрізнялися вищим вмістом антоціанів. Вважається, що антоціани мають дуже високу антиоксидантну активність (Gould, Lister, 2006; Khlestkina, 2013). Індукцію синтезу антоціанів дією низьких температур виявлено у багатьох видів рослин (Chalker-Scott, 1999). У наших експериментах загартування спричинило підвищення вмісту антоціанів у жита і морозостійкої пшениці, у нестійких сортів такого ефекту не було (Колупаев и др., 2015в). Проростки жита також відрізнялися підвищеним вмістом проліну за звичайних умов і особливо після загартування.

Істотні відмінності у проростків жита і двох сортів пшениці виявлялися за активністю гваяколпероксидази. У жита базова активність ферменту була більш ніж в два рази вищою, ніж у пшениці. Загартування викликало підвищення активності гваяколпероксидази у обох видів, проте у жита на всіх фазах експерименту активність ферменту була набагато вищою, ніж у пшениці (Колупаев и др., 2015б). Зауважимо, що пероксидаза є поліфункціональним ферментом і її внесок у стійкість рослин до стресорів може бути зумовлений не тільки детоксикацією АФК, а й іншими реакціями, наприклад, пов'язаними з АФК-сигналігом, посттрансляційною модифікацією білків шляхом димеризації тирозинових залишків, зміною гормонального балансу (Максимов и др., 2011).

Таким чином, є підстави стверджувати про наявність зв'язку між морозостійкістю, як конститутивною, так і індукованою, і резистентністю проростків злаків до ОС. Різні компоне-

нти антиоксидантної системи мають внесок у підтримання окиснювально-відновного балансу, при цьому вища конститутивна та індукована стійкість жита до сульфату заліза і проморожування може бути пов'язана з підвищеним вмістом антоціанів, проліну та активністю гваяколлапероксидази. Активація антиоксидантної системи після загартування відзначалася у морозостійкого сорту пшениці. Але для нього була характерна лише індукована загартуванням стійкість до холоду у агентів ОС.

Індукування стійкості рослин до абіотичних стресорів дією екзогенних фітогормонів

Останніми роками у світовій стресовій фізіології рослин отриманий великий обсяг матеріалів стосовно участі АБК, саліцилової (СК) і жасмонової (ЖАК) кислот, а також брасиностероїдів у формуванні адаптивних реакцій рослин. Останнім трьом групам фітогормонів приділяється значна увага у зв'язку з можливістю практичного використання для індукування стійкості рослин.

На прикладі рослин різних таксономічних груп показано збільшення вмісту ендогенних саліцилової (Larkindale et al., 2005; Sawada et al., 2006), жасмонової (Wasternack, 2007) кислот і брасиностероїдів (Кравец и др., 2011; Vajguz, 2011) у відповідь на дію абіотичних стресових чинників. Ще більше відомостей про можливість індукування екзогенною дією вказаних фітогормонів стійкості рослин до стресорів різної природи. Ці дані були узагальнені нами у ряді оглядів (Колупаєв, Ястреб, 2013; Колупаєв, Вайнер, 2014; Колупаєв и др., 2016а). В Україні можливості використання цих регуляторів росту для індукування стрес-протекторних систем рослин досліджуються поки що недостатньо. Зважаючи на це, вважаємо за доцільне стисло оглянути результати власних досліджень, проведених протягом останнього десятиліття.

Саліцилова кислота. Ефекти цього фітогормону у наших дослідженнях вивчалися на прикладі ізольованих сім'ядоль огірка та колеоптилів пшениці, котрі є модельними об'єктами, чутливими до дії екзогенної СК (Колупаєв и др., 2012; Колупаєв, Ястреб, 2012). Встановлено підвищення теплостійкості цих об'єктів під впливом екзогенної СК.

На прикладі проростків проса дослідили вплив СК (10 мкМ) на стійкість до іншого чинника – зневоднення, спричинюваного дією ПЕГ-6000. Передпосівна обробка насіння істотно підвищувала виживаність проростків після

3-годинного впливу на їх кореневу систему 30% ПЕГ-6000 (Ястреб, 2013).

На проростках пшениці показано, що попередня їх обробка СК спричиняла істотне підвищення солестійкості, яке виявлялося у більш помітному відновленні росту коренів і пагонів проростків після видалення солі із середовища (Ястреб, 2013).

У наших експериментах стрес-протекторні ефекти СК нівелювалися дією на рослини об'єкти антиоксидантів та інгібіторів ферментів, що генерують АФК (НАДФН-оксидази, позаклітинної пероксидази) (Колупаєв и др., 2012). Детально роль АФК та інших сигнальних посередників у реалізації стрес-протекторних ефектів СК та інших фітогормонів проаналізована у нашому попередньому огляді (Колупаєв и др., 2016а).

Обробка СК індукувала ферментативну систему антиоксидантного захисту рослин з різних таксономічних груп, що виявлялося у підвищенні активності супероксиддисмутази, каталази і розчинних форм пероксидази. Такі ефекти були особливо помітними на тлі дії стресорів. На проростках пшениці показаний ефект підвищення солестійкості під впливом СК, пов'язаний зі змінами в системі антиоксидантного захисту, зокрема, з накопиченням проліну (Ястреб, 2013).

Жасмонова кислота. Цей фітогормон вважається передусім учасником адаптивних реакцій рослин на ураження патогенами-некротрофами, вплив фітофагів та механічного ушкодження (Wasternack, 2007; Васюкова, Озерцковская, 2009). Проте уже протягом кількох десятиліть реєструються позитивні ефекти ЖАК на стійкість рослин до абіотичних стресорів (Колупаєв и др., 2016в).

В експериментах, проведених нашою групою, показано індукування ЖАК теплостійкості колеоптилів (Карпец и др., 2014а) та інтактних проростків пшениці (Карпец и др., 2016б), зелених рослин ячменю (Луговая и др., 2014) і проса (Вайнер и др., 2015).

Встановлене АФК-залежне підвищення теплостійкості рослинних об'єктів після обробки ЖАК свідчить про можливість індукування цим стресовим фітогормоном антиоксидантної системи. Результати вивчення активності антиоксидантних ферментів у рослинних об'єктах за дії на них ЖАК і теплового стресу підтвердили це припущення (Карпец и др., 2014).

Так, обробка колеоптилів пшениці ЖАК спричиняла підвищення активності СОД, ката-

ІНДУКУВАННЯ ПРОТЕКТОРНИХ СИСТЕМ РОСЛИН

лази, аскорбатпероксидази і гваяколпероксидази. Висока активність антиоксидантних ферментів, ймовірно, сприяла збереженню пулу низькомолекулярних антиоксидантів з антирадикальною активністю у період після теплового стресу.

Передпосівна обробка насіння ячменю розчинами ЖАК (0,1 мкМ) також викликала зміни активності антиоксидантних ферментів в листках рослин ячменю. Під впливом ЖАК при вирощуванні рослин в умовах нормального зволоження підвищувалася активність СОД і пероксидази і знижувалася активність каталази. В умовах посухи активуючий вплив ЖАК на СОД і пероксидазу був ще помітнішим, в той час як інгібування каталази не відбувалося (Луговая и др., 2014). Отже, екзогенна ЖАК позитивно впливала на функціонування антиоксидантних ферментів у колеоптилях пшениці та листках ячменю, особливо помітним він був після дії стресорів – гіпертермії і посухи.

Брасиностероїди – клас фітогормонів, що беруть участь в процесах адаптації рослин до стресорів різної природи, у т.ч. до несприятливих температур, водного стресу, засолення (Khrirach et al., 2000; Fariduddin et al., 2014). Є свідчення їх впливу на функціонування всієї гормональної системи рослин, що дозволяє розглядати їх як групу найважливіших «стресових» фітогормонів (Vajguz, Nayat, 2009).

Для досліджень стрес-протекторних ефектів БС ми використовували 24-епібрасинолід, 24-епікастастерон, 28-гомобрасінолід. Встановлено, що під дією екзогенних БС відбувається підвищення стійкості ізолюваних органів, проростків і дорослих рослин *Triticum aestivum* і *Panicum miliaceum* до гіпертермії, зневоднення і сольового стресу, збільшення в них активності антиоксидантних ферментів (СОД, каталази, гваяколпероксидази), вмісту цукрів, і зменшення кількості проліну (Вайнер и др., 2014а; б; Колупаев и др., 2014).

Примітно, що у реалізації стрес-протекторних ефектів БС, як і СК та ЖАК, задіяні такі сигнальні посередники як АФК та іони кальцію (Колупаев и др., 2014).

Висновки

Аналіз даних літератури та результатів, отриманих нашою групою протягом останнього десятиліття, дозволяють стверджувати, що стійкість рослин до абіотичних стресорів може бути індукована попереднім помірним впливом самих стресорів (ефект загартування), екзогенними сигнальними посередниками (солі кальцію, АФК, донори оксиду азоту) і стресовими

фітогормонами (насамперед, СК, ЖАК і БС). Такі результати дозволяють припустити, що для індукування функціонування стрес-протекторних систем необхідна активація сигнальної мережі, що забезпечує трансдукцію сигналів у генетичний апарат клітини. Завдяки об'єднанню сигнальних систем в мережу адаптивний ефект, ймовірно, може формуватися внаслідок впливу сигнальних або гормональних посередників різної природи.

Наявність універсальних захисних систем (антиоксидантна, до певної міри осмопротекторна та ін.) створює передумови для індукування адаптації до різних стресорів дією одного сигнального чинника (ефект крос-толерантності). З іншого боку, існування універсальних месенджерів, задіяних у трансдукції різноманітних сигналів, може бути передумовою для розвитку захисних реакцій рослин, необхідних для адаптації до певного стресора, дією різних сигнальних посередників або стресових фітогормонів. Це відкриває широкі можливості для практичного індукування як неспецифічних, так і відносно специфічних реакцій, дією на рослини різноманітних природних сигнально-регуляторних молекул та іонів (пероксид водню, солі кальцію, саліцилова і жасмонова кислоти, брасиностероїди). Вказані біорегулятори є природними речовинами, що знімає питання стосовно безпеки їх використання. Водночас спектр їх застосування залишається досить вузьким через недостатнє знання механізмів дії, неповну картину феноменології ефектів, брак даних про видові і сортові особливості реакції рослин на вказані сполуки. Можна припустити, що успіхи у вивченні клітинного сигналіngu в цілому стануть передумовою для більш цілеспрямованого дослідження феноменології дії індукторів адаптивних реакцій та створення більш надійних теоретичних основ для їх практичного використання.

ЛІТЕРАТУРА

- Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура. – Л.: Наука, 1975 – 320 с.
- Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. – Л.: Наука, 1985. – 318 с.
- Александров В.Я., Кислюк И.М. Реакция клеток на тепловой шок. Физиологический аспект // Цитология. – 1994. – Т. 36, № 1. – С. 5-59.
- Бакакина Ю.С., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д. Влияние высокотемпературного стресса на внутриклеточную концентрацию NO и эндогенное содержание цГМФ в проростках *Arabidopsis thaliana* // Весті Нац. акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2009. – № 4. – С. 34-39.

- Бакакина Ю.С., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д. Влияние холодового стресса на внутриклеточную концентрацию NO и эндогенное содержание цГМФ в проростках *Arabidopsis thaliana* // Весті Нац. академії наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2009. – № 3. – С. 43-46.
- Вайнер А.А., Колупаев Ю.Е., Обозный А.И., Ястреб Т.О., Хрипач В.А. Влияние 24-эпибрассинолида на устойчивость растений проса (*Panicum miliaceum*) к водному стрессу // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Серія Біологія. – 2014. – Вип. 2 (32). – С.46-55.
- Вайнер А.А., Колупаев Ю.Е., Хрипач В.А. Раздельное и совместное влияние 24-эпибрассинолида и пролина на антиоксидантную систему растений проса при солевом стрессе // Физиология растений и генетика. – 2014. – Т. 46, № 5. – С. 428-436.
- Вайнер А.А., Луговая А.А., Колупаев Ю.Е., Мирошниченко Н.Н. Влияние жасмоновой кислоты на продуктивность и устойчивость растений проса к неблагоприятным абиотическим факторам // Агрехимия. – 2015. – № 4. – С. 62-67.
- Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. Жасмонат-зависимая защитная сигнализация в тканях растений // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 5. – С. 643-653.
- Гималов Ф.Р., Чемерис А.В., Вахитов В.А. О восприятия растением холодового сигнала // Успехи соврем. биологии. – 2004. – Т. 124, № 2. – С. 185-196.
- Глянько А.К., Ищенко А.А., Митанова Н.Б., Васильева Г.Г. НАДФН-оксидаза растений // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2009. – Вип. 2 (17). – С. 6-18.
- Гродзинский Д.М. Адаптивная стратегия физиологических процессов растений (47-е Тимирязевское чтение 25 лет спустя). – Киев: Наук. думка, 2013. – 303 с.
- 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, № 4. – С. 580-588.
- Дмитриев А.П. Сигнальные молекулы растений для активации защитных реакций в ответ на биотический стресс // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 3. – С. 465–474.
- Дроздов С.Н., Курец В.К., Титов А.Ф. Терморезистентность активно вегетирующих растений. – Л.: Наука, 1984. – 168 с.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. Содержание пероксидов в корнях проростков пшеницы при гипертермии в зависимости от кальциевого статуса их клеток // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2008. – Вип. 3 (15). – С. 33-40.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А. Функциональное взаимодействие оксида азота и пероксида водорода при формировании индуцированной теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. – 2015а. – Т. 62, № 1. – С. 72-78.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Косаковская И.В. Оксид азота и пероксид водорода как сигнальные посредники при индуцировании теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенными жасмоновой и салициловой кислотами // Физиология растений и генетика. – 2016а. – Т. 48, № 2. – С. 158-166.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Луговая А.А., Обозный А.И. Влияние экзогенной жасмоновой кислоты на про-/антиоксидантную систему колелоптилей пшеницы в связи с устойчивостью к гипертермии // Физиология растений. – 2014а. – Т. 61, № 3. – С. 367-375.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В., Луговая А.А. Участие оксида азота в развитии теплоустойчивости проростков пшеницы, индуцированной кратковременным прогревом // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2014б. – Вип. 1 (31). – С. 47-54.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Влияние нитропруссиды натрия на теплоустойчивость колелоптилей пшеницы: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 6. – С. 883-890.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Влияние модификации NO-статуса, закаливающего прогрева и пероксида водорода на активность антиоксидантных ферментов в проростках пшеницы // Физиология растений. – 2015б. – Т. 62, № 3. – С. 317-323.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Индуцирование теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенным кальцием, пероксидом водорода и донором оксида азота: функциональное взаимодействие сигнальных посредников // Физиология растений. – 2016б. – Т. 63, № 4. – С. 521-531.
- Карпец Ю.В. Загартування рослин короткочасною дією високих температур: особливості передачі сигналу і фізіологічної відповіді: Автореферат дис. ... канд. біол. наук. – К., 2009. – 20 с.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. Динаміка розвитку теплостійкості рослин після короткочасного теплового загартування: зв'язок з флуктуаціями вмісту пероксидів // Укр. ботан. журн. – 2008. – Т. 65, № 5. – С. 733-742.
- Карпец Ю.В., Обозный О.И., Попов В.М., Колупаев Ю.Е. Зміни активності і термостабільності пероксидази коренів пшениці після короткочасної дії гіпертермії // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т. 41, № 4. – С. 353-358.
- Колупаев Ю.Е. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости

ИНДУКОВАННЯ ПРОТЕКТОРНИХ СИСТЕМ РОСЛИН

- растений // Успехи соврем. биологии. – 2016. – Т. 136, № 2. – С. 181-198.
- Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А. Механизмы стресспротекторного влияния brassinosterоидов на растения // Агрохимия. – 2014. – № 7. – С. 69-84.
- Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О., Обозный А.И., Хрипач В.А. Активные формы кислорода и ионы кальция в реализации стресспротекторного действия brassinosterоидов на растительные клетки // Прикл. биохимия и микробиология. – 2014. – Т. 50, № 6. – С. 593-598.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Окислительный стресс и состояние антиоксидантной системы в колемпгилях пшеницы при действии пероксида водорода и нагрева // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2008. – Вип. 2 (14). – С. 42-52.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. – Киев: Основа, 2010. – 352 с.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Дмитриев А.П. Сигнальные посредники в реакциях растений на действие абиотических стрессоров: кальций, активные формы кислорода и азота // Цитология и генетика. – 2015а. – Т. 49, № 5. – С. 73-86.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Луговая А.А. Сигнальные посредники в реализации физиологических эффектов стрессовых фитогормонов // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2016а. – Вип. 1 (37). – С. 42-62.
- Колупаев Ю.Е., Обозный А.И. Участие активных форм кислорода в индуцировании аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы при тепловом закаливании проростков пшеницы // Укр. біохім. журн. – 2012. – Т. 84, № 6. – С. 131-138.
- Колупаев Ю.Е., Обозный А.И., Швиденко Н.В. Роль пероксида водорода в формировании сигнала, индуцирующего развитие теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 2. – С. 221-229.
- 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. – 2015б. – Т. 63, № 4. – С. 533-541.
- Колупаев Ю.Е., Рябчун Н.И., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Связь между морозоустойчивостью проростков пшеницы и их резистентностью к агентам окислительного стресса // Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений. – М., 2015в. – С. 365-369.
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Влияние ароматических и дикарбоновых алифатических кислот на теплоустойчивость семян огурца: возможная связь эффектов с метаболизмом пероксида водорода // Агрохимия. – 2012. – № 7. – С. 39-46.
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Стресс-протекторные эффекты салициловой кислоты и ее структурных аналогов // Физиология и биохимия культ. растений. – 2013. – Т. 45, № 2. – С. 113-126.
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Луговая А.А. Роль жасмонатов в адаптации растений к действию абиотических стрессоров // Физиология растений и генетика. – 2016б. – Т. 48, № 2. – С. 105-121.
- 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 окислительному стрессу // Физиология растений. – 2016в. – Т. 63, № 3. – С. 346-358.
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Швиденко Н.В., Карпец Ю.В. Индукция теплоустойчивости колемпгилей пшеницы салициловой и янтарной кислотами: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Прикл. биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 5. – С. 550-556.
- Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В., Белявская Н.А., Недуха Е.М. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / Под ред. Е.Л. Кордюм. – Киев: Наук. думка, 2003. – 277 с.
- Кравец В.С., Кретинин С.В., Деревянчук М.В., Драч С.В., Литвиновская Р.П., Хрипач В.А. Влияние низких температур на уровень эндогенных brassinosterоидов // Доповіді НАН України. – 2011. – № 8. – С. 155-159.
- Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 163-178.
- Лось Д.А. Сенсорные системы цианобактерий. – М.: Научный мир, 2010. – 218 с.
- Луговая А.А., Карпец Ю.В., Обозный А.И., Колупаев Ю.Е. Стресспротекторное действие жасмоновой и янтарной кислот на растения ячменя в условиях почвенной засухи // Агрохимия. – 2014. – № 4. – С. 48-55.
- Максимов И.В., Черепанова Е.А., Бурханова Г.Ф., Сорокань А.В., Кузьмина О.И. Структурно-функциональные особенности изопероксидаз растений // Биохимия. – 2011. – Т. 76. – С. 749-763.
- Мамаева А.С., Фоменков А.А., Носов А.В., Мошков И.Е., Мур Л.А.Дж., Холл М.А., Новикова Г.В. Регуляторная роль оксида азота у растений // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 4. – С. 459-474.
- Мацков Ф.Ф. Распознавание живых, мертвых и поврежденных хлорофиллоносных тканей растений по реакции образования феофитина при оценке устойчивости к экстремальным воздействиям // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. – М.: Наука, 2008. – С. 10-15.

- гоприятным условиям среды. – Л.: Колос, 1976. – С. 54-60.
- Моргун В.В., Кірізії Д.А., Шадчина Т.М. Проблеми фізіологічної генетики рослин у світлі глобальних кліматичних змін // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. – К.: Логос, 2009. – Т. 2. – С. 78-104.
- Нарайкина Н.В., Синькевич М.С., Дёмин И.Н., Селиванов А.А., Мошков И.Е., Трунова Т.И. Изменения активности изоформ супероксиддисмутазы у растений картофеля дикого типа и трансформированных геном $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы при низкотемпературной адаптации // Физиология растений. – 2014. – Т. 61. – С. 359-366.
- Обозний О.І. Генерація активних форм кисню і функціонування антиоксидантної системи при формуванні перехресної стійкості рослин до гіпертермії й осмотичного шоку: Автореферат дис. ... канд. біол. наук. – К., 2014. – 22 с.
- 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, № 2. – С. 234-242.
- Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
- Титов А.Ф., Акимова Т.В., Крупнова И.В. Особенности начального периода холодовой и тепловой адаптации растений (феноменологический аспект) // Физиология растений. – 1989. – Т. 36, вып. 4. – С. 717-723.
- Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. – М.: Наука, 2006. – 143 с.
- Ястреб Т.О. Фізіолого-біохімічні механізми індукції стійкості рослин до абіотичних стресорів дією ароматичних і дикарбонових аліфатичних кислот: Автореферат дис. ... канд. біол. наук. – К., 2013. – 22 с.
- 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.
- Alexandrov V.Ya., Arronet N.J., Feldman N.L. The responsive increase in thermostability of plant cell // Protoplasma. – 1970. – V. 69. – P. 417-458.
- 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.
- 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.
- Bailey J., Mittler R. The roles of reactive oxygen species in plant cell // Plant Physiol. – 2006. – V. 141, № 2. – P. 311-312.
- Bajguz A. Suppression of *Chlorella vulgaris* growth by cadmium, lead and copper stress and its restoration by endogenous brassinolide // Arch. Environ. Contam Toxicol. – 2011. – V. 60. – P. 406-416.
- Bajguz A., Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses // Plant Physiol. Biochem. – 2009. – V. 47. – P. 1-8.
- Bhattacharjee S. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plants // Curr. Sci. – 2005. – V. 89. – P. 1113-1121.
- Bienert G.P., Moller A.L., Kristiansen K.A., Schulz A., Moller I.M., Schjoerring J.K., Jahn T.P. Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes // J. Biol. Chem. – 2007. – V. 282. – P. 1183-1192.
- Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses // Photochem. Photobiol. – 1999. – V. 70. – P. 1-9.
- Courtois C., Besson A., Dehan J., Bourque S., Dobrowolska G., Pugin A., Wendehenne D. Nitric oxide signalling in plants: interplays with Ca^{2+} and protein kinases // J. Exp. Bot. – 2008. – V. 59. – P. 155-163.
- 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. 721-32.
- Demidchik V., Davenport R.J., Tester M.A. Nonselective cation channels in plants // Annu. Rev. Plant Biol. – 2002. – V. 53. – P. 67-107.
- Dubovskaya L.V., Bakakina Y.S., Kolesneva E.V., Sodel D.L., McAinsh M.R., Hetherington A.M., Volotovskii I.D. cGMP-dependent ABA-induced stomatal closure in the ABA-insensitive Arabidopsis mutant *abi1-1* // New Phytol. – 2011. – V. 191. – P. 57-69.
- Fariduddin Q., Yusuf M., Ahmad I., Ahmad A. Brassinosteroids and their role in response of plants to abiotic stresses // Biol. Plant. – 2014. – V. 58 – P. 9-17.
- Foyer C.H., Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications // Antioxid. Redox Signal. – 2009. – V. 11. – P. 861-906.
- Foyer C.H., Shigeoka S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis // Plant Physiol. – 2011. – V. 155. – P. 93-100.
- Gould K.S., Lamotte O., Klinguer A., Pugin A., Wendehenne D. Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response? // Plant Cell Environ. – 2003. – V. 26. – P. 1851-1862.
- Gould K.S., Lister C. Flavonoid functions in plants // Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applica-

- tions / Eds. O.M. Andersen, K.R. Markham. – Taylor & Francis Group, 2006. – P. 397-442.
- 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.
- Hirayama T., Shinozaki K. You have free access to this content research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future // *Plant J.* – 2010. – V. 61. – P. 1041-1052.
- Janda T., Szalai G., Rios-Gonzalez K., Veisz O., Paldi E. Comparative study of frost tolerance and anti-oxidant activity in cereals // *Plant Sci.* – 2003. – V. 164. – P. 301-306.
- Jaspers P., Kangasjarvi J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling // *Physiol. Plant.* – 2010. – V. 138. – P. 405-413.
- Johnson J.M., Reichelt M., Vadassery J., Gershenzon J., Oelmüller R. An Arabidopsis mutant impaired in intracellular calcium elevation is sensitive to biotic and abiotic stress // *BMC Plant Biol.* – 2014. – V. 14:162.
- Kacperska A. Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity? // *Physiol. Plant.* – 2004. – V. 122. – P. 159-168.
- Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Yastreb T.O. Signal mediators at induction of heat resistance of wheat plantlets by short-term heating // *Ukr. Biochem. J.* – 2015. – V. 87, № 6. – P. 104-112.
- Kaur N., Gupta A.K. Signal transduction pathways under abiotic stresses in plant // *Curr. Sci.* – 2005. – V. 88. – P. 1771-1780.
- Khlestkina E.K. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals // *Cereal Res. Commun.* – 2013. – V. 41. – P. 185-198.
- Khripach V., Zhabinskii V., De Groot A. Twenty years of brassinosteroids: Steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century // *Ann. Bot.* – 2000. – V. 86. – P. 441-447.
- Kim M.C., Chung W.S., Yun D., Cho M.J. Calcium and calmodulin-mediated regulation of gene expression in plants // *Mol. Plant.* – 2009. – V. 2. – P. 13-21.
- Kolupaev Yu.Ye., Karpets Yu.V., Kosakivska I.V. The importance of reactive oxygen species in the induction of plant resistance to heat stress // *Gen. Appl. Plant Physiol.* – 2008. – V. 34, № 3-4. – P. 251-266.
- Larkindale J., Hall J.D., Knight M.R., Vierling E. Heat stress phenotypes of Arabidopsis mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of thermotolerance // *Plant Physiol.* – 2005. – V. 138. – P. 882-897.
- Li G.C., Fisher G.A., Hahn G.M. Induction of thermotolerance and evidence for a well-defined thermotropic cooperative process // *Radiat. Res.* – 1982a. – V. 89. – P. 361-368.
- Li G.C., Werb Z. Correlation between synthesis of heat shock proteins and development of thermotolerance in Chinese hamster fibroblasts // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1982b. – V. 79. – P. 3218-3222.
- Li Z.G., Yan S.Z., Xie H. Effect of mechanical stimulation on salt and heavy metal tolerance in tobacco suspension cultured cells // *J. Yunnan Norm. Univ. Nat. Sci.* – 2011. – V. 31. – P. 16-20.
- Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline Mechanisms of Stress Survival // *Antioxid. Redox Signal.* – 2013. – V. 19. – P. 998-1011.
- Lin C.Y., Roberts J.K., Key J.L. Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings. Synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localization // *Plant Physiol.* – 1984. – V. 74. – P. 152-160.
- Liu H.T., Li B., Shang Z.L., Li X.Z., Mu R.L., Sun D.Y., Zhou R.G. Calmodulin is involved in heat shock signal transduction in wheat // *Plant Physiol.* – 2003. – V. 132. – P. 1186-1195.
- Los D.A., Suzuki I., Zinchenko V.V., Murata N. Stress responses in *Synechocystis*: regulated genes and regulatory systems // *The Cyanobacteria: Molecular Biology, Genomics and Evolution* / Eds. A. Herrero, E. Flores. – Norfolk: Caister Academic Press, 2008. – P. 117-157.
- Los D.A., Zorina A., Sinetova M., Kryazhov S., Mironov K., Zinchenko V.V. Stress sensors and signal transducers in Cyanobacteria // *Sensors.* – 2010. – V. 10. – P. 2386-2415.
- Luo Y., Tang H., Zhang Y. Production of reactive oxygen species and antioxidant metabolism about strawberry leaves to low temperatures // *J. Agric. Sci.* – 2011. – V. 3. – P. 89-95.
- Minibayeva F., Kolesnikov O., Chasov A., Beckett R.P., Lüthje S., Vylegzhanina N., Buck F., Böttger M. Wound-induced apoplastic peroxidase activities: their roles in the production and detoxification of reactive oxygen species // *Plant Cell Environ.* – 2009. – V. 32. – P. 497-508.
- Minibayeva F.V., Gordon L.K., Kolesnikov O.P., Chasov A.V. Role of extracellular peroxidase in the superoxide production by wheat root cells // *Protoplasma.* – 2001. – V. 217. – P. 125-128.
- Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends Plant Sci.* – 2002. – V. 7, № 9. – P. 405-410.
- Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Van Breusegem F. ROS signaling: the new wave? // *Trends Plant Sci.* – 2011. – V. 16. – P. 300-309.
- Moller I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2001. – V. 52. – P. 561-591.

- Monroy A.F., Dhindsa R.S. Low temperature signal transduction: induction of cold acclimation-specific genes of alfalfa by calcium at 25°C // *Plant Cell*. – 1995. – V. 7. – P. 321-331
- Mur L.A.J., Mandon J., Persijn S., Cristescu S.M., Moshkov I.E., Novikova G.V., Hall M.A., Harren F.J.M., Hebelstrup K.H., Gupta K.J. Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge // *AoB Plants*. – 2013. – V. 5: pls052. doi 10.1093/aobpla/pls052
- Neill S., Bright J., Desikan R. Hancock J., Harrison J., Wilson I. Nitric oxide evolution and perception // *J. Exp. Bot.* – 2008. – V. 59. – P. 25-35.
- Ogasawara Y., Kaya H., Hiraoka G., Yumoto F., Kimura S., Kadota Y., Hishinuma H., Senzaki E., Yamagoe S., Nagata K., Nara M., Suzuki K., Tanokura M., Kuchitsu K. Synergistic activation of the Arabidopsis NADPH oxidase AtrbohD by Ca²⁺ and phosphorylation // *J. Biol. Chem.* – 2008. – V. 283. – P. 8885-8892.
- Penfield S. Temperature perception and signal transduction in plants // *New Phytol.* – 2008. – V. 179. – P. 615-628.
- Powell N., Ji X., Ravash R., Edlington J., Dolferus R. Yield stability for cereals in a changing climate // *Funct. Plant Biol.* – 2012. – V. 39. – P. 539-552.
- Pucciariello C., Banti V., Perata P. ROS signaling as common element in low oxygen and heat stresses // *Plant Physiol. Biochem.* – 2012. – V. 59. – P. 3-10.
- Rhoads D.M., Umbach A.L., Subbaiah C.C., Siedow J.N. Mitochondrial reactive oxygen species. contribution to oxidative stress and interorganellar signaling // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 357-366.
- Roszer T. Biosynthesis of nitric oxide in plants // *Nitric Oxide in Plants: Metabolism and Role in Stress Physiology* / Eds. M.N. Khan et al. – Springer International Publishing Switzerland, 2014. – P. 17-32.
- Sagi M., Fluhr R. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 336-340.
- Sawada H., Shim I., Usui K. Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis – Modulation by salt stress in rice seedlings // *Plant Sci.* – 2006. – V. 171. – P. 263-270.
- Scandalios J.G. The rise of ROS // *Trends Biochem. Sci.* – 2002. – V. 27. – P. 483-486.
- Shao N., Krieger-Liszka A., Schroda M., Beck C.F. A Reporter system for the individual detection of hydrogen peroxide and singlet oxygen: its use for the assay of reactive oxygen species produced in vivo // *Plant J.* – 2007. – V. 50. – P. 475-487.
- Song L., Ding W., Zhao M., Sun B., Zhang L. Nitric oxide protects against oxidative stress under heat stress in the calluses from two ecotypes of reed // *Plant Sci.* – 2006. – V. 171. – P. 449-458.
- Song L., Zhao H., Hou M. Involvement of nitric oxide in acquired thermotolerance of rice seedlings // *Физиология растений*. – 2013. – Т. 60. – С. 828-833.
- Suzuki I., Kanasaki Y., Hayashi H., Hall J.J., Simon W.J., Slabas A.R., Murata N. The histidine kinase Hik34 is involved in thermotolerance by regulating the expression of heat shock genes in *Synechocystis* // *Plant Physiol.* – 2005. – V. 138. – P. 1409-1421.
- Suzuki I., Kanasaki Y., Mikami K., Kanehisa M., Murata N. Cold-regulated genes under control of the cold sensor Hik33 in *Synechocystis* // *Mol. Microbiol.* – 2001. – V. 40. – P. 235-244.
- Suzuki N., Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction // *Physiol. Plant.* – 2006. – V. 126. – P. 45-51.
- Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R., Miller G. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress // *Plant Cell Environ.* – 2012. – V. 35. – P. 259-270.
- 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.
- Tewari R.K., Hahn E.J., Paek K.Y. Function of nitric oxide and superoxide anion in the adventitious root development and antioxidant defence in *Panax ginseng* // *Plant Cell Rep.* – 2008. – V. 27. – P. 563-573.
- Thuiller W., Lavorel S., Araujo M.B. Sykes M.T., Prentice C.I. Climate change threats to plant diversity in Europe // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2005. – V. 102. – P. 8245-8250.
- Vranova E., Inze D., Breusegem F. Signal transduction during oxidative stress // *J. Exp. Bot.* – 2002. – V. 53. – P. 1227-1236.
- Wanner L.A., Junttila O. Cold-induced freezing tolerance in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 1999. – V. 120. – P. 391-399.
- Wasternack C. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development // *Ann. Bot.* – 2007. – V. 100. – P. 681-697.
- Wilson I.D., Neill S.J., Hancock J.T. Nitric oxide synthesis and signaling in plants // *Plant Cell Environ.* – 2008. – V. 31. P. 622-631.
- Wohlbach D.J., Quirino B.F., Sussman M.R. Analysis of the *Arabidopsis* histidine kinase atk1 reveals a connection between vegetative osmotic stress sensing and seed maturation // *Plant Cell*. – 2008. – V. 20. – P. 1101-1117.
- Xu M.J., Dong J.F., Zhang X.B. Signal interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide in heat shock-induced hypericin production of *Hypericum*

ІНДУКУВАННЯ ПРОТЕКТОРНИХ СИСТЕМ РОСЛИН

- perforatum* suspension cells // *Sci. China. Ser. C: Life Sci.* – 2008. – V. 51. – P. 676-686.
- Yun B.W., Feechan A., Yin M., Saidi N.B.B., Le Bihan T., Yu M., Moore J.W., Kang J.G., Kwon E., Kang J.-G., Spoel S.H., Pallas J.A., Loake G.J. S-nitrosylation of NADPH oxidase regulates cell death in plant immunity // *Nature.* – 2011. – V. 478. – P. 264-268.
- Zhang Z., Luo Y., Hou Y.X., Jiang H., Chen Q., Tang H.R. Chilling acclimation induced changes in the distribution of H₂O₂ and antioxidant system of strawberry leaves // *Agricult. J.* – 2008. – V. 3, № 4. – P. 286-291.

Надійшла до редакції
20.05.2016 р.

INDUCTION OF PROTECTIVE SYSTEMS OF PLANTS BY INFLUENCE OF STRESSORS, EXOGENOUS SIGNAL MEDIATORS AND PHYTOHORMONES

Yu. E. Kolupaev

*V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)
e-mail: yukolupaev@mail.ru*

The contemporary data on the mechanisms of induction of plant resistance to the extreme temperatures and others abiotic stressors by the moderate impact of these same stress factors, and influence of exogenous signal mediators and stress phytohormones (salicylic and jasmonic acids, brassinosteroids) are analyzed. The role of calcium ions, reactive oxygen species, nitric oxide as the signal mediators in the processes of temperature hardening of plants, and in the realization of physiological effects of stress phytohormones is discussed. The features of functioning of antioxidative and osmoprotective systems at the adaptation of plants to the influence of stress factors are analyzed. The considerable attention is given to the analysis of research results on the induction of plant protective systems, carried out in KNAU.

Key words: *resistance of plants, abiotic stressors, hardening, signal mediators, phytohormones, protective systems, antioxidants*

ИНДУЦИРОВАНИЕ ПРОТЕКТОРНЫХ СИСТЕМ РАСТЕНИЙ ДЕЙСТВИЕМ СТРЕССОРОВ, ЭКЗОГЕННЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПОСРЕДНИКОВ И ФИТОГОРМОНОВ

Ю. Е. Колупаев

*Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)
e-mail: yukolupaev@mail.ru*

Проанализированы современные сведения о механизмах индуцирования устойчивости растений к экстремальным температурам и другим абиотическим стрессорам умеренным действием самых стресс-факторов, влиянием экзогенных сигнальных посредников и стрессовых фитогормонов (салициловой и жасмоновой кислот, брассиностероидов). Обсуждается роль ионов кальция, активных форм кислорода, оксида азота как сигнальных посредников в процессах температурного закаливания растений и реализации физиологических эффектов стрессовых фитогормонов. Анализируются особенности функционирования антиоксидантной и осмопротекторной систем при адаптации растений к действию стресс-факторов. Значительное внимание уделено анализу результатов исследований индуцирования протекторных систем растений, проведенных в ХНАУ им. В.В. Докучаева.

Ключевые слова: *устойчивость растений, абиотические стрессоры, закаливание, сигнальные посредники, фитогормоны, протекторные системы, антиоксиданты*