

УДК 581.1

## ФИТОГОРМОНЫ И СИГНАЛЬНЫЕ ПОСРЕДНИКИ В РЕГУЛЯЦИИ УСТЬИЧНОГО АППАРАТА

© 2018 г. Ю. Е. Колупаев<sup>1,2</sup>, Т. О. Ястреб<sup>1</sup>, А. И. Кокорев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева

(Харьков, Украина)

<sup>2</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

(Харьков, Украина)

В обзоре акцентируется внимание на различных, в том числе минорных, путях регуляции состояния устьичного аппарата, а также на механизмах функционального взаимодействия многочисленных агентов, оказывающих влияние на апертуру устьиц. Рассмотрены механизмы регуляции устьичного аппарата растений при действии стрессовых фитогормонов (абсцизовой (АБК), жасмоновой и салициловой кислот, этилена) и сигнальных посредников – газотрансмиттеров (оксида азота (NO), сероводорода (H<sub>2</sub>S), монооксида углерода (CO)). Отмечается, что конечным результатом действия стрессовых гормонов является открытие анионных и K<sup>+</sup><sub>out</sub> каналов, что приводит к выходу ионов из замыкающих клеток и закрыванию устьиц. Посредниками в действии фитогормонов на состояние замыкающих клеток являются пероксид водорода, оксид азота, сероводород и ионы кальция. Обсуждается роль транскрипционного фактора MYC2/JIN1 в реализации устьичных эффектов АБК. Приводятся данные о влиянии различных экзогенных источников оксида азота на состояние устьиц. Отмечается, что эффекты NO на устьичный аппарат могут быть опосредованы цГМФ, цАДФ-рибозой и кальцием. Действие сероводорода на устьичную апертуру реализуется при участии оксида азота и других посредников. Закрывание устьиц может индуцировать и монооксид углерода при функциональном взаимодействии с активными формами кислорода. Обсуждается взаимное влияние сигнальных и гормональных посредников при контроле состояния устьиц.

**Ключевые слова:** устьица, абсцизовая кислота, жасмоновая кислота, салициловая кислота, этилен, оксид азота, сероводород, монооксид углерода

Как известно, устьица являются специализированными образованиями эпидермиса, состоящими из двух замыкающих клеток и межклетника (устьичной щели) между ними. Они выполняют функции газо- и водообмена, связывая внутренние ткани растений с окружающей средой. В наибольшей степени регуляция устьичного аппарата растений изучается в контексте их устойчивости к засухе. В то же время закрывание устьиц является реакцией растений не только на неблагоприятные факторы, обуславливающие недостаток воды (засуха, засоление), но и на многие другие (проникновение инфекций, действие токсических газов, ультрафиолета и пр.).

Размер устьичной щели регулируется тургором замыкающих клеток, которые благодаря асимметрическому утолщению клеточной стенки открывают устьичную щель в тургесцентном состоянии и закрывают ее при потере тургора (Roelfsema, Hedrich, 2005). Высокое осмотическое давление в замыкающих клетках поддерживается за счет образования малата при карбоксилировании фосфоенолпирувата и активного транспорта ионов калия и хлора (Чиркова, 2002). Закрывание устьиц обусловлено изменением активности ионных каналов и выходом ионов из замыкающих клеток, что может привести к избирательному уменьшению их объема на 40% уже за 10 мин (Roelfsema, Hedrich, 2005).

Одним из главных гормонов, влияющих на состояние устьичного аппарата, считается абсцизовая кислота (АБК), синтез и накопление

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

которой индуцируется осмотическим стрессом (Neill, Burnett, 1999). Однако АБК далеко не единственный регулятор состояния устьиц. Их закрытие может быть индуцировано другими стрессовыми гормонами: этиленом, жасмоновой (ЖАК) и салициловой (СК) кислотами (Suhita et al., 2004; Liu et al., 2012; Miura et al., 2013). Между АБК и этими фитогормонами может происходить сложное функциональное взаимодействие, приводящее как к усилению, так и ослаблению эффектов. В реализации влияния стрессовых гормонов на состояние устьиц задействованы сигнальные посредники: активные формы кислорода (АФК), ионы кальция, оксид азота (NO) (Kwak et al., 2006; Munemasa et al., 2011). В последние годы исследуется влияние сероводорода (H<sub>2</sub>S) и монооксида углерода (CO) на состояние устьиц. Изменение концентрации сигнальных посредников может быть самостоятельным механизмом регуляции состояния устьиц (Neill et al., 2008; Honda et al., 2015; Jin, Pei, 2015). С другой стороны, эти соединения и ионы могут не только участвовать в передаче гормональных сигналов, но и индуцировать синтез стрессовых фитогормонов, в т.ч. АБК. На сигналы гормонов и посредников могут накладываться метаболические сигналы (Кудоярова и др., 2013). В то же время, отдельные метаболиты могут быть источниками сигнальных молекул. Например, L-аргинин рассматривается как один из источников оксида азота (Глянько и др., 2012).

Основной целью настоящего обзора явилось акцентировать внимание на различных, в том числе минорных, путях регуляции состояния устьичного аппарата, а также на механизмах функционального взаимодействия многочисленных агентов, оказывающих влияние на апертуру устьиц.

### ***Регуляция состояния устьиц стрессовыми гормонами***

*Абсцизовая кислота* считается ключевым агентом процесса закрытия устьиц. Общие представления о действии АБК на состояние устьиц сформировались достаточно давно и описаны во многих обзорах и в учебной литературе (Чиркова, 2002; Kwak et al., 2006; Neill et al., 2008). Снижение тургорного давления в клетках при обезвоживании активирует синтез АБК, которая накапливается главным образом в хлоропластах клеток листа. АБК выходит из хлоропластов и по симпласту транспортируется в эпидермис.

АБК рассматривается как продукт специфической деградации каротиноидов

(Chernys, Zeevaart, 2000). Из зеаксантина в результате окислительных превращений образуется антраксантин, а затем транс-виолаксантин. Дальнейшие превращения включают 9-цис-изомеризацию каротиноидных предшественников (виолаксантина и неоксантина). В результате 9-цис-предшественник (C<sub>40</sub>) расщепляется на два неравных фрагмента: C<sub>15</sub> (ксантоксин) и C<sub>25</sub> (эпоксипоальдегид либо алленопоальдегид). Ключевой фермент этого превращения – 9-цис-эпоксикаротиноид-диоксигеназа. Этот фермент является индуктивным, от его активности зависит интенсивность образования АБК. Далее C<sub>25</sub>-фрагмент деградирует, а ксантоксин под действием алкогольдегидрогеназы/редуктазы SDR (SDR – Short-chain alcohol Dehydrogenase/Reductase) превращается в абсцизовый альдегид. Окисление абсцизового альдегида катализируется альдегидоксидазой.

Наиболее детально исследованы индуцирование накопления АБК и передача ее сигнала в ответ на водный дефицит (Колупаев, Карпец, 2010). Процесс включает в себя активацию первичных рецепторов, синтез АБК, взаимодействие синтезированной АБК со специфическим рецептором, синтез АБК-индуцируемых белков, а также устьичные реакции (Neill, Burnett, 1999; Desikan et al., 2004). Водный стресс влияет на мембраносвязанную фосфолипазу С (Hirayama et al., 1995). При гидролизе фосфатидил-инозитолспецифичной фосфолипазой С мембранных фосфолипидов образуется инозитол-1,4,5-трифосфат (ИФ<sub>3</sub>), который, как считается, вызывает открывание внутриклеточных кальциевых каналов. Следует отметить, что наличие гомологов мишеней ИФ<sub>3</sub> клеток животных – ИФ<sub>3</sub>-рецепторов – у растений до сих пор не подтверждено. Однако имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что мобилизация ионов Ca<sup>2+</sup> и их осцилляции играют важную роль в сигнальном пути, опосредованном фосфатидилинозитолспецифичной фосфолипазой С (Lescougieux et al., 2002). Получены сведения о роли фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата и ИФ<sub>3</sub> в регуляции устьичных движений, индуцируемых АБК (Lee et al., 2007).

Повышение концентрации цитозольного кальция, связанное с действием ИФ<sub>3</sub> на кальциевые каналы и (или) с другими механизмами, приводит к формированию сигнала, вызывающего активацию экспрессии генов ферментов синтеза АБК (в т.ч., 9-цис-эпоксикаротиноид-диоксигеназы) (Williams et al., 1994).

Образовавшаяся АБК связывается со специфическими рецепторами. Природа белковых рецепторов, участвующих в передаче сигнала АБК, до сих пор остается предметом дискуссии (Новикова и др., 2009). Наиболее вероятными претендентами на эту роль рассматриваются GPCR-подобные белки GTG1 и GNG2, выделенные из плазмалеммы клеток арабидопсиса (Pandey et al., 2009).

Эффекты АБК реализуются через ряд посредников. В частности, под влиянием АБК происходит увеличение содержания  $H_2O_2$ , которое является элементом реакций, необходимых для индуцирования закрывания устьиц. Накопление пероксида водорода обусловлено способностью АБК повышать активность НАДФН-оксидазы (Desikan et al., 2004; Kwak et al., 2006). Предполагается, что повышение активности НАДФН-оксидазы под действием АБК опосредовано изменением активности протеинкиназы OST1 (open stomata 1), активирующейся при осмотических стрессах. Повышение содержания АФК (пероксида водорода) приводит к открыванию кальциевых каналов (Cho et al., 2009). В связи с этим наряду с АФК антиоксиданты рассматриваются в качестве участников процесса регуляции состояния устьиц (Kwak et al., 2006).

По-видимому, АФК-зависимое открывание кальциевых каналов – не единственный механизм влияния АБК на содержание цитозольного кальция в замыкающих клетках. Как уже отмечалось выше, вполне вероятно, что АБК влияет и на  $IF_3$ -чувствительные кальциевые каналы. Показано, что ингибитор фосфатидилинозитол-специфичной фосфолипазы С неомицин препятствовал вызываемому АБК закрыванию устьиц у растений гороха (Яковенко и др., 2008).

С использованием протопластов, выделенных из замыкающих клеток устьиц, было показано, что АБК вызывает повышение концентрации цитозольного кальция, которое предшествует открыванию анионных каналов S-типа (так называемые «slow» – медленные каналы) (Kwak et al., 2006). Они обеспечивают деполяризацию мембран, необходимую для включения  $K^+_{out}$  каналов и выхода калия из замыкающих клеток.

В то же время при использовании эпидермиса *Nicotiana glauca* было показано, что обработка хелатором внеклеточного кальция ЭГТА и неспецифическим блокатором кальциевых каналов хлоридом лантана слабо влияла на процесс закрывания устьиц, вызываемый

АБК (Suhita et al., 2003). Постулируется существование как кальцийзависимого, так и независимого от кальция механизма регуляции АБК мембранного потенциала и состояния ионных каналов, обеспечивающих выход калия из замыкающих клеток (Israelsson et al., 2006). В настоящее время считается, что протеинкиназа OST1 (основной позитивный регулятор АБК-сигналинга) активирует анионный канал S-типа SLAC1 (slow anion channel-associated 1) и подавляет катионный канал KAT1 путем фосфорилирования. При этом полагают, что оба типа каналов регулируются как сигналингом АБК, так и  $Ca^{2+}$ .  $Ca^{2+}$ -зависимая регуляция, вероятно, обеспечивается другой SLAC1-стимулирующей протеинкиназой –  $Ca^{2+}$ -зависимой протеинкиназой СРК23, и включает в себя другие родственные киназы, такие как СРК3 и СРК6 (Raghavendra et al., 2010). Противоречия экспериментальных данных о вкладе кальция в регуляцию состояния замыкающих клеток могут быть связаны с различиями в регуляции ионных потоков в замыкающих клетках *in situ* и изолированных протопластах (Levchenko et al., 2008).

В реализации влияния АБК на состояние устьиц принимает участие и оксид азота (Desikan et al., 2004). Вероятно, что АБК-индуцированное увеличение содержания оксида азота в замыкающих клетках является следствием повышения в них количества пероксида водорода. Показано, что закрывание устьиц у бобов, вызываемое экзогенным пероксидом водорода, устранялось антагонистами оксида азота – ингибитором NO-синтазы  $N^G$ -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) и скавенджером NO 2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxide (PTIO) (He et al., 2005). Идентичные эффекты получены и в экспериментах с растениями арабидопсиса: устьичные реакции как АБК, так и пероксида водорода нивелировались антагонистами NO (Neill et al., 2008).

В то же время в работе Lozano-Juste, Leon (2010) были получены результаты, которые не согласуются с представлениями о важной роли NO в реализации устьичных эффектов АБК. Мутанты арабидопсиса, *nia1/nia2* и *nia1/nia2/nao1-2*, дефектные по синтезу оксида азота, оказались чувствительны к АБК. Более того, эффект закрывания устьиц под влиянием 50 мкМ АБК у них проявлялся даже сильнее, чем у растений дикого типа. У растений дикого типа вызываемое АБК ингибирование открывания устьиц предотвращалось обработкой проникающим в клетки хелатором кальция (1,2-бис

(2-аминофенокси) этан-N, N, N, N, N-тетрауксусной кислоты, тетраацетоксиметил эфиром) и скавенджером NO сРТЮ, однако у мутантов *nia1/nia2/nao1-2* эффекты указанных ингибиторов проявлялись слабо. Авторами было сделано заключение о существовании сигнальных путей АБК, не связанных с оксидом азота. Позднее были получены доказательства возможности отрицательной регуляции оксидом азота сигналинга АБК посредством S-нитрозилирования протеинкиназы OST1 (Wang et al., 2015), которая фосфорилирует медленные анионные каналы и способствует выходу ионов из замыкающих клеток.

Связи между NO и АБК сигналингом, по-видимому, весьма сложные. В частности, оксид азота может принимать участие в активации синтеза АБК. Так, вызываемое осмотическим стрессом накопление АБК подавлялось ингибиторами NO-синтазы и скавенджерами NO (Zhao et al., 2001; Xing et al., 2004). Кроме того, можно полагать, что характер участия оксида азота в реализации эффектов АБК (позитивный или негативный) зависит от концентрации NO, которой определяется характер модификации белков (Aroga et al., 2015). В работе Laxalt et al. (2016) предложена модель усиления и ослабления оксидом азота устьичного эффекта АБК, которая включает в себя сложное прямое и опосредованное (через кальциевый, липидный и АФК-сигналинг, а также процессы фосфорилирования/дефосфорилирования) влияние оксида азота на состояние ионных каналов замыкающих клеток.

Другим важным посредником в реализации устьичных эффектов АБК является сероводород. На клетках эпидермиса табака показано, что скавенджер сероводорода гипотаурин частично снимал закрывание устьиц, вызываемое экзогенной АБК (Papanatsiou et al., 2015). Похожие результаты получены и с использованием мутанта арабидопсиса, дефектного по синтезу сероводорода: у растений *des1* почти не наблюдался эффект закрывания устьиц, вызываемый экзогенной АБК (Pandey et al., 2014; Scuffi et al., 2014). В то же время донор сероводорода H<sub>2</sub>S вызывал закрывание устьиц у мутанта, нечувствительного к АБК (*abi1*) и мутанта, дефектного по синтезу АБК (*aba3*) (Jin et al., 2013).

Обязательными звеньями в реализации влияния АБК на экспрессию генов, обеспечивающих защитные реакции при обезвоживании, является изменение активности протеинкиназ (в том числе митогенактивируемых – MAP-

киназы) и протеинфосфатаз. Как уже отмечалось, ключевой протеинкиназой, вовлеченной в сигналинг АБК, у арабидопсиса является протеинкиназа OST1. Она относится к семейству протеинкиназ, способных фосфорилировать остатки серина и треонина в C-субдоменах, содержащихся в молекулах транскрипционных факторов b-ZIP (b-ZIP – *basic-leucine zipper*), что необходимо для их связывания с промоторм-мишенью (Новикова и др., 2009). С помощью такого механизма происходит индуцирование экспрессии АБК-зависимых генов, в частности тех, которые задействованы в регуляции движений устьиц.

Если протеинкиназы рассматриваются в качестве положительных регуляторов действия АБК, то протеинфосфатазы считаются отрицательными регуляторами действия этого фитогормона (Новикова и др., 2009). Показано, что у арабидопсиса одна из протеинфосфатаз серин-треонинового типа PP2A отрицательно регулирует передачу сигнала АБК. После обработки растений АБК активность этого фермента быстро (уже через 10 мин) снижалась, увеличение же продолжительности экспонирования с гормоном приводило к повышению содержания мРНК PP2A и активности фермента (Pernas et al., 2007). Активация экспрессии гена PP2A действием АБК может быть механизмом возвращения клеток к исходному состоянию и восстановления их чувствительности к данному фитогормону.

В реализации влияния АБК на устьичный аппарат задействован белок-транскрипционный фактор MYC2/JIN1 (Ton et al., 2009), который является одним из главных положительных регуляторов жасмонатиндуцибельной экспрессии генов у *Arabidopsis thaliana* (Dombrecht et al., 2007; Santino et al., 2013). Установлено, что АБК, как и жасмоновая кислота, усиливала экспрессию гена *AtMYC2/JIN1* (Lorenzo et al., 2004). Показано отсутствие влияния АБК на состояние устьиц у мутантов *jin1* (Ястреб и др., 2017б). В то же время у мутантов *jar1* и *coil* под влиянием АБК уменьшалась как средняя величина устьичной апертуры, так и относительное количество открытых устьиц (Ястреб и др., 2017а). В работе Suhita et al. (2004) отмечается, что у других жасмонатнечувствительных мутантов *jar1* эффект АБК проявлялся менее заметно, чем у растений дикого типа. В наших экспериментах абсолютные величины устьичной щели у мутантов *jar1* после обработки АБК приблизительно соответствовали таковым у растений Col-0, однако изменения апертуры по

отношению к исходной величине были менее существенными, чем у растений дикого типа (Ястреб и др., 2017а). У мутантов *coi1* после обработки АБК устьичная апертура имела значения, не отличающиеся от таковых у растений Col-0, обработанных фитогормоном. Существенное уменьшение устьичной апертуры после обработки 10 мкМ АБК у растений арабидопсиса *coi1* было показано ранее в работе Melotto et al. (2006). Также имеются сведения о частичном подавлении коронатином (антагонистом чувствительности растений к жасмонату) закрывания устьиц, индуцируемого АБК (Toim et al., 2016).

По-видимому, влияние АБК на состояние устьиц частично зависит от различных составляющих жасмонатного сигналинга. Однако реализация влияния АБК на устьичный аппарат зависит в первую очередь от функционирования транскрипционного фактора JIN1/MYC2 (как отмечалось, не проявляется у мутантов *jin1*). Влияние других белковых компонентов жасмонатного сигналинга на этот процесс незначительное и, вероятно, косвенное (Ястреб и др., 2017а).

*Жасмоновая кислота* (ЖАК), как и АБК, относится к стрессовым фитогормонам и способна влиять на состояние устьиц.

Первые реакции синтеза ЖАК происходят в мембранах хлоропластов. В ответ на действие внутренних или внешних сигналов фосфолипазы отщепляют линоленовую (C<sub>18:3</sub>) или гексадекатриеновую (C<sub>16:3</sub>) кислоты от липидной основы (Huyn, Lee, 2008). Основным считается синтез ЖАК из C<sub>18:3</sub> предшественника по октадекатриеновому пути (Santino et al., 2013), который начинается с окисления α-линоленовой кислоты до 13-гидропероксилиноленовой (13-гидропероксиоктадекатриеновой) с помощью 13-липоксигеназы (Sembdner, Parthier, 1993; Agrawal et al., 2004). 13-гидропероксилиноленовая кислота дегидрируется алленоксидсинтазой, относящейся к суперсемейству цитохрома P450 (Laudert, Weiler, 1998), образуя нестабильную 12,13-эпоксиоктадекатриеновую кислоту. Она циклизуется алленоксидциклазой с образованием 12-оксофитодиеновой кислоты (12-ОФДК) – первого пентациклического производного октадекатриенового пути. Это соединение покидает хлоропласты и следующие этапы синтеза ЖАК происходят в пероксисомах, где 12-ОФДК превращается 12-ОФДК-редуктазой в 12-оксофитоеновую ((3-оксо-2'-(2Z)-пентенил)-циклопентан-1-октановую) кис-

лоту (Колупаев и др., 2016). Синтез ЖАК происходит в результате трех реакций β-окисления 12-оксофитоеновой кислоты, которые катализируются тремя различными ферментами: ацил-КоА-оксидазой, так называемым мультифункциональным белком и 3-кетоацил-КоА-тиолазой (Santino et al., 2013). Синтезированная в пероксисомах ЖАК с помощью неизвестного пока механизма высвобождается в цитоплазму (Santino et al., 2013). Основными органами, в которых синтезируется ЖАК, считаются листья.

Физиологическая активность ЖАК проявляется после ее преобразования в изолейцинжасмонат. В связи с этим белок JAR1, проявляющий активность аминокислотсинтетазы, которая конъюгирует аминокислоты с ЖАК, считается одним из первых участников в цепи трансдукции сигнала ЖАК в генетический аппарат (Staswick, Tiryaki, 2004). В то же время рецептором жасмоната, специфично связывающим именно изолейцинжасмонат, считается белок COI1, являющийся частью комплекса SCF/COI1, сопряженного с убиквитиновыми ферментами (Lackman et al., 2011). Взаимодействие с ним изолейцинжасмоната приводит к его активации и взаимодействию с репрессорами ЖАК-сигнала JAZ- (Jasmonate-Zim-Domain) белками, которые направляются в 26S протеасомы для деградации (Santino et al., 2013). Таким образом, открывается сигнальный путь ЖАК к специфическим транскрипционным факторам MYC2, MYC3 и MYC4 (Lackman et al., 2011). Считается, что MYC2 является одним из главных положительных регуляторов жасмонатиндуцибельной экспрессии генов у *Arabidopsis thaliana*. В активации экспрессии этих генов задействованы MAP-киназы, в частности, МРК6 (Takahashi et al., 2007). Как уже отмечалось, транскрипционный фактор MYC2 участвует в передаче сигнала не только ЖАК, но и АБК, в т.ч. при индуцировании ею закрывания устьиц.

Синтез ЖАК у растений индуцируется действием стрессоров. Наиболее изученным эффектом является индукция синтеза ЖАК под действием раневого стресса (Wasternack, Hause, 2013). В то же время достаточно давно было установлено увеличение содержания эндогенной ЖАК в растениях ячменя при абиотическом – осмотическом – стрессе (Kramell et al., 1995). У риса и арабидопсиса выявлено увеличение количества ЖАК в ответ на действие холода, также установлена холодоиндуцируемая экспрессия генов, причастных к синтезу ЖАК –

липоксигеназы, алленоксидсинтазы и алленоксидциклазы (Du et al., 2013; Hu et al., 2013). Усиление экспрессии генов этих ферментов у арабидопсиса показано и под влиянием солевого стресса (Hsu, Kao, 2011).

ЖАК способна индуцировать многие физиологические реакции, важные для устойчивости растений к стрессорам. Так, установлено, что ЖАК и ее метаболитические предшественники инициировали образование стрессовых белков, в т.ч. дегидринов (Shen et al., 2004).

Экзогенная ЖАК уменьшала проявления окислительного дисбаланса в органах растений при действии абиотических стрессоров различной природы, что обусловлено повышением активности антиоксидантных ферментов и содержания низкомолекулярных антиоксидантов, в т.ч. флавоноидов и пролина (Колупаев и др., 2016; Ястреб и др., 2016).

Одной из функций ЖАК, важных для устойчивости растений к стресс-факторам, нарушающим водный режим, является регуляция состояния устьиц. Такие эффекты проявляет не только ЖАК, но и другие продукты липоксигеназного каскада (Munemasa et al., 2011; Montillet et al., 2013). Показано, что ЖАК может влиять на состояние устьиц зависимым и независимым от АБК способами (de Ollas, Dodd, 2016). В первом случае АБК выступает в роли посредника в реализации эффекта ЖАК. Установлено, что под контролем жасмоната, как и под контролем АБК, находится активация медленных анионных каналов S-типа, обеспечивающая выход ионов из замыкающих клеток и уменьшение их тургора (Munemasa et al., 2011).

Считается, что индуцированное ЖАК закрытие устьиц имеет большее значение при биотических стрессах, а АБК контролирует устьичную реакцию при водном дефиците (Montillet et al., 2013). В то же время показано, что озон-индуцируемое закрытие устьиц сопровождалось увеличением как эндогенной АБК, так и жасмоната (Brosché et al., 2010).

В целом экспериментальные данные об устьичных реакциях, индуцируемых ЖАК и метилжасмонатом, многочисленны, но весьма противоречивы. Например, в работе Melotto et al. (2008) показано, что эти соединения вызывали закрытие устьиц только в достаточно высокой концентрации (выше 20 мкМ). При обработке эпидермиса ЖАК и метилжасмонатом в меньших концентрациях такой эффект не проявлялся, более того, отмечалось ингибирование закрытия устьиц, вызываемого АБК.

Исследованиями Savchenko et al. (2014) установлено, что один из предшественников ЖАК, 12-оксофитодиеновая кислота (12-ОФДК), была намного более эффективной при индуцировании закрытия устьиц у арабидопсиса по сравнению с метилжасмонатом. При этом 12-ОФДК слабо влияла на апертуру устьиц у мутантов *aba2-1*, а добавление экзогенной АБК усиливало эффект замыкания устьиц у этих мутантов, вызываемый 12-ОФДК.

Как уже отмечалось, в рецепции и трансдукции сигналов ЖАК ключевую роль играют гены *JAR1*, *COI1* и *MYC2*. Их значение в гормональной регуляции устьичного аппарата изучено недостаточно. Показано, что у мутантной линии арабидопсиса *jar1-1* устьица были нечувствительны к обработке метилжасмонатом, но замыкались под влиянием АБК, хотя и в меньшей степени, чем у растений дикого типа (Suhita et al., 2004). У мутантов *coil* не происходило существенных изменений состояния устьиц при обработке метилжасмонатом (Melotto et al., 2008).

В наших исследованиях, выполненных на листьях растений арабидопсиса разных генотипов, показано, что под действием метилжасмоната в концентрациях 50-200 мкМ величина устьичной апертуры у растений дикого типа (*Col-0*) существенно уменьшалась, в то же время процент частично открытых устьиц под влиянием низких концентраций метилжасмоната (10 и 50 мкМ) несколько увеличивался, а при обработке 200 мкМ метилжасмонатом уменьшался. У мутантов *jin1* и *jar1* при обработке метилжасмонатом в различных концентрациях показатели, характеризующие устьичную активность, практически не изменялись, в то же время у генотипа *coil* отмечалась тенденция к некоторому уменьшению величины устьичной апертуры (Ястреб и др., 2017а).

Влияние жасмоната на состояние устьичного аппарата реализуется с участием основных клеточных посредников: ионов кальция, АФК и оксида азота (Munemasa et al., 2011).

В частности, достаточно давно установлено участие различных пулов кальция в проявлении эффекта закрытия устьиц у растений арабидопсиса при действии метилжасмоната (Suhita et al., 2003). Блокаторы кальциевых каналов рутениевый красный и хлорид лантана полностью снимали вызываемое обработкой фитогормоном закрытие устьиц. Также этот эффект метилжасмоната полностью устранялся при обработке эпидермиса антагонистом кальциемодулина трифторперазином. В то же время

обработка хелатором внеклеточного кальция ЭГТА лишь частично нивелировала эффект закрывания устьиц, вызываемый метилжасмонатом. С другой стороны, при действии на устьица ингибитора фосфолипазы C U73122 существенных изменений в проявлении эффекта метилжасмоната не наблюдалось. Авторы предполагают, что вклад изменений кальциевого гомеостаза, контролируемых фосфолипазой C, в процессы регуляции устьиц метилжасмонатом незначителен (Suhita et al., 2003).

Помимо кальция в ЖАК-индуцированном закрывании устьиц задействованы АФК и оксид азота. Показаны эффекты повышения содержания NO и АФК в замыкающих клетках у растений *Arabidopsis thaliana* и *Vicia faba* при обработке ЖАК или метилжасмонатом (Liu et al., 2005; Munemasa et al., 2007). Установлено, что ферментативным источником АФК при индуцировании устьичных реакций жасмонатом является НАДФН-оксидаза, но не пероксидаза (Munemasa et al., 2011).

Ряд экспериментальных данных свидетельствует о роли оксида азота в проявлении устьичных эффектов жасмоната. В работе Liu et al. (2005), выполненной на клетках эпидермиса листьев бобов, показано, что закрывание устьиц, вызываемое ЖАК, устранялось ингибитором NO-синтазы животных (L-NAME). В наших исследованиях установлено, что индуцированное метилжасмонатом уменьшение размера устьичной щели и количества открытых устьиц у растений арабидопсиса практически полностью устранялось предварительной обработкой клеток эпидермиса скавенджером оксида азота РТЮ и частично ингибиторами NO-синтазы животных (L-NAME) и нитратредуктазы (вольфраматом натрия) (Ястреб и др., в печати). Таким образом, полученные результаты показывают значение образования NO двумя основными путями в реализации эффектов метилжасмоната на состояние устьиц. В то же время на эпидермисе *Vicia faba* показано, что ингибирование нитратредуктазы не снимало эффект закрывания устьиц, вызываемый жасмоновой кислотой (Liu et al., 2005). Возможно, что вклад различных путей синтеза NO в замыкающих клетках может изменяться в зависимости от вида и возраста растений, а также экспериментальных условий.

*Салициловая кислота* (СК) в настоящее время рассматривается как эндогенный полифункциональный биорегулятор фенольной природы, принимающий участие в клеточном сигналинге, ростовых процессах и формирова-

нии адаптивных реакций растений (Колупаев, Ястреб, 2013). Детально исследовано участие салицилата в реакциях растений на инфицирование патогенами. СК является одной из ключевых молекул, задействованных в формировании системной приобретенной устойчивости (СПУ) (Mauch-Mani, Metraux, 1998; Васюкова, Озерецковская, 2007).

Синтез СК у растений происходит в результате превращений шикимовой кислоты, по меньшей мере, двумя путями. Основным считается фенилпропаноидный, связанный с превращением фенилаланина в транс-коричную кислоту с участием фенилаланинаммонийлиазы (Mauch-Mani, Slusarenko, 1996; Васюкова, Озерецковская, 2007; Chen et al., 2009; Vogt, 2010). Транс-коричная кислота превращается в бензойную, из которой под действием бензоат-2-гидроксилазы образуется СК. В хлоропластах установлено наличие альтернативного пути биосинтеза СК (Васюкова, Озерецковская, 2007). При этом исходным соединением для образования СК выступает не фенилаланин, а другое производное шикимовой кислоты – хоризмовая кислота. Последняя под действием изохоризматсинтазы превращается в изохоризмовую кислоту, из которой с участием изохоризматпируватлиазы и образуется СК.

В целом участие СК в реализации реакций растений на действие абиотических стрессоров изучено значительно слабее по сравнению с реакциями на инфицирование (Hayat et al., 2010; Nara et al., 2012). Получены сведения о повышении эндогенного содержания СК при действии гипертермии на растения горчицы (Dat et al., 1998), культуру клеток арабидопсиса (Kaplan et al., 2004), растения винограда (Wang, Li, 2006). Повышение содержания эндогенной СК в ответ на водный стресс, вызываемый полиэтиленгликолем, показано на растениях соевых бобов (Namyun et al., 2010). В многочисленных работах показано положительное влияние экзогенной СК на устойчивость растений как к биотическим, так и к абиотическим стрессорам (Колупаев, Ястреб, 2013). При этом вполне вероятно, что одной из составляющих положительного влияния СК на устойчивость к патогенным инвазиям и стрессам, связанным с обезвоживанием, может быть ее влияние на устьичный аппарат.

В исследованиях, проведенных два десятилетия тому назад, сообщается, что СК вызывает закрывание устьиц (Mori et al., 2001). В работе Lee (1998) показано, что экзогенная СК вызвала замыкание устьиц, при котором отме-

чалось повышение содержания пероксида водорода в клетках *Commelina communis*. Предполагается также участие супероксидного радикала и ионов кальция в индуцированном экзогенной салициловой кислотой закрытии устьиц у *Vicia faba* (Mori et al., 2001). Есть основания полагать, что  $H_2O_2$  может оказывать влияние на состояние устьиц путем ингибирования поступления катионов калия через плазмалемму вовнутрь замыкающих клеток. В работе Khokon et al. (2011) исследована роль АФК и цитозольных ионов кальция в индуцированном СК закрытии устьиц у арабидопсиса. Этот эффект устранялся предварительной обработкой эпидермиса каталазой и СОД, что указывало на участие АФК в этом процессе. Ингибитор пероксидазы (салицилгидроксамовая кислота) полностью снимал эффект салицилат-индуцированного закрытия устьиц, в то время как ингибитор НАДФН-оксидазы дифенилениодоний такого влияния не оказывал. У мутантов по генам НАДФН-оксидазы *atrbohD* и *atrbohF* влияние салициловой кислоты на состояние устьиц проявлялось так же, как и у растений дикого типа. Образование пероксида водорода в замыкающих клетках индуцировало последующее накопление в них оксида азота. Ингибитор пероксидазы салицилгидроксамовая кислота снимал этот эффект. Также влияние салициловой кислоты на апертуру устьиц полностью нивелировалось хелатором внеклеточного кальция ЭГТА (Khokon et al., 2011).

Оксид азота, наряду с пероксидом водорода и кальцием, может быть задействован в вызываемом салициловой кислотой закрытии устьиц. Известно, что NO, как и СК, быстро накапливается в растениях при инфицировании или обработке элиситорами, активируя защитные гены, а в некоторых случаях вызывая реакцию сверхчувствительности (Durner et al., 1998; Deloone et al., 2001). Участие NO в салицилат-индуцированном закрытии устьиц у *Vicia faba* показано ингибиторным методом. Позднее прямыми методами было показано, что салициловая кислота вызывала повышение содержания NO в замыкающих клетках арабидопсиса (Hao et al., 2010). Этот эффект полностью устранялся сквенджером оксида азота РТЮ и частично ингибиторами NO-синтазы животных (L-NAME) и нитратредуктазы (вольфраматом). При этом указанные ингибиторы практически полностью нивелировали вызываемое салицилатом закрытие устьиц. Участие оксида азота, образующегося восстановительным путем, в индуцировании закрытия устьиц под-

тверждено и с использованием мутантов по нитратредуктазе. У растений арабидопсиса *nial* и *nial2* замыкание устьиц под влиянием салициловой кислоты проявлялось слабее, чем у дикого типа, а у двойных мутантов *nial1/nial2* не проявлялось вообще (Hao et al., 2010). Также ингибиторным методом установлено участие протеинкиназ, цГМФ и цАДФ-рибозы в вызываемом салицилатом накоплении NO и закрытии устьиц у растений *Arabidopsis thaliana*.

Предполагается, что ключевым эффектом салициловой кислоты на состояние устьиц является выход ионов калия из замыкающих клеток. Как и в случае с АБК и ЖАК, по-видимому, он является следствием деполяризации мембран, обусловленной активацией медленных анионных каналов SLAC1 (Montillet et al., 2013).

**Этилен.** Различные стрессовые воздействия активируют образование этилена в растительных тканях (Morgan, Drew, 1997). Считается, что этилен ингибирует рост побегов в ответ на различные типы стресса и сигналы развития (Abeles et al., 1992). Этилен синтезируется в ответ на действие различных стрессоров: механических повреждений, корневой гипоксии, засухи, засоления, тяжелых металлов, экстремальных температур, патогенных грибов и бактерий. Он свободно диффундирует по клеткам и быстро улетучивается. До 90% синтезированного гормона покидает растение в течение 1 мин (Чиркова, 2002). Тем не менее, он успевает связаться с локализованным в плазмалемме рецептором ETR1. Система трансдукции сигнала включает ГТФ-связывающие белки, протеинкиназы и кальций. Кроме того, для вызываемого этиленом закрытия устьиц необходимо стимулирование генерации пероксида водорода с участием *RbohF* (Desikan et al., 2006).

Несмотря на доминирование представлений о ростингибирующем действии этилена, сведения о его влиянии на рост растений противоречивы (Achard et al., 2003). Обнаружена его способность не только угнетать, но и стимулировать рост растений в зависимости от концентрации, вида растений и условий выращивания (Шарипова и др., 2012). Предполагается, что неоднозначность эффектов этилена на растения обусловлена его сложным взаимодействием с другими фитогормонами (Vandenbussche, van der Straeten, 2007).

Неоднозначным является и действие этилена на состояние устьиц. Сам по себе этот фитогормон вызывает закрытие устьиц, но при



совместном действии с АБК может, наоборот, способствовать поддержанию устьиц в открытом состоянии (Wilkinson, Davies, 2009). Показано, что этилен не оказывал антагонистического действия на устьичный ответ на обработку АБК у этилен-нечувствительных мутантов арабидопсиса *etr1-1* или *Ein3-1* (Tanaka et al., 2005).

С другой стороны, предполагают, что рецептор этилена ETR1 выполняет две роли – основную (восприятие этилена) и дополнительную – участие в передаче сигнала пероксида водорода как участника сигнального каскада АБК (Wang, Song, 2008). Эти различные функции, вероятно, выполняют разные домены ETR1. При этом связывание этилена с ETR1 ингибирует альтернативную функцию этого белка, связанную с участием в трансдукции сигнала АБК.

Также вполне вероятным представляется функциональное взаимодействие этилена с ЖАК при регуляции состояния устьиц, поскольку сигнальные пути этих фитогормонов пересекаются. Так, имеются данные об участии транскрипционных факторов семейства ERF в передаче сигналов не только этилена, но и ЖАК (Kazan, Manners, 2008). В целом же влияние этилена на состояние устьиц и его взаимодействие с другими стрессовыми гормонами при регуляции устьичного аппарата изучено недостаточно.

#### ***Роль газотрансмиттеров в регуляции устьичного аппарата***

**Оксид азота.** Монооксид азота (NO) – липофильная молекула, способная легко диффундировать через мембраны – является главным представителем активных форм азота. Функции оксида азота у растений активно изучаются с конца XX столетия (Delledonne et al., 1998; Durner et al., 1998).

Пути образования оксида азота у растений до сих пор остаются предметом дискуссии (Mur et al., 2013). Основными считаются L-аргинин- и нитрат/нитрит-зависимые пути (Глянько и др., 2012; Mur et al., 2013). Предполагается, что аргинин-зависимый синтез NO аналогичен происходящему в клетках животных. Однако к настоящему времени гомологи NO-синтазы животных выявлены только у зеленых водорослей, но не у высших растений (Roszer, 2014). В то же время есть основания полагать, что у высших растений имеются белки, которые в кооперации могут генерировать NO, используя в качестве субстрата L-аргинин. Эта реакция, как и катализируемая NO-

синтазой животных, происходит при наличии НАДФН, ФМН, ФАД, кальмодулина и ионов кальция (Corpas, Barros, 2017).

В пользу существования у растений аргинин-зависимого образования NO свидетельствуют многочисленные данные об угнетении его синтеза и многих NO-зависимых процессов действием на растения ингибиторами NO-синтазы (Crawford, 2005). В то же время получены экспериментальные данные о значительном (возможно, доминирующем) вкладе в синтез оксида азота пути восстановления нитратов с участием нитратредуктазы (Shi, Li, 2008; Mur et al., 2013).

Установлено, что, как важная внутри- и межклеточная сигнальная молекула, оксид азота участвует в регуляции клеточного цикла растительной клетки, процессах прорастания семян, деэтиоляции, ризогенеза (Correa-Aragunde et al., 2004; Wilson et al., 2008), взаимодействия растений с симбионтами (Глянько, Васильева, 2010; Del Giudice et al., 2011) и патогенами (Мамаева и др., 2015). Оксид азота задействован в трансдукции сигналов, стимулирующих синтез фитогормонов, в частности, этилена (Wilson et al., 2008), АБК (Xing et al., 2004) и ауксина (Tewari et al., 2008). В последнее время оксиду азота отводится особая роль в процессах адаптации растений к действию абиотических стрессоров самой различной природы, в т.ч. гипо- и гипертермии, избыточного освещения, ультрафиолета, засоления, тяжелых металлов (Zhang et al., 2006; Xu et al., 2010; Красиленко и др., 2010; Карпец и др., 2015).

Оксид азота играет важную роль в регуляции состояния устьиц. Его участие в трансдукции сигналов фитогормонов, задействованных в устьичных реакциях, описано выше. В то же время менее изученным остается влияние непосредственных доноров NO на устьичный аппарат. Способность оксида азота непосредственно вызывать закрывание устьиц была показана в начале нынешнего столетия (Desikan et al., 2002). Эффекты закрывания устьиц наблюдались при обработке эпидермиса листьев арабидопсиса донорами оксида азота нитропруссидом натрия (НПН) и нитритом натрия (Desikan et al., 2002; Neill et al., 2002). Нами показана способность экзогенного L-аргинина вызывать закрывание устьиц у арабидопсиса. Этот эффект аминокислоты подавлялся ингибитором NO-синтазы животных L-NAME, что указывает на действие L-аргинина именно как источника оксида азота (Ястреб и др., в печати).

Механизмы действия оксида азота на состояние устьиц понятны далеко не полностью. Их рассматривают в контексте представлений о сигналинге NO в растительных клетках вообще, который также до сих пор является предметом дискуссии. Предполагается, что в растительных клетках, как и в клетках животных, в качестве одного из сигнальных посредников между оксидом азота и геномом выступает цГМФ (Wilson et al., 2008). Он образуется из ГТФ с помощью растворимой цитоплазматической гетеродимерной гуанилатциклазы. Попытки выявления этого фермента у высших растений молекулярно-генетическими методами пока успехом не увенчались (Baudouin 2011). Хотя во многих исследованиях, в частности, выполненных с использованием ингибиторного анализа, показана связь между оксидом азота и цГМФ как компонентами сигнальной трансдукции у растений (Бакакина и др., 2011; Baudouin, 2011). Однако механизмы этой связи остаются пока неизвестными.

Накопление цГМФ вызывает увеличение в клетках еще одного сигнального посредника – цАДФ-рибозы, действие которой связано со стимулированием внутриклеточных кальциевых каналов, локализованных преимущественно в тонопласте, и усилением поступления кальция в цитозоль, что приводит к активации кальцийзависимых протеинкиназ (Neill et al., 2008). Показано, что доноры оксида азота способствуют увеличению содержания цитозольного кальция в растительных клетках (Lamotte et al., 2004). Предполагается, что в таком эффекте могут быть задействованы разные пулы кальция и различные типы кальциевых каналов, поскольку кальциевые «пики» в той или иной степени подавлялись обработкой растительных клеток хелатором внешнего кальция ЭГТА, блокаторами кальциевых каналов, чувствительных к ИФ<sub>3</sub>, и кальциевых каналов, регулируемых цАДФ-рибозой (Lamotte et al., 2006).

Предполагается, что изменения концентрации кальция и обратимое фосфорилирование белков являются двумя процессами, центральными для сигналинга в замыкающих клетках устьиц (Neill et al., 2008). При этом одной из основных мишеней этих процессов могут быть анионные каналы SLAC. В связи с этим можно полагать, что одним из наиболее вероятных механизмов участия NO в устьичной регуляции является его непосредственное влияние на эти процессы. Известно, что АБК и NO активируют митогенактивируемые протеинкиназы (MAP-киназы) (Desikan et al., 2004; Zhang

et al., 2007). Активация MAP-киназ рассматривается как результат сигнального взаимодействия пероксида водорода и оксида азота, необходимого для АБК-индуцированного закрывания устьиц (Desikan et al., 2004).

В работе Sokolovski et al. (2005) показана необходимость процессов фосфорилирования белков для изменения потока кальция для NO-индуцированного закрывания устьиц. Опосредованное NO повышение концентрации Ca<sup>2+</sup> в цитозоле замыкающих клеток обратимо ингибировалось антагонистами протеинкиназ стауспорином и K252A. Антагонисты протеинкиназ вызывали потерю NO-чувствительности калиевых и хлорных каналов. Эти результаты свидетельствуют о том, что NO-зависимые сигналы могут модулироваться посредством фосфорилирования белков перед высвобождением Ca<sup>2+</sup> из внутриклеточных компартментов. При этом процесс фосфорилирования контролируется АБК (Sokolovski et al., 2005). В согласии с моделью, предполагающей совместное влияние АБК и оксида азота на процессы обратимого фосфорилирования белков и изменения кальциевого гомеостаза, необходимые для изменения состояния устьиц, находятся и данные Desikan et al. (2002), показавших, что донор оксида азота НРН не вызывал закрывание устьиц у АБК-нечувствительных мутантов *abi-1* и *abi-2-1*. Также, как уже отмечалось, оксид азота обладает способностью индуцировать синтез АБК (Zhao et al., 2001; Xing et al., 2004). В связи с этим можно предполагать наличие механизмов самоусиления эффектов NO и АБК при регуляции устьичного аппарата.

В качестве другой группы механизмов реализации эффектов оксида азота рассматривается его прямое взаимодействие с белками. Пероксинитрит, образующийся в реакции NO с супероксидом, может окислять цистеиновые, метиониновые или триптофановые остатки, а также взаимодействовать с тирозином с образованием нитротирозина. Эти посттрансляционные модификации могут играть роль во внутриклеточной передаче сигналов и последующих физиологических эффектах (Neill et al., 2008).

Предполагается, что особое значение в регуляторной модификации белков имеет S-нитрозилирование, которое представляет собой обратимое связывание NO с атомом серы, приводящее к образованию S-нитрозотиола (–SNO). Этот процесс неферментативный, степень S-нитрозилирования зависит от реакционной способности нитрозилирующего агента и

окислительно-восстановительного потенциала микроокружения (Agoa et al., 2015). Это очень избирательная, как правило, ограниченная конкретными остатками цистеина, посттрансляционная модификация белков. Считается, что она является одним из механизмов быстрого восприятия клеточных сигналов и адаптации к изменениям сигналов окружающей среды (Agoa, Bhatla, 2015).

Идентифицировано большое количество потенциально S-нитрозилированных белков, среди них немало индуцируемых стрессом белков, белков редокс-сигналинга, протеинов цитоскелета (Lindermayr et al., 2005). Получены данные, указывающие на регуляцию оксидом азота калиевых каналов, обеспечивающих выведение калия из замыкающих клеток устьиц бобов путем S-нитрозилирования целевых белков (Sokolovski, Blatt, 2004). Как упоминалось, мишенью действия оксида азота считаются медленные анионные каналы (Laxalt et al., 2016).

Таким образом, влияние оксида азота на состояние ионных каналов замыкающих клеток устьиц может включать в себя фосфорилирование/дефосфорилирование целевых белков, изменение кальциевого гомеостаза, а также процесс S-нитрозилирования отдельных белков. При этом, по крайней мере, часть эффектов NO, по-видимому, реализуется во взаимодействии с АБК. Иными словами, с одной стороны, NO является посредником в реализации эффектов АБК, а с другой – АБК может участвовать в реализации эффектов NO (Neill et al., 2008).

*Сероводород* в настоящее время рассматривается как важная молекула, задействованная в реализации многих адаптивных реакций растений. Несмотря на то, что нет однозначного мнения о том, можно ли считать его самостоятельным сигнальным соединением, роль  $H_2S$  в адаптации растений к неблагоприятным воздействиям сомнений не вызывает. Показаны эффекты повышения содержания эндогенного сероводорода у растений при действии стресс-факторов различной природы: обезвоживания (Jin et al., 2011), солевого стресса (Lai et al., 2014), солей тяжелых металлов (Fang et al., 2014; Shi et al., 2014) и пр.

Еще более многочисленны данные о влиянии экзогенного сероводорода на устойчивость растений к стрессорам и функционирование их протекторных систем. Зарегистрировано повышение под влиянием сероводорода резистентности растений к высоким температурам (Li, Zhu, 2014; Li et al., 2014a; 2014 b; Yang et al., 2015; Kolupaev et al., 2017), обезвоживанию

(Zhang et al., 2009; Чжан и др., 2010), засолению (Wang et al., 2012; Lai et al., 2015), действию тяжелых металлов (Shi et al., 2013), УФ-В (Li et al., 2016). К настоящему времени на растениях различных таксономических групп установлено индуцирование действием сероводорода антиоксидантных ферментов (Yang et al., 2015; Shan et al., 2018), накопления низкомолекулярных антиоксидантов (Lisjak et al., 2013), осмопротекторов (Li et al., 2014a; Tain et al., 2016) и стрессовых белков (Christou et al., 2014; Ding et al., 2018).

Ныне выяснены пути синтеза сероводорода у растений. Ключевым ферментом синтеза  $H_2S$  у растений считается L-цистеиндесульфгидраза (КФ 4.4.1.1), под влиянием которой он образуется из L-цистеина (Wang, 2012; Li, 2013). Также считается возможным образование сероводорода из D-цистеина при действии соответственно D-цистеиндесульфгидразы (КФ 4.4.1.15). Кроме того, сероводород может образовываться из сульфита при действии сульфитредуктазы (КФ 1.8.7.1) (Li, 2013). Показана причастность ферментов синтеза сероводорода L/D-цистеиндесульфгидраз к индуцируемому действием стрессоров повышению эндогенного содержания сероводорода и закрыванию устьиц. Так, при действии осмотического стресса, индуцируемого действием ПЭГ, у растений арабидопсиса дикого типа устьичная апертура уменьшалась, в то время как у мутантов *des* она почти не изменялась, что указывает на роль синтеза стресс-индуцированного сероводорода в регуляции состояния устьиц (Jin et al., 2017).

В целом же изучение влияния сероводорода на состояние устьиц началось сравнительно недавно. В работах Lisjak et al. (2010; 2011) было показано увеличение устьичной апертуры у растений арабидопсиса и перца после 2,5-часовой обработки эпидермиса 100 и 200 мкМ NaHS на свету. Такая обработка предотвращала и закрывание устьиц в темноте. Показано увеличение относительного количества открытых устьиц у растений риса, многократно обработанных в стадии четырех листьев 100 мкМ раствором гидросульфида натрия. С этим эффектом авторы связывают улучшение показателей функционирования фотосинтетического аппарата (Duan et al., 2015). У растений *Spinacia oleracea* под влиянием экзогенного сероводорода зафиксировано повышение устьичной проводимости и транспирации (Chen et al., 2011).

В то же время во многих других работах показано закрывание устьиц под влиянием доноров сероводорода. Так, воздействие 100 мкМ гидросульфидом натрия в течение 90 мин вызывало закрывание устьиц у растений арабидопсиса, открытых после 3 ч световой обработки (Scuffi et al., 2018). У растений сладкого картофеля обработка 100 мкМ NaHS вызывала увеличение процента закрытых устьиц (Hu et al., 2014).

Расхождения в эффектах действия доноров сероводорода могут быть обусловлены различным действием экзогенного сероводорода в зависимости от времени обработки эпидермиса. Так, у бобов наиболее выраженный эффект закрывания устьиц под влиянием 0,1-1 мМ NaHS проявлялся через 1,5 ч, а через 3 ч этот эффект существенно уменьшался (Hou et al., 2011). Обработка листьев арабидопсиса донором сероводорода CYY4137 в концентрации 10 мкМ вызывала закрывание устьиц через 90 мин, после чего этот эффект уменьшался (Honda et al., 2015). При обработке указанным донором сероводорода в концентрации 100 мкМ через 90 мин также отмечалось существенное уменьшение апертуры, через 120 мин, наоборот, ее величина заметно превышала контроль, однако через 180 мин снова проявлялся эффект уменьшения размера устьичной щели. Авторы полагают, что повышение содержания сероводорода в замыкающих клетках вызывает временное закрывание устьиц.

Установлено, что сероводород влияет на устьичную апертуру, изменяя состояние ионных каналов. Так, в работе Paraniatsiou et al. (2015) сообщается об открывании калиевых каналов ( $K^+_{out}$ ) замыкающих клеток устьиц табака под влиянием донора сероводорода CYY4137. Калиевые каналы у растений арабидопсиса открывались и при обработке NaHS, в этом процессе как посредники задействованы внеклеточный АТФ и АФК, генерируемые с участием НАДФН-оксидазы Wang et al. (2015). Исследованиями Jin et al. (2017), выполненными на растениях *Arabidopsis thaliana*, показано, что экзогенный сероводород индуцировал трансмембранный отток ионов  $K^+$  и  $Cl^-$ . Прямые доказательства кальцийзависимой активации сероводородом анионных каналов S-типа (SLAC1) с участием протеинкиназы OST1 приводятся в работе Wang et al. (2015). Как уже отмечалось, выход анионов через эти каналы приводит к деполяризации мембраны и, как следствие, к открыванию каналов  $K^+_{out}$  и потере тургора замыкающих клеток. Таким образом, сероводо-

род и АБК имеют одинаковые мишени для реализации влияния на устьичную апертуру – медленные анионные каналы SLAC1. Показано, что у мутантов *slac1-2* устьичный эффект  $H_2S$  проявлялся слабо (Honda et al., 2015).

Возможно, что посредником в реализации влияния сероводорода на анионные каналы SLAC1 является оксид азота. Так, на растениях *Ipomoea batatas* показано снятие индуцируемого обработкой NaHS закрывания устьиц действием скавенджера оксида азота сРТЮ (Hu et al., 2014). У растений арабидопсиса вызываемый донором сероводорода CYY4137 эффект закрывания устьиц нивелировался как обработкой ингибитором NO-синтазы животных (L-NAME), так и ингибитором нитратредуктазы вольфраматом натрия (Honda et al., 2015). Можно полагать, что оксид азота находится ниже сероводорода в цепи сигнальной трансдукции. С этим предположением согласуются данные об отсутствии влияния гидросульфида натрия на устьица мутантов арабидопсиса, дефектных по активности двух форм нитратредуктазы (*nia1/nia2*) (Scuffi et al., 2014) – основного фермента, генерирующего NO в растительных клетках (Mur et al., 2013). При этом обработка донором оксида азота НРН вызывала закрывание устьиц у растений *nia1/nia2*, также экзогенный NO индуцировал закрывание устьиц у растений *des1-1* и *des1-2*, дефектных по синтезу сероводорода (Scuffi et al., 2014).

К настоящему времени исследованы и механизмы влияния оксида азота, накопление которого в замыкающих клетках устьиц индуцируется сероводородом, на содержание других внутриклеточных посредников, задействованных в закрывании устьиц. В частности, масс-спектрометрическим методом показано, что GYY4137 индуцирует синтез 8-нитро-цГМФ и 8-меркапто-цГМФ и что этот синтез опосредуется NO. Кроме того, обработка листьев 8-нитро-цГМФ и 8-меркапто-цГМФ сама по себе вызывала закрывание устьиц (Honda et al., 2015). Предполагается, что белок медленного анионного канала SLAC1 является мишенью действия 8-нитро-цГМФ. Таким образом, сероводород может запускать сложный сигнальный каскад, опосредованный NO, и приводящий к закрыванию устьиц.

Однако другой исследовательской группой показано, что  $H_2S$  может и уменьшать накопление NO в замыкающих клетках *A. thaliana* и *Capsicum annuum* и в итоге увеличивать устьичную апертуру (Lisjak et al., 2010; 2011). Наконец, в работе Liu et al. (2012), выпо-

ленной на эпидермисе листьев бобов, показано, что ингибитор нитратредуктазы вольфрамат и ингибитор NO-синтазы L-NAME не влияли на эффекты закрывания устьиц, вызываемые обработкой NaHS. Как уже отмечалось, в длительных экспериментах выявлена своеобразная синусоида изменения устьичной апертуры под влиянием доноров сероводорода (Honda et al., 2015). Возможно, что в ее основе лежит сложное функциональное взаимодействие многих сигнальных посредников. В целом же констатируют, что причины разных результатов наблюдения влияния сероводорода на устьичный аппарат пока не ясны и требуют дальнейшего изучения (Jin, Pei, 2015). Так, недостаточно исследовано участие кальция в индуцируемых сероводородом изменениях устьичной апертуры. В работе Honda et al. (2015) показано, что обработка листьев арабидопсиса проникаемым для клеток хелатором кальция снимала вызываемое сероводородом закрывание устьиц. Также эффект снимался антагонистами цАДФ-рибозы (Honda et al., 2015), открывающей внутриклеточные кальциевые каналы (Neill et al., 2008). В то же время вопрос об участии внеклеточного кальция в индуцированном сероводородом закрывании устьиц остается пока открытым.

Помимо оксида азота и ионов кальция в реализации влияния сероводорода на устьичный аппарат растений, по-видимому, задействован пероксид водорода. Показано, что для проявления индуцированного сероводородом эффекта закрывания устьиц у растений арабидопсиса необходима активность двух молекулярных форм НАДФН-оксидазы (Scuffi et al., 2018): у мутантов арабидопсиса *rbohD* и *rbohE* закрывания устьиц в ответ на обработку 100 мкМ NaHS не происходило. Также действие донора сероводорода на устьичную апертуру подавлялось ингибитором НАДФН-оксидазы дифенилениодониумом. При этом экзогенный пероксид водорода вызывал эффект закрывания устьиц у мутантов по синтезу сероводорода *des1*, что свидетельствует об участии  $H_2O_2$  в трансдукции сигнала сероводорода, а не наоборот (Scuffi et al., 2018).

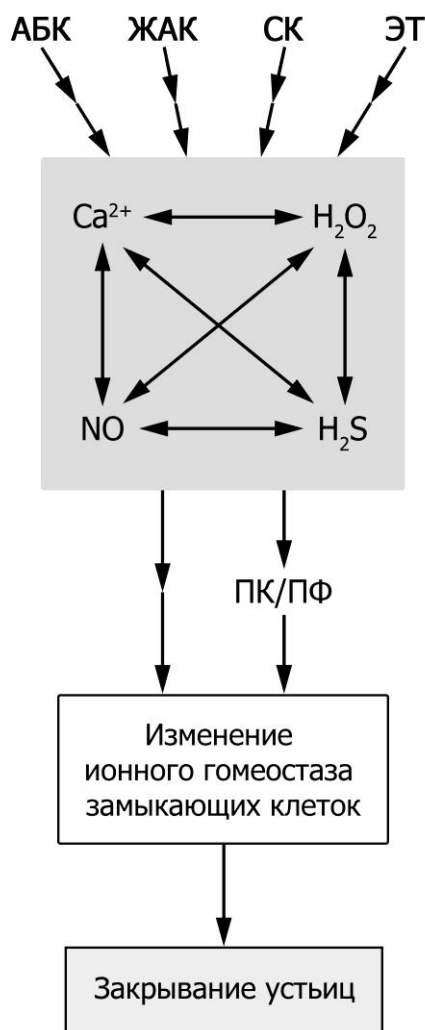
Можно предположить, что в активации сероводородом НАДФН-оксидазы как фермент-посредник задействована фосфолипаза D, катализирующая образование фосфатидной кислоты, которая имеет сайт связывания с субъединицей НАДФН-оксидазы (Marino et al., 2012). Так, у мутантов арабидопсиса по формам фосфолипазы D *pld1* и *pld2* не происходило за-

крывания устьиц при обработке NaHS (Scuffi et al., 2018). Однако, пониженный уровень  $H_2S$ -зависимого образования пероксида водорода в замыкающих клетках наблюдался только у мутанта *pld1*. При этом основной вклад в индуцированное сероводородом образование фосфатидной кислоты вносила PLD $\delta$ , а не PLD $\alpha$ 1. Авторы связывают этот феномен с различиями в локализации молекулярных форм фосфолипазы D. На основании этих результатов высказано предположение о наличии «раздвоенного» пути передачи сигнала сероводорода, который включает в себя независимое участие НАДФН-оксидазы и фосфолипазы D в регуляции состояния устьиц (Scuffi et al., 2018).

При закрывании устьиц также возможно функциональное взаимодействие между сероводородом и фитогормонами, в первую очередь – АБК. Участие сероводорода в трансдукции сигнала АБК рассмотрено выше. Однако получены данные о влиянии сероводорода на экспрессию генов рецепторов АБК (Jin, Pei, 2015). Таким образом, отчасти действие сероводорода может быть опосредовано АБК. При этом, однако, эффекты самого  $H_2S$  могут реализовываться и независимо от АБК (Wang et al., 2015).

*Монооксид углерода.* Способность растений синтезировать монооксид углерода (CO) впервые была показана еще в работе Wilks (1959). В настоящее время установлено, что основным ферментативным источником эндогенного CO у растений является гемоксигеназа (КФ 1.14.99.3). Этот фермент присутствует как у растений, так и у животных (Wagener et al., 2003; Shekhawat, Verma, 2010). В присутствии восстанавливающих агентов гемоксигеназа катализирует стереоспецифическое расщепление гема с высвобождением CO и железа (Gisk et al., 2010). При этом в качестве донора электронов используется НАДФН. Показано индуцирование экспрессии основной формы фермента гемоксигеназы I другими сигнальными посредниками (NO, пероксидом водорода) и фитогормонами (АБК, ауксином) (Jin et al., 2016).

Механизмы участия CO в клеточном сигналинге у растений остаются малоизученными. Его важной особенностью является способность взаимодействовать с переходными металлами, в связи с чем рассматривается возможность модификации ферментов, содержащих в активных центрах железо, медь, марганец (Jin et al., 2016). Сигналинг монооксида углерода тесно связан с сигналингом NO. Так, например, показано, что индукция гемоксигеназы I у растений сои в ответ на облучение УФ-



### Механизмы индуцирования закрывания устьиц стрессовыми фитогормонами.

АБК – абсцизовая кислота; ЖАК – жасмоновая кислота; СК – салициловая кислота, ЭТ – этилен; ПК – протеинкиназы; ПФ – протеинфосфатазы. Пояснения в тексте.

В зависела от образования оксида азота ферментом, подобным NO-синтазе (Santa-Cruz et al., 2010). Также предполагается возможность сложной (позитивной и негативной) регуляции монооксидом углерода образования АФК НАДФН-оксидазой (Jin et al., 2016). Наконец, имеются немногочисленные данные о влиянии СО на функционирование ионных, в частности калиевых, каналов у растений (Wu et al., 2011).

В феноменологических исследованиях показано, что гемоксигеназа и оксид углерода задействованы в адаптации растений к стрессорам различной природы: обезвоживанию (Liu et al., 2010), засолению (Liu et al., 2007; Ling et al., 2009), гипотермии (Bai et al., 2012; Zhang et al., 2015), УФ-излучению (Xie et al., 2012), действию тяжелых металлов (Meng et al., 2011; Cui

et al., 2012), параквату и другим агентам окислительного стресса (Xu et al., 2012; Jin et al., 2013).

Одним из защитных эффектов, индуцируемых СО, является активация антиоксидантных ферментов и накопления в растениях низкомолекулярных антиоксидантов (Bai et al., 2012; Jin et al., 2016). Более специфическими эффектами монооксида углерода являются уменьшение генерации NO и поддержание гомеостаза железа (Han et al., 2014).

В физиологических экспериментах используют фумигацию растений монооксидом углерода, а также обработку его донорами гематином и геминем (Jin et al., 2016). Показано, что гематин индуцировал закрывание устьиц у бобов (*Vicia faba*) (She, Song, 2008). При этом посредниками в реализации эффекта СО, вероятно, были АФК, генерируемые НАДФН-оксидазой. На это указывает частичное нивелирование закрывания устьиц предобработкой ингибиторами НАДФН-оксидазы и аскорбиновой кислотой. В целом влияние монооксида углерода на состояние устьиц изучено значительно слабее по сравнению с подобными эффектами других газотрансмиттеров – оксида азота и сероводорода.

### Заключение

В регуляции состояния устьиц задействовано большое количество гормональных и сигнальных агентов. При этом изменение содержания сигнальных посредников в замыкающих клетках, так же как и изменение содержания соответствующих фитогормонов, может быть индуктором устьичных реакций.

В целом, несмотря на разнообразие агентов, влияющих на состояние устьиц и сложное их взаимодействие, можно построить упрощенную схему индуцирования закрывания устьиц (рисунок). Стрессовые фитогормоны (АБК, ЖАК, СК, этилен) после взаимодействия с рецепторами различными и во многом неизвестными путями индуцируют выход кальция в цитозоль, повышение содержания в клетках пероксида водорода и газотрансмиттеров (оксида азота и сероводорода). Эти сигнальные посредники находятся в сложном функциональном взаимодействии друг с другом. По-видимому, повышение их содержания может быть самостоятельным сигналом для изменения состояния устьиц. С другой стороны, указанные сигнальные посредники не только ретранслируют сигнал фитогормонов, но и могут индуцировать изменения содержания гормональных соединений, регулирующих устьичные реакции. В ко-

нечном результате сигнальные посредники опосредованно (чаще путем модификации активности протеинкиназ и протеинфосфатаз) влияют на ионный гомеостаз. При этом фактически универсальной мишенью действия большинства известных регуляторов состояния устьиц являются медленные анионные каналы SLAC1. Их активация вызывает деполяризацию мембран и, как следствие, выход калия из замыкающих клеток через каналы  $K^+$ <sub>out</sub>, что и приводит к закрыванию устьиц.

Кроме общих сигнальных посредников, задействованных в передаче сигналов различных фитогормонов, по-видимому, существуют и общие белковые посредники, причастные к передаче сигналов не одного, а двух, а возможно и более гормонов. Так, ЖАК и АБК, по-видимому, имеют общий белковый посредник, участвующий в индуцировании устьичной реакции – транскрипционный фактор MYC2/JIN1. В связи с этим у мутантов арабидопсиса *jin1* практически не происходит закрывание устьиц в ответ на действие не только метилжасмоната, но и АБК. Общие белковые посредники имеются и в системах трансдукции сигналов ЖАК и этилена.

В заключение следует отметить, что гормоны и сигнальные посредники оказывают влияние как непосредственно на состояние замыкающих клеток устьиц, так и на другие физиологические процессы, что также может отражаться на состоянии устьиц. Например, показано, что АБК увеличивает активность аквапоринов и гидравлическую проводимость в тканях корней и побегов кукурузы, что улучшает водный баланс. Таким опосредованным образом АБК может способствовать поддержанию открытого состояния устьиц и росту листьев у устойчивых к засухе видов (Tardieu et al., 2010). Эти вопросы выходят за рамки основной темы обзора, но являются весьма актуальными для специального рассмотрения.

## ЛИТЕРАТУРА

- Бакакина Ю.С., Колеснева Е.В., Дубовская Л.В., Волоотовский И.Д. 2011. Участие оксида азота и циклического гуанозинмонофосфата в регуляции концентрации ионов  $Ca^{2+}$  в цитозоле клеток *Arabidopsis thaliana* при температурном стрессе. Весті Нац. акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. 1 : 50-56. (Bakakina Y.S., Kolesneva E.V., Dubovskaya L.V., Volotovskii I.D. 2011. Nitric oxide and cyclic guanosine 3',5'-monophosphate mediate temperature stresses-induced  $Ca^{2+}$ -responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. Vestsi Nats. Akademii Navuk Belarusi. Ser. Biyal. Navuk. 1 : 50-56.)
- Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. 2007. Индуцированная устойчивость растений и салициловая кислота (обзор). Прикл. биохимия и микробиология. 43 (4) : 405-411. (Vasyukova N.I., Ozeretskovskaya O.L. 2007. Induced plant resistance and salicylic acid: A review. Appl. Biochem. Microbiol. (Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya). 43 (4) : 367-373.)
- Глянко А.К., Васильева Г.Г. 2010. Активные формы кислорода и азота при бобоворизобальном симбиозе (Обзор). Прикл. биохимия и микробиология. 46 (1) : 21-28. (Glyan'ko A.K., Vasil'eva G.G. 2010. Reactive oxygen and nitrogen species in legume-rhizobial symbiosis: A review. Appl. Biochem. Microbiol. (Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya). 46 (1) : 15-22.)
- Глянко А.К., Митанова Н.Б., Степанов А.В. 2012. Влияние факторов среды на генерацию оксида азота (NO) в корнях этиолированных проростков гороха. Прикл. биохимия и микробиология. 48 (1) : 95-102. (Glyan'ko A.K., Mitanova N.B., Stepanov A.V. 2012. Influence of environmental factors on the generation of nitric oxide in the roots of etiolated pea seedlings. Appl. Biochem. Microbiol. (Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya). 48 (1) : 83-89.)
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А. 2015. Функциональное взаимодействие оксида азота и пероксида водорода при формировании индуцированной теплоустойчивости проростков пшеницы. Физиология растений. 62 (1) : 72-78. (Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Vayner A.A. 2015. Functional interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide during formation of wheat seedling induced heat resistance. Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 62 (1) : 65-70.)
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. 2010. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. Киев : 350 с. (Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V. 2010. Formirovanie adaptivnykh reaksij rastenij na dejstvie abioticheskikh stressorov. Kiev : 350 p.)
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Луговая А.А. 2016. Роль жасмонатов в адаптации растений к действию абиотических стрессоров. Физиология растений и генетика. 48 (2) : 105-121. (Kolupaev Yu.E., Yastreb T.O., Lugova G.A. 2016. Role of jasmonates in plant adaptation to abiotic stressors. Fiziologiya rastenii i genetika. 48 (2) : 105-121.)
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. 2013. Стресс-протекторные эффекты салициловой кислоты и ее структурных аналогов. Физиология растений и генетика. 45 (2). 113-126. (Kolupaev Yu.Ye., Yastreb T.O. 2013. Stress-protective effects of salicylic acid and its structural analogues. Fiziologiya rastenii i genetika. 45 (2) : 113-126.)
- Красиленко Ю.А., Емец А.И., Блюм Я.Б. 2010. Функциональная роль оксида азота у растений. Физиология растений. 57 (4) : 483-494. (Krasylenko

- ko Y.A., Yemets A.I., Blume Y.B. 2010. Functional role of nitric oxide in plants. *Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii)*. 57 (4) : 451-461.)
- Кудоярова Г.Р., Холодова В.П., Веселов Д.С. 2013. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды. *Физиология растений*. 60 (2) : 155-165. (Kudoyarova G.R., Kholodova V.P., Veselov D.S. 2013. Current state of the problem of water relations in plants under water deficit. *Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii)*. 60 (2) : 165-175.)
- Мамаева А.С., Фоменков А.А., Носов А.В., Мошков И.Е., Мур Л.А.Дж., Холл М.А., Новикова Г.В. 2015. Регуляторная роль оксида азота у растений. *Физиология растений*. 62 (4) : 459-474. (Mamaeva A.S., Fomenkov A.A., Nosov A.V., Moshkov I.E., Novikova G.V., Mur L.A.J., Hall M.A. 2015. Regulatory role of nitric oxide in plants. *Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii)*. 62 (4) : 427-440.)
- Новикова Г.В., Степанченко Н.С., Носов А.В., Мошков И.Е. 2009. В начале пути: восприятие АБК и передача ее сигнала у растений. *Физиология растений*. 56 (6) : 806-823. (Novikova G.V., Stepanchenko N.S., Nosov A.V., Moshkov I.E. 2009. At the beginning of the route: ABA perception and signal transduction in plants. *Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii)*. 56 (6) : 727-741.)
- Савченко Т.В., Застрижная О.М., Климов В.В. 2014. Оксипирины и устойчивость растений к абиотическим стрессам. *Биохимия*. 79 (4) : 458-475. (Savchenko T.V., Zastrijnaja O.M., Klimov V.V. 2014. Oxylipins and plant abiotic stress resistance. *Biochemistry (Mosk.) (Biokhimiya)*. 79 (4) : 362-375.)
- Чжан Ш., Ван М.И., Ху Л.Я., Ван С.Ш., Ху К.Д., Бао Л.И., Ло И.П. 2010. Сероводород стимулирует прорастание семян пшеницы при осмотическом стрессе. *Физиология растений*. 57 (4) : 571-579. (Zhang H., Wang M.J., Hu L.Y., Wang S.H., Hu K.D., Bao L.J., Luo J.P. 2010. Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination under osmotic stress. *Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii)*. 57 (4) : 532-539.)
- Чиркова Т.В. 2002. Физиологические основы устойчивости растений. Санкт-Петербург : 244 с. (Chirkova T.V. 2002. *Fiziologicheskie osnovy ustoichivosti rastenii*. Sanct-Peterburg : 244 p.)
- Шарипова Г.В., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р., Тимергалин М.Д., Wilkinson S. 2012. Влияние ингибитора рецепции этилена на рост, водный обмен и содержание абсцизовой кислоты у растений пшеницы при дефиците воды. *Физиология растений*. 59 (4) : 619-626. (Sharipova G.V., Veselov D.S., Kudoyarova G.R., Timergalin M.D., Wilkinson S. 2012. Effect of ethylene perception inhibitor on growth, water relations, and abscisic acid content in wheat plants under water deficit. *Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii)*. 59 (4) : 573-580.)
- Яковенко О.Н., Кретинин С.В., Кабачевская Е.М., Ляхнович Г.В., Волотовский Д.И., Кравец В.С. 2008. Роль фосфолипазы С в регуляции устьичного аппарата абсцизовой кислотой. *Укр. ботан. журн.* 65 (4) : 604-613. (Iakovenko O.M., Kretynin S.V., Kabachevskaya E.M., Lyakhnovich G.V., Volotovskii D.I., Kravets V.S. 2008. Role of phospholipase C in ABA regulation of stomata function. *Ukr. Botan. J.* 65 (4) : 605-613.)
- Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е., Луговая А.А., Дмитриев А.П. 2016. Содержание осмолитов и флавоноидов у растений *Arabidopsis thaliana*, дефектных по жасмонатному сигналингу, при солевом стрессе. *Прикл. биохимия и микробиология*. 52 (2) : 223-229. (Yastreb T.O., Kolupaev Yu.E., Lugovaya A.A., Dmitriev A.P. 2016. Content of osmolytes and flavonoids under salt stress in *Arabidopsis thaliana* plants defective in jasmonate signaling. *Appl. Biochem. Microbiol. (Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya)*. 52 (2) : 210-215.)
- Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Дмитриев А.П. 2017а. Реакция устьичного аппарата растений арабидопсиса, дефектных по жасмонатному сигналингу, на действие абсцизовой кислоты и метилжасмоната. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*. 3 (42) : 72-80. (Yastreb T.O., Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Dmitriev O.P. 2017. Response of stomatal apparatus of arabidopsis plants defective in jasmonate signaling to abscisic acid and methyl jasmonate action. *Bull. Kharkiv. Natl. Agrar. Univ. Ser. Biology. (Visn. Kharkiv. Natsional. Agrar. Univer. Ser. Biologiya)*. 3 (42) : 72-80.)
- Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е., Луговая А.А., Дмитриев А.П. 2017б. Формирование адаптивных реакций *Arabidopsis thaliana* дикого типа и мутантов *jin1* при действии абсцизовой кислоты и солевого стресса. *Цитология и генетика*. 51 (5) : 3-11. (Yastreb T.O., Kolupaev Yu.E., Lugovaya A.A., Dmitriev A.P. 2017. Formation of adaptive reactions in *Arabidopsis thaliana* wild-type and mutant *jin1* plants under action of abscisic acid and salt stress. *Cytol. Genet. (Tsitologiya i Genetika)*. 51 (5) : 325-330.)
- Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е., Кокорев А.И., Горелова Е.И., Дмитриев А.П. (в печати). Метилжасмонат и оксид азота в регуляции устьичного аппарата *Arabidopsis thaliana*. *Цитология и генетика*. (в печати). (Yastreb T.O., Kolupaev Yu.E., Kokorev A.I., Gorelova E.I., Dmitriev A.P. (in press). Methyl jasmonate and nitric oxide in regulation of stomatal apparatus of *Arabidopsis thaliana*. *Cytol. Genet. (Tsitologiya i Genetika)*. (in press).)
- Abeles F.B., Morgan P.W., Saltveit M.E. 1992. *Ethylene in Plant Biology*. Academic Press, San Diego, CA, USA.



- Achard P., Vriezen, W., van der Straeten D., Harberd N. 2003. Ethylene regulates arabidopsis development via the modulation of DELLA protein growth repressor function. *Plant Cell*. 15 : 2816-2825.
- Agrawal G.K., Tamogami S., Han O., Iwahashi H, Rakwal R. 2004. Rice octadecanoid pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 317 : 1-15.
- Arora D., Bhatla S.C. 2015. Nitric oxide triggers a concentration-dependent differential modulation of superoxide dismutase (FeSOD and Cu/ZnSOD) activity in sunflower seedling roots and cotyledons as an early and long. *Plant Signal Behav.* 10 : e1071753. Doi: 10.1080/15592324.2015.1071753
- Arora D., Jain P., Singh N., Kaur H., Bhatla S.C. 2016. Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants. *Free Radical Res.* 50 : 291-303.
- Bai X.G., Chen J.H., Kong X.X., Todd C.D., Yang Y.P., Hu X.Y., Li D.Z. 2012. Carbon monoxide enhances the chilling tolerance of recalcitrant *Baccaurea ramiiflora* seeds via nitric oxidemediated glutathione homeostasis. *Free Radical Biol. Med.* 53 : 710-720.
- Baudouin E. 2011. The language of nitric oxide signaling. *Plant Biol.* 13 : 233-242.
- Brosché M., Merilo E., Mayer F., Pechter P., Puzõrjova I., Brader G., Kangasjärvi J., Kollist H. 2010. Natural variation in ozone sensitivity among *Arabidopsis thaliana* accessions and its relation to stomatal conductance. *Plant Cell Environ.* 33 : 914-925.
- Chen Z., Zheng Z., Huang J. Lai Z., Fan B. 2009. Biosynthesis of salicylic acid in plants. *Plant Signal. Behav.* 4 : 493-496.
- Chen J., Wu F.H., Wang W.H., Zheng C.J., Lin G.H., Dong X.J., He J.X., Pei Z.M., Zheng H.L. 2011. Hydrogen sulphide enhances photosynthesis through promoting chloroplast biogenesis, photosynthetic enzyme expression, and thiolredox modification in *Spinaciaoleracea* seedlings. *J. Exp. Bot.* 62 : 4481-4493.
- Chemys J.T., Zeevaart J.A.D. 2000. Characterization of the 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene family and the regulation of abscisic acid biosynthesis in avocado. *Plant Physiol.* 124 : 343-354.
- Cho D., Shin D., Jeon B.W., Kwak J.M. 2009. ROS-mediated ABA signaling. *J. Plant Biol.* 52 : 102-113.
- Christou A., Filippou P., Manganaris G., Fotopoulos V. 2014. Sodium hydrosulfide induces systemic thermotolerance to strawberry plants through transcriptional regulation of heat shock proteins and aquaporin. *BMC Plant Biol.* 14 : 42. Doi:10.1186/1471-2229-14-42
- Corpas F.J., Barroso J.B. 2017. Nitric oxide synthase-like activity in higher plants *Nitric Oxide.* 68 : 5-6.
- Correa-Aragunde N., Graziano M., Lamattina L. 2004. Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato. *Planta.* 218 : 900-917.
- Crawford N.M. 2005. Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants. *J. Exp. Bot.* 57 : 471-478.
- Cui W., Fu G., Wu H., Shen W. 2011. Cadmium-induced heme oxygenase-1 gene expression is associated with the depletion of glutathione in the roots of *Medicago sativa*. *Biometals.* 24.: 93-103.
- Dat J.F., Lopez-Delgado H.L., Foyer C.H., Scott I.M. 1998. Parallel changes in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiol.* 116 : 1351-1357.
- de Ollas C., Dodd I.C. 2016. Physiological impacts of ABA-JA interactions under water-limitation. *Plant Mol. Biol.* 91 : 641-650.
- del Giudice J., Cam Y., Damiani I., Fung-Chat F., Meilhoc E., Bruand C., Brouquisse R., Puppo A., Boscari A. 2011. Nitric oxide is required for an optimal establishment of the *Medicago truncatula* – *Sinorhizobium meliloti* symbiosis. *New Phytol.* 191 : 405-417.
- Delledonne M., Xia Y., Dixon R.A.L. 1998. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature.* 394 : 585-588.
- Delledonne M., Zeier J., Marocco A., Lamb C. 2001. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98. : 13454-13459.
- Desikan R., Griffiths R., Hancock J., Neill S. 2002. A new role for an old enzyme: nitrate reductase-mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99 : 16314-16318.
- Desikan R., Cheung M.K., Bright J., Henson D., Hancock J.T., Neill S.J. 2004. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. *J. Exp. Bot.* 55 : 205-212.
- Desikan R., Last K., Harrett-Williams R., Tagliavia C., Harter K., Hooley R., Hancock J.T., Neill S.J. 2006. Ethylene-induced stomatal closure in *Arabidopsis* occurs via *AtrbohF*-mediated hydrogen peroxide synthesis. *Plant J.* 47 : 907-916.
- Ding H., Han Q., Ma D., Hou J., Huang X., Wang C., Xie Y., Kang G., Guo T. 2018. Characterizing physiological and proteomic analysis of the action of H<sub>2</sub>S to mitigate drought stress in young seedling of wheat. *Plant Mol. Biol. Rep.* 36 : 45. Doi:org/10.1007/s11105-017-1055-x
- Dombrecht B., Xue G.P., Sprague S.J., Kirkegaard J.A., Ross J.J., Reid J.B., Fitt G.P., Sewelam N., Schenk P.M., Manners J.M., Kazan K. 2007. MYC2 differentially modulates diverse jasmonate-dependent functions in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 19 : 2225-2245.

- Du H., Liu H., Xiong L. 2013. Endogenous auxin and jasmonic acid levels are differentially modulated by abiotic stresses in rice. *Front. Plant Sci.* 4 : 397.
- Duan B., Ma Y., Jiang M., Yang F., Ni L., Lu W. 2015. Improvement of photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) as a result of an increase in stomatal aperture and density by exogenous hydrogen sulfide treatment. *Plant Growth Regul.* 75 : 33-44.
- Durner J., Wendehenne D., Klessig D.F. 1998. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP and cyclic ADP-ribose. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95 : 10328-10333.
- Fang H.H., Pei Y.X., Tian B.H., Zhang L.P., Qiao Z.J., Liu Z.Q. 2014. Ca<sup>2+</sup> participates in H<sub>2</sub>S induced Cr<sup>6+</sup> tolerance in *Setaria italica*. *Chin. J. Cell Biol.* 36 : 758-765.
- Gisk B., Yasui Y., Kohchi T., Frankenberg-Dinkel N. 2010. Characterization of the haem oxygenase protein family in *Arabidopsis thaliana* reveals a diversity of functions. *Biochem. J.* 425 : 425-434.
- Hamayun M., Khan S.A., Shinwari Z.K., Lee I.J., Khan S.A., Shinwari Z.K. 2010. Effect of polyethylene glycol induced drought stress on physio-hormonal attributes of soybean. *Pak. J. Bot.* 42 : 977-986.
- Han B., Yang Z., Xie Y., Nie L., Cui J., Shen W. 2014. *Arabidopsis* HY1 confers cadmium tolerance by decreasing nitric oxide production and improving iron homeostasis. *Mol. Plant.* 7 : 388-403.
- Hao F., Zhao S., Dong H., Zhang H., Sun L., Miao C. 2010. *Nia1* and *Nia2* are involved in exogenous salicylic acid-induced nitric oxide generation and stomatal closure in *Arabidopsis*. *J. Integr. Plant Biol.* 52 : 298-307.
- Hara M., Furukawa J., Sato A., Mizoguchi T., Miura K. 2012. Abiotic stress and role of salicylic acid in plants. In: *Abiotic stress responses in plants*. Eds. P. Ahmad, M.N.V. Prasad. New York, Dordrecht, Heidelberg, London: Springer : 235-251.
- Hayat Q., Hayat S., Irfan M., Ahmad A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environ. Exp. Bot.* 68 : 14-25.
- He J.M., Xu H., She X.P., Song X., Zhao W.M. 2005. The role and interrelationship of hydrogen peroxide and nitric oxide in the UV-B-induced stomatal closure in broad bean. *Funct. Plant Biol.* 32 : 237-247.
- Hirayama T., Ohto C., Mizoguchi T., Shinozaki K. 1995. A gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C is induced by dehydration and salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92 : 3903-3907.
- Honda K., Yamada N., Yoshida R., Ihara H., Sawa T., Akaike T., Iwai S. 2015. 8-Mercapto-Cyclic GMP mediates hydrogen sulfide-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 56 : 1481-1489.
- Hou Z.H., Liu J., Hou L.X., Li X.D., Liu X. 2011. H<sub>2</sub>S may function downstream of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in jasmonic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Chin. Bull. Bot.* 46 : 396-406.
- Hsu Y.Y., Kao C.H. 2011. Nitric oxide is involved in methyl jasmonate induced lateral root formation in rice. *Crop Environ. Bioinformatics.* 8 : 160-167.
- Hu Y., Jiang L., Wang F., Yu D. 2013. Jasmonate regulates the inducer of CBF expression-C-repeat binding factor/DRE binding factor1 cascade and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 25 : 2907-2924.
- Hu K.D., Tang J., Zhao D.L., Hu L.Y., Li Y.H., Liu Y.S., Jones R., Zhang H. 2014. Stomatal closure in sweet potato leaves induced by sulfur dioxide involves H<sub>2</sub>S and NO signaling pathways. *Biol. Plant.* 58 : 676-680.
- Hyun Y., Lee I. 2008. Generating and maintaining jasmonic acid in *Arabidopsis*. *Plant Signal. Behav.* 3 : 798-800.
- Israelsson M., Siegel R.S., Young J., Hashimoto M., Iba K., Schroeder J.I. 2006. Guard cell ABA and CO<sub>2</sub> signaling network updates and Ca<sup>2+</sup> sensor priming hypothesis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9 : 654-663.
- Jin Q., Cui W., Xie Y., Shen W. 2016. Carbon monoxide: A ubiquitous gaseous signaling molecule in plants. In: *Gasotransmitters in Plants. Signaling and communication in plants*. Eds. L. Lamattina, C. Garcia-Mata. Springer, Cham : 3-19.
- Jin Z., Xue S., Luo Y., Tian B., Fang H., Li H., Pei Y. 2013. Hydrogen sulfide interacting with abscisic acid in stomatal regulation responses to drought stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem.* 62 : 41-46.
- Jin Z.P., Shen J.J., Qiao Z.J., Yang G.D., Wang R., Pei Y.X. 2011. Hydrogen sulfide improves drought resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 414 : 481-486.
- Jin Z., Xue S., Luo Y., Tian B., Fang H., Li H., Pei Y. 2013. Hydrogen sulfide interacting with abscisic acid in stomatal regulation responses to drought stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem.* 62 : 41-46.
- Jin Z., Wang Z., Ma Q., Sun L., Zhang L., Liu Z., Liu D., Hao X., Pei Y. 2017. Hydrogen sulfide mediates ion fluxes inducing stomatal closure in response to drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Soil.* Doi 10.1007/s11104-017-3335-5
- Jin Z.P., Pei Y.X. 2015. Physiological implications of hydrogen sulfide in plants: Pleasant exploration behind its unpleasant odour. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity Hindawi Publishing Corporation.* 2015. Article ID 397502. Doi: org/10.1155/2015/397502
- Kaplan F., Kopka J., Haskell D.W., Zhao W., Schiller K.C., Gatzke N., Sung D.Y., Guy C.L. 2004. Exploring the temperature-stress metabolome of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 136 : 4159-4168.

- Kazan K., Manners J.M. 2008. Jasmonate signaling: toward an integrated view. *Plant Physiol.* 146 : 1459-1468.
- Khokon A.R., Okuma E., Hossain M.A., Munemasa S., Uraji M., Nakamura Y., Mori I.C., Murata Y. 2011. Involvement of extracellular oxidative burst in salicylic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ.* 34 : 434-443.
- Kolupaev Yu.E., Firsova E.N., Yastreb T.O. 2017. Induction of plant cells heat resistance by hydrogen sulfide donor is mediated by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation with participation of NADPH oxidase and superoxide dismutase. *Ukr. Biochem. J.* 89 (4) : 34-42.
- Kramell R., Atzorn R., Schneider G., Miersch O., Brückner C., Schmidt J., Sembdner G., Parthier B. 1995. Occurrence and identification of jasmonic acid and its amino acid conjugates induced by osmotic stress in barley leaf tissue. *J. Plant Growth Regul.* 14 : 29-36.
- Kwak J.M., Nguyen V., Schroeder J.I. 2006. The role of reactive oxygen species in hormonal responses. *Plant Physiol.* 141 : 323-329.
- Lackman P., González-Guzmán M., Tilleman S., Carqueijeiro I., Pérez A.C., Moses T., Seo M., Kanno Y., Häkkinen S.T., Van Montagu M.C.E., Thevelein J.M., Maaheimo H., Oksman-Caldentey K.M., Rodriguez P.L., Rischer H., Goossens A. 2011. Jasmonate signaling involves the abscisic acid receptor PYL4 to regulate metabolic reprogramming in *Arabidopsis* and tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108 : 5891-5896.
- Lai D.W., Mao Y., Zhou H., Li F., Wu M., Zhang J., He Z., Cui W., Xie Y. 2014. Endogenous hydrogen sulfide enhances salt tolerance by coupling the reestablishment of redox homeostasis and preventing salt-induced K<sup>+</sup> loss in seedlings of *Medicago sativa*. *Plant Sci.* 225 : 117-129.
- Lamotte O., Guold K., Lecourieux D., Sequeira-Legrand A., Lebrun-Garcia A., Durner J., Pugin A., Wendehenne D. 2004. Analysis of nitric oxide signaling functions in tobacco cells challenged by the elicitor cryptogein. *Plant Physiol.* 135 : 516-529.
- Laxalt A.M., García-Mata C., Lamattina L. 2016. The dual role of nitric oxide in guard cells: promoting and attenuating the ABA and phospholipid-derived signals leading to the stomatal closure. *Front. Plant Sci.* 7 : 476.
- Lecourieux D., Mazars C., Pauly N., Ranjeva R., Pugin A. 2002. Analysis and effects of cytosolic free calcium increases in response to elicitors in *Nicotiana plumbaginifolia* cells. *Plant Cell.* 14 : 2627-2641.
- Lee J.S. 1998. The mechanism of stomatal closing by salicylic acid in *Commelina communis* L. *J. Plant Biol.* 41 : 97-102.
- Lee Y., Kim Y.W., Jeon B.W., Park K.Y., Suh S.J., Seo J., Kwak J.M., Martinoia E., Hwang I., Lee Y. 2007. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate is important for stomatal opening. *Plant J.* 52 : 803-816.
- Levchenko V., Guinot D.R., Klein M., Roelfsema M.R., Hedrich R., Dietrich P. 2008. Stringent control of cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> in guard cells of intact plants compared to their counterparts in epidermal strips or guard cell protoplasts. *Protoplasma.* 233 : 61-72.
- Li Z.G. 2013. Hydrogen sulfide: a multifunctional gaseous molecule in plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 60 : 733-740
- Li Z.G., Luo L.J., Zhu L.P. 2014a. Involvement of trehalose in hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-induced the acquisition of heat tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Bot. Stud.* 55 : 20.
- Li Z.G., Yi X.Y., Li Y.T. 2014b. Effect of pretreatment with hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide on heat tolerance in relation to antioxidant system in maize (*Zea mays*) seedlings. *Biologia.* 69 : 1001-1009.
- Li Z.G., Min X., Zhou Z.H. 2016. Hydrogen sulfide: A signal molecule in plant cross-adaptation. *Front. Plant Sci.* 7 : 1621. Doi: 10.3389/fpls.2016.01621
- Li Z.G., Zhu L.P. 2014. Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-induced accumulation of betaine is involved in the acquisition of heat tolerance in maize seedlings. *Braz. J. Bot.* 38 : 31-38.
- Lindermayr C., Saalbach G., Durner J. 2005. Proteomic identification of S-nitrosylated proteins in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 137 : 921-930.
- Ling T., Zhang B., Cui W., Wu M., Lin J., Zhou W., Huang J., Shen W. 2009. Carbon monoxide mitigates salt-induced inhibition of root growth and suppresses programmed cell death in wheat primary roots by inhibiting superoxide anion overproduction. *Plant Sci.* 177 : 331-340.
- Lisjak M., Srivastava N., Teklic T., Civalo L., Lewandowski K., Wilson I., Wood M.E., Whiteman M., Hancock J.T. 2010. A novel hydrogen sulfide donor causes stomatal opening and reduces nitric oxide accumulation. *Plant Physiol. Biochem.* 48 : 931-935.
- Lisjak M., Teklić T., Wilson I.D., Wood M.E., Whiteman M., Hancock J.T. 2011. Hydrogen sulfide effects on stomatal apertures. *Plant Signal. Behav.* 6 : 1444-1446,
- Liu Y., Hao Y., Liu Y., Huang W. 2005. Effects of wounding and exogenous jasmonic acid on the peroxidation of membrane lipid in pea seedlings leaves. *Agr. Sci. China.* 4 : 614-620.
- Liu K., Xu S., Xuan W., Ling T., Cao Z., Huang B., Sun Y., Fang L., Liu Z., Zhao N., Shen W. 2007. Carbon monoxide counteracts the inhibition of seed germination and alleviates oxidative damage caused by salt stress in *Oryza sativa*. *Plant Sci.* 172 : 544-555.
- Liu Y., Xu S., Ling T., Xu L., Shen W. 2010. Heme oxygenase/carbon monoxide system participates in

- regulating wheat seed germination under osmotic stress involving the nitric oxide pathway. *J. Plant Physiol.* 167 : 1371-1379.
- Liu J., Hou Z.H., Liu G.H., Hou L.X., Liu X. 2012. Hydrogen sulfide may function downstream of nitric oxide in ethylene-induced stomatal closure in *Vicia faba* L. *J. Integr. Agricult.* 11 : 1644-1653.
- Lorenzo O., Chico J.M., Sanchez-Serrano J.J., Solano R. 2004. Jasmonate-insensitive1 encodes a MYC transcription factor essential to discriminate between different jasmonate regulated defence responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 16 : 1938-1950.
- Lozano-Juste J., Leon J. 2010. Enhanced abscisic acid-mediated responses in *nialInia2noal-2* triple mutant impaired in NIA/NR and AtNOA1-dependent nitric oxide biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 152 : 891-903.
- Marino D., Dunand C., Puppo A., Pauly N. 2012. A burst of plant NADPH oxidases. *Trends Plant Sci.* 17 : 9-15.
- Mauch-Mani B., Metraux J.P. 1998. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. *Ann. Bot.* 82 : 535-540.
- Mauch-Mani B., Slusarenko A.J. 1996. Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of *Arabidopsis* to *Peronospora parasitica*. *Plant Cell.* 8 : 203-212.
- Melotto M., Underwood W., Koczan J., Nomura K., He S.Y. 2006. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell.* 126 : 969-980.
- Melotto M., Underwood W., He S.Y. 2008. Role of stomata in plant innate immunity and foliar bacterial diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.* 46 : 101-122.
- Meng D.K., Chen J., Yang Z. 2011. Enhancement of tolerance of Indian mustard (*Brassica juncea*) to mercury by carbon monoxide. *J. Hazard Mater.* 186 : 1823-1829.
- Miura K., Okamoto H., Okuma E., Shiba H., Kamada H., Hasegawa P.M., Murata Y. 2013. SIZ1 deficiency causes reduced stomatal aperture and enhanced drought tolerance via controlling salicylic acid-induced accumulation of reactive oxygen species in *Arabidopsis*. *Plant J.* 73 : 91-104.
- Montillet J.L., Leonhardt N., Mondy S., Tranchimand S., Rumeau D., Boudsocq M., Garcia A.V., Douki T., Bigear J., Lauriere C., Chevalier A., Castresana C., Hirt H. 2013. An abscisic acid-independent oxylipin pathway controls stomatal closure and immune defense in *Arabidopsis*. *PLOS Biol.* 11 (3) : e1001513.
- Morgan P.W., Drew M.C. 1997. Ethylene and plant responses to stress. *Physiol. Plant.* 100 : 620-630.
- Mori I.C., Pinontoan R., Kawano T., Muto S. 2001. Involvement of superoxide generation in salicylic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Plant Cell Physiol.* 42 : 1383-1388.
- Munemasa S., Oda K., Watanabe-Sugimoto M., Nakamura Y., Shimoishi Y., Murata Y. 2007. The coronatine-insensitive 1 mutation reveals the hormonal signaling interaction between abscisic acid and methyl jasmonate in *Arabidopsis* guard cells. Specific impairment of ion channel activation and second messenger production. *Plant Physiol.* 143 : 1398-1407.
- Munemasa S., Mori I.C., Murata Y. 2011. Methyl jasmonate signaling and signal crosstalk between methyl jasmonate and abscisic acid in guard cells. *Plant Signal. Behav.* 6 : 939-941.
- Mur L.A.J., Mandon J., Persijn S., Cristescu S.M., Moshkov I.E., Novikova G.V., Hall M.A., Hadden F.J.M., Hebelstrup K.H., Gupta K.J. 2013. Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge. *AoB Plants* 5 : Pls052. Doi: 10.1093/aobpla/pls052
- Neill S.J., Burnett E.C. 1999. Regulation of gene expression during water deficit stress. *Plant Growth Regul.* 29 : 23-33.
- Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hancock J.T. 2002. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiol.* 128 : 13-16.
- Neill S., Bright J., Desikan R., Hancock J., Harrison J., Wilson I. 2008. Nitric oxide evolution and perception. *J. Exp. Bot.* 59 : 25-35.
- Pandey S. 2014. Hydrogen sulfide: A new node in the abscisic acid-dependent guard cell signaling network? *Plant Physiol.* 166 : 1680-1681.
- Pandey S., Nelson D.C., Assmann S.M. 2009. Two novel GPCR-type G proteins are abscisic acid receptors in *Arabidopsis*. *Cell.* 136 : 136-148.
- Papanatsiou M., Scuffi D., Blatt M.R., Garcia-Mata C. 2015. Hydrogen sulfide regulates inward-rectifying K<sup>+</sup> channels in conjunction with stomatal closure. *Plant Physiol.* 168 : 29-35.
- Raghavendra A.S., Gonugunta V.K., Christmann A., Grill E. 2010. ABA perception and signalling. *Trends Plant Sci.* 15 : 395-401.
- Pernas M., Garcia-Casado G., Rojo E., Solano R., Sanchez-Serrano J.J. 2007. A protein phosphatase 2A catalytic subunit is a negative regulator of abscisic acid signalling. *Plant J.* 51 : 763-778.
- Roelfsema M.R.G., Hedrich R. 2005. In the light of stomatal opening: new insights into "The Watergate". *New Phytol.* 167 : 665-691.
- Roszer T. 2014. Biosynthesis of nitric oxide in plants. In: *Nitric Oxide in Plants: Metabolism and Role in Stress Physiology*. Eds. M.N. Khan et al. Springer International Publishing Switzerland : 17-32.
- Santa-Cruz D.M., Pacienza N.A., Polizio A.H., Balestrasse K.B., Tomaro M.L., Yannarelli G.G. 2010. Nitric oxide synthase-like dependent NO production

- enhances heme oxygenase up-regulation in ultraviolet-B-irradiated soybean plants. *Phytochem.* 71 : 1700-1707.
- Santino A., Taurino M., De Domenico S., Bonsegna S., Poltronieri P., Pastor V., Flors V. 2013. Jasmonate signaling in plant development and defense response to multiple (a)biotic stresses. *Plant Cell Rep.* 32 : 1085-1098.
- Scuffi D., Álvarez C., Laspina N., Gotor C., Lamattina L., García-Mata C. 2014. Hydrogen sulfide generated by L-cysteine desulhydrase acts upstream of nitric oxide to modulate abscisic acid-dependent stomatal closure. *Plant Physiol.* 166 : 2065-2076.
- Scuffi D., Nietzel T., Di Fino L.M., Meyer A.J., Lamattina L., Schwarzländer M., Laxalt A.M., García-Mata C. 2018. Hydrogen sulfide 10 increases production of NADPH oxidase-dependent hydrogen peroxide and phospholipase D-derived phosphatidic acid in guard cell signaling. *Plant Physiol.* (In press) Doi:10.1104/pp.17.01636
- Sembdner G., Parthier B. 1993. The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonates. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44 : 569-589.
- Shan C., Zhang S., Ou X. 2018. The roles of H<sub>2</sub>S and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in regulating AsA-GSH cycle in the leaves of wheat seedlings under drought stress. *Protoplasma.* (In press) Doi: 10.1007/s00709-018-1213-5
- She X.P., Song X.G. 2008. Carbon monoxide-induced stomatal closure involves generation of hydrogen peroxide in *Vicia faba* guard cells. *J. Integr. Plant Biol.* 50 : 1539-1548.
- Shekhawat G.S., Verma K. 2010. Haem oxygenase (HO): an overlooked enzyme of plant metabolism and defence. *J. Exp. Bot.* 61 : 2255-2270.
- Shen Y., Tang M.J., Hu Y.L., Lin Z.P. 2004. Isolation and characterization of a dehydrin-like gene from drought-tolerant *Boea crassifolia*. *Plant Sci.* 166 : 1167-1175.
- Shi H., Ye T., Chan Z. 2013. Exogenous application of hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide enhanced multiple abiotic stress tolerance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.). *Plant Physiol. Biochem.* 71 : 226-234.
- Shi H., Ye T., Chan Z. 2014. Nitric oxide-activated hydrogen sulfide is essential for cadmium stress response in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.). *Plant Physiol. Biochem.* 74 : 99-107.
- Shi F.M., Li Y.Z. 2008. Verticillium dahliae toxins-induced nitric oxide production in Arabidopsis is major dependent on nitrate reductase. *BMB Rep.* 41 : 79-85.
- Sokolovski S., Hill A., Gay R., Garcia-Mata C., Lamattina L., Blatt M.R. 2005. Protein phosphorylation is a prerequisite for intracellular Ca<sup>2+</sup> release and ion channel control by nitric oxide and abscisic acid in guard cells. *Plant J.* 43 : 520-529.
- Sokolovski S., Blatt M.R. 2004. Nitric oxide block of outwardrectifying K<sup>+</sup> channels indicates direct control by protein nitrosylation in guard cells. *Plant Physiol.* 136 : 4275-4284.
- Staswick P.E., Tiryaki I. 2004. The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to isoleucine in Arabidopsis. *Plant Cell.* 16 : 2117-2127.
- Suhita D., Kolla V.A., Vavasseur A., Raghavendra A.S. 2003. Different signaling pathways involved during the suppression of stomatal opening by methyl jasmonate or abscisic acid. *Plant Sci.* 164 : 481-488.
- Suhita D., Raghavendra A.S., Kwak J.M., Vavasseur A. 2004. Cytoplasmic alkalization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate- and abscisic acid-induced stomatal closure. *Plant Physiol.* 134 : 1536-1545.
- Takahashi F., Yoshida R., Ichimura K., Mizoguchi T., Seo S., Yonezawa M., Maruyama K., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. 2007. The mitogen-activated protein kinase cascade MKK3-MPK6 is an important part of the jasmonate signal transduction pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 19 : 805-818.
- Tanaka Y., Sano T., Tamaoki M., Nakajima N., Kondo N., Hasezawa S. 2005. Ethylene inhibits abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 138 : 2337-2343.
- Tardieu F., Parent B., Simonneau T. 2010. Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non hydraulic processes? *Plant Cell Environ.* 33 : 636-647.
- Tewari R.K., Hahn E.J., Paek K.Y. 2008. Function of nitric oxide and superoxide anion in the adventitious root development and antioxidant defence in *Panax ginseng*. *Plant Cell Rep.* 27 : 563-573
- Tian B., Qiao Z., Zhang L., Li H., Pei Y. 2016. Hydrogen sulfide and proline cooperate to alleviate cadmium stress in foxtail millet seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 109 : 293-299.
- Ton J., Flors V., Mauch-Mani B. 2009. The multifaceted role of ABA in disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14 : 310-317.
- Toum L., Torres P.S., Gallego S.M., Benavides M.P., Vojnov A.A., Gustavo E. 2016. Gudesblat coronatine inhibits stomatal closure through guard cell-specific inhibition of NADPH oxidase-dependent ROS production. *Front Plant Sci.* 7 : 1851. doi: 10.3389/fpls.2016.01851
- Vandenbussche F., van der Straeten D. 2007. One for all and all for one: crosstalk of multiple signals controlling the plant phenotype. *J. Plant Growth Regul.* 26 : 178-187.
- Vogt T. 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Mol. Plant.* 3 : 2-20.
- Wagener F.A., Volk H.D., Willis D., Abraham N.G., Soares M.P., Adema G.J., Figdor C.G. 2003. Differ-

- ent faces of the heme-heme oxygenase system in inflammation. *Pharmacol. Rev.* 55 : 551-571.
- Wang L., Ma X., Che Y., Hou L., Liu X., Zhang W. 2015. Extracellular ATP mediates H<sub>2</sub>S-regulated stomatal movements and guard cell K<sup>+</sup> current in a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dependent manner in *Arabidopsis*. *Sci. Bull.* 60 : 419-427.
- Wang L.J., Li S.H. 2006. Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca<sup>2+</sup> homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. *Plant Sci.* 170 : 685-694.
- Wang P., Song C.P. 2008. Guard-cell signalling for hydrogen peroxide and abscisic acid. *New Phytol.* 178 : 703-718.
- Wang P., Du Y., Hou Y.J., Zhao Y., Hsu C.C., Yuan F., Zhu X., Tao W.A., Song C.P., Zhu J.K. 2015. Nitric oxide negatively regulates abscisic acid signaling in guard cells by S-nitrosylation of OST1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 112 : 613-618.
- Wang R. 2012. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiol. Rev.* 92 : 791-896.
- Wasternack C., Hause B. 2013. Jasmonates: Biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany.* *Ann. Bot.* 111 : 1021-1058.
- Wilkinson S., Davies W. 2009. Ozone suppresses soil-drying and abscisic acid (ABA)-induced stomatal closure via an ethylenedependent mechanism. *Plant Cell Environ.* 32 : 949-959.
- Wilks S.S. 1959. Carbon monoxide in green plants. *Science.* 129 : 964-966.
- Williams J., Bulman M.P., Neill S.J. 1994. Wilt-induced ABA biosynthesis, gene expression and down-regulation of *rbcS* mRNA level in *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Plant.* 91 : 177-182.
- Wilson I.D., Neill S.J., Hancock J.T. 2008. Nitric oxide synthesis and signalling in plants. *Plant Cell Environ.* 31 : 622-631.
- Wu J.Y., Qu H.Y., Shang Z.L., Tao S.T., Xu G.H., Wu J., Wu H.Q., Zhang S.L. 2011. Reciprocal regulation of Ca<sup>2+</sup>-activated outward K<sup>+</sup> channels of *Pyrus pyrifolia* pollen by heme and carbon monoxide. *New Phytol.* 189 : 1060-1068.
- Xie Y., Xu D., Cui W., Shen W. 2012. Mutation of *Arabidopsis* HY1 causes UV-C hypersensitivity by impairing carotenoid and flavonoid biosynthesis and the down-regulation of antioxidant defence. *J. Exp. Bot.* 63 : 3869-3883.
- Xing H., Tan L., An L., Zhao Z., Wang S., Zhang C. 2004. Evidence for the involvement of nitric oxide and reactive oxygen species in osmotic stress tolerance of wheat seedlings: inverse correlation between leaf abscisic acid accumulation and leaf water loss. *Plant Growth Regul.* 42 : 61-68.
- Xu Yu., Sun X., Jin J., Zhou H. 2010. Protective effect of nitric oxide on light-induced oxidative damage in leaves of tall fescue. *J. Plant Physiol.* 167 : 512-518.
- Xu S., Wang L., Zhang B., Han B., Xie Y., Yang J., Zhong W., Chen H., Wang R., Wang N., Cui W., Shen W. 2012. RNAi knockdown of rice SE5 gene is sensitive to the herbicide methyl viologen by the down-regulation of antioxidant defense. *Plant Mol. Biol.* 80 : 219-235.
- Yang M., Qin B.P., Ma X.L., Wang P., Li M.L., Chen L.L., Chen L.T., Sun A.Q., Wang Z.L., Yin Y.P. 2015. Foliar application of sodium hydrosulfide (NaHS), a hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) donor, can protect seedlings against heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Integr. Agricult.* 15 : 2745-2758.
- Zhang S.Y., Zhu L.S., Dong X.Y. 2015. Combined treatment of carbon monoxide and chitosan reduced peach fruit browning and softening during cold storage. *Int. J. Food Sci. Tech.* 4 : 477-482.
- Zhang Y., Wang L., Liu Y., Zhang Q., Wei Q., Zhang W. 2006. Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport in the tonoplast. *Planta.* 224 : 545-555.
- Zhang F., Wang Y., Yang Y., Wu H., Wang Di., Liu J. 2007. Involvement of hydrogen peroxide and nitric oxide in salt resistance in the calluses from *Populus euphratica*. *Plant Cell Environ.* 30 : 775-785.
- Zhang H., Ye Y.K., Wang S.H., Luo J.P., Tang J., Ma D.F. 2009. Hydrogen sulfide counteracts chlorophyll loss in sweet potato seedling leaves and alleviates oxidative damage against osmotic stress. *Plant Growth Regul.* 58 : 243-250.
- Zhao Z., Chen G., Zhang C. 2001. Interaction between reactive oxygen species and nitric oxide in drought-induced abscisic acid synthesis in root tips of wheat seedlings. *Austr. J. Plant Physiol.* 28 : 1055-1061.

Поступила в редакцию  
19.04.2018 г.

**PHYTOHORMONES AND SIGNAL MEDIATORS  
IN REGULATION OF STOMATAL APPARATUS**

Yu. E. Kolupaev<sup>1,2</sup>, T.O. Yastreba<sup>1</sup>, A. I. Kokorev<sup>1</sup>

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

*E-mail: plant\_biology@ukr.net  
Karazin Kharkiv National University  
(Kharkiv, Ukraine)*

The review focuses on the various, including a minor, ways of regulation of state of stomatal apparatus, as well as the mechanisms of functional interaction of multiple agents that affect stomatal aperture. The mechanisms regulating stomatal apparatus of plants at the action of stress plant hormones (abscisic acid (ABA), jasmonic and salicylic acids, ethylene) and signaling mediators – gas transmitters (nitric oxide (NO), hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S), carbon monoxide (CO)) are observed. It is noted that the final result of the action of stress hormones is opening anionic and K<sup>+</sup><sub>out</sub> channels, which leads to the exit of ions from guard cells and stomatal closure. Mediators in the realization of stomatal effects of phytohormones are hydrogen peroxide, nitric oxide, hydrogen sulfide and calcium ions. The role of the transcription factor MYC2/JIN1 in realization of ABA stomatal effects is discussed. Data on the effect of various exogenous sources of nitric oxide on the stomata state are presented. It is noted that effects of NO on stomatal mechanism can be mediated by cGMP, cADP-ribose, and calcium. The action of hydrogen sulfide on stomatal aperture is realized with the participation of nitric oxide and other mediators. Stomatal closure can also be induced by carbon monoxide during functional interaction with reactive oxygen species. A mutual influence of signaling and hormonal mediators in controlling the state of stomata is discussed.

**Key words:** *stomata, abscisic acid, jasmonic acid, salicylic acid, ethylene, nitric oxide, hydrogen sulfide, carbon monoxide*

**ФІТОГОРМОНИ І СИГНАЛЬНІ ПОСЕРЕДНИКИ  
В РЕГУЛЯЦІЇ ПРОДИХОВОГО АПАРАТУ**

Ю. Є. Колупаєв<sup>1,2</sup>, Т. О. Ястреб<sup>1</sup>, О. І. Кокорев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва  
(Харків, Україна)*

*E-mail: plant\_biology@ukr.net*

<sup>2</sup>*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна  
(Харків, Україна)*

В огляді акцентується увага на різних, в тому числі мінорних, шляхах регуляції стану продихового апарату, а також на механізмах функціональної взаємодії численних агентів, що впливають на апертуру продихів. Розглянуто механізми регуляції продихового апарату рослин за дії стресових фітогормонів (абсцизової (АБК), жасмонової і саліцилової кислот, етилену) та сигнальних посередників – газотрансмітерів (оксиду азоту (NO), сірководню (H<sub>2</sub>S), монооксиду вуглецю (CO)). Відзначається, що кінцевим результатом дії стресових гормонів є відкриття аніонних і K<sup>+</sup><sub>out</sub> каналів, що призводить до виходу іонів із замикаючих клітин і закривання продихів. Посередниками у реалізації дії фітогормонів на замикаючі клітини є пероксид водню, оксид азоту, сірководень та іони кальцію. Обговорюється роль транскрипційного фактора MYC2/JIN1 в реалізації продихових ефектів АБК. Наводяться дані про вплив різних екзогенних джерел оксиду азоту на стан продихів. Відзначається, що ефекти NO на продиховий апарат можуть бути опосередковані цГМФ, цАДФ-рибозою і кальцієм. Дія сірководню на продихову апертуру реалізується за участю оксиду азоту та інших посередників. Закривання продихів може індукувати і монооксид вуглецю при функціональній взаємодії з активними формами кисню. Обговорюється взаємний вплив сигнальних і гормональних посередників при контролі стану продихів.

**Ключові слова:** *продихи, абсцизова кислота, жасмонова кислота, саліцилова кислота, етилен, оксид азоту, сірководень, монооксид вуглецю*