

УДК 575.827:604.6:582.683.2

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ОНТОГЕНЕЗІ РОСЛИН У НОРМІ І ЗА ДІЇ АБІОТИЧНИХ СТРЕСІВ

© 2017 р. Л. О. Сахно

Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки»

Національної академії наук України

(Київ, Україна)

Узагальнено відомості щодо ролі ключового ферменту антиоксидантної системи рослин – супероксиддисмутази (СОД) – у процесах росту і розвитку та у забезпеченні толерантності до абіотичних стресів. Показано взаємозв'язок між активністю цього ферменту і особливостями відповіді рослинних тканин на умови культивування *in vitro*. Продемонстровано можливості трансгенезу у з'ясуванні ролі СОД в адаптації до абіотичних стресів і особливостей її регуляції. Запропоновано використовувати активність СОД для первинного скринінгу рослин на толерантність до сольового стресу та водного дефіциту.

Ключові слова: *антиоксидантна система рослин, супероксиддисмутаза (СОД), засолення, водний дефіцит, трансгенез*

Утворення активних форм кисню (АФК), включаючи вільні радикали, є невід'ємною складовою метаболізму рослин (Kapurpanandian et al., 2011; Колупаєв та ін., 2013). АФК можуть відігравати важливу роль у багатьох біологічних процесах як інтегративні сигнальні молекули, які функціонують разом з іншими сигнальними шляхами (Mittler, 2002). Так, поєднання стрес-залежної надпродукції АФК з ауксиновим сигнальним шляхом приводить до стрес-індукованої морфогенетичної відповіді (Mittler, 2002; Susuki et al., 2011). За умови, коли у рослинних клітинах підтримується відповідний окиснювально-відновний гомеостаз за рахунок балансу утворення і знешкодження АФК, рослина нормально росте і розвивається. Під дією помірного стресу виживання рослин забезпечується індукцією антиоксидантного захисту для підтримання редокс-балансу (Hasanuzzaman et al., 2012). Оксидативний стрес настає, коли окислювально-відновний баланс порушується або через підвищену продукцію АФК, або через виснаження антиоксидантного захисту, або через поєднання обох причин. У кінцевому підсумку він може призводити до клітинного колапсу у рослин

(Kapurpanandian et al., 2011; Колупаєв та ін., 2013).

Властивості рослинних супероксиддисмутаз

Ключовим ферментом, задіяним в процесі детоксикації АФК, є супероксиддисмутаза (СОД, КФ 1.15.1.1). Вперше досліджений McCord і Fridovich у 1969 р. (McCord, Fridovich, 1969), він каталізує перетворення супероксиду на пероксид водню і молекулярний кисень.

Вміст СОД складає від 1,6 до 2,4% вмісту загального розчинного білка у проростках кукурудзи (*Zea mays* сорт Michigan 500), гороху (*Pisum sativum* сорт Wando) і вівса (*Avena sativa* L. сорт Au Sable) (Giannopolitis et al., 1977).

У рослинах відомо три ізоформи СОД, які відрізняються металами в активному центрі. Це можуть бути цинк і мідь (Cu/Zn-СОД), марганець (Mn-СОД) або залізо (Fe-СОД) (Fridovich, 1989; Racchi et al., 2001). Всі ізоформи кодуються ядерними генами і спрямовуються до відповідних субклітинних компартментів за допомогою транзитних пептидів (Bowler et al., 1992; Pilon et al., 2011). Mn-СОД локалізується в мітохондріях, тоді як Fe-СОД – у хлоропластах (Jackson et al., 1978; Mittler, 2002) і цитозолі (Myouga et al., 2008). Cu/Zn-СОД активна в цитозолі, хлоропластах і пероксисомах і представлена щонайменше трьома ізоформами (Buono et al., 1995). Еукариотична Cu/Zn-СОД є чутливою до ціанідів, в той час як активність інших

Адреса для кореспонденції: Сахно Людмила Олександрівна, ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки» НАН України, вул. Осиповського, 2А, Київ, 04123, Україна;
e-mail: sakhno2007@ukr.net

двох форм (Mn-СОД і Fe-СОД) не інгібується цими сполуками. Fe-СОД інактивується пероксидом водню, в той час як Mn-СОД – ні (Scandalios, 1993).

Кількість ізоформ СОД та їх співвідношення є специфічними для кожного виду. У рослинах кукурудзи відомо десять ізоформ СОД: чотири цитозольні Cu/Zn-СОД, чотири мітохондріальні Mn-СОД, крім того, Cu/Zn-СОД і Fe-СОД, які містяться у хлоропластах (van Breusegem et al., 1999). У геномі арабідопсису (*Arabidopsis thaliana*) виявлено три гени Fe-СОД, три – Cu/Zn-СОД і один, що кодує Mn-СОД (Pilon-Smits et al., 1995). У рослин морської гірчиці (*Cakile maritima*), що, як і арабідопсис, належить до родини капустяних, ідентифіковано десять ізоформ СОД за нормальних умов росту: дві Mn-СОД, одна Fe-СОД та сім Cu/Zn-СОД (Houmani et al., 2016). У листках рослин рису (*Oryza sativa*) наявні сім ізоформ СОД (Nath et al., 2014).

Загальна активність СОД у листках квасолі (*Phaseolus vulgaris* L.) за оптимальних умов складається з активності Mn-СОД (45%), Fe-СОД (30%), хлоропластної і цитозольної Cu/Zn-СОД (15% і 10%, відповідно) (Talukdar, Talukdar, 2013). Однак у листках тополь (*Populus tremula* × *Populus alba*) і кукурудзи активність Fe-СОД не зафіксована (Arisi et al., 1998; CoHu, Pilon, 2007). Рослини, які можуть знижувати активність Cu/Zn-СОД і підвищувати активність Fe-СОД за умов нестачі міді (наприклад, арабідопсис, рис, гірчиця посівна (*Brassica juncea*), томат (*Lycopersicon esculentum*)), здатні підтримувати детоксикацію супероксиду і одночасно зберегати мідь для накопичення пластоціаніну, що важливо для нормального перебігу фотосинтезу (CoHu, Pilon, 2007).

Активність різних ізоформ СОД неоднакова у різних органах рослин, а також змінюється у процесах розвитку та за умов стресів. Вона підвищується за фізіологічних умов на різних стадіях розвитку, а саме при проростанні насіння (Giannopolitis, Ries, 1977; Diaz-Vivancos et al., 2010), цвітінні (Gupta et al., 1993), дозріванні насіння (Giannopolitis, Ries, 1977; Matamoros et al., 2010). Цитозольна Cu/Zn-СОД має вищу активність, ніж Mn-СОД у насінні тютюну (*Nicotiana tabacum*). При проростанні насіння активність Mn-СОД знижується, водночас активність Cu/Zn-СОД – підвищується (Lee et al., 2013). У листках рису протягом всього періоду вегетативного росту експресія двох цитозольних Cu/Zn-СОД була високою, у той час як

активність двох пластидних Fe-СОД дуже низькою. Остання починала підвищуватися наприкінці цього періоду (Nath et al., 2014).

Підвищення активності СОД показано у пагонах гороху в процесі росту, причому активність СОД була нижчою в надземній частині рослин, ніж у коренях (Matamoros et al., 2010). У тополь (Arisi et al., 1988) і тютюну (Martins et al., 2011) активність СОД була вищою у молодих листках порівняно зі старими. Активність СОД зафіксована найнижчою у листках рослин арабідопсису на стадії розетки. За цвітіння вона підвищувалася на 24,4% (Gupta et al., 1993).

Обробка насіння або проростків речовинами, що підвищують активність СОД, сприяє росту за нормальних умов. Так, замочування насіння рису у розчині гліцинбетаїну приводило до зростання сирі та сухої маси проростків, що супроводжувалось збільшенням ендогенного вмісту гліцинбетаїну у проростках, відносного вмісту води у листках, зростанням активності амілази та вмісту розчинних цукрів і активацією СОД, аскорбатпероксидази та каталази в умовах достатнього водозабезпечення (Faroog et al., 2008). Обприскування проростків рису розчинами гліцинбетаїну давало більший рістактивуючий ефект порівняно з обробкою насіння.

Підвищення активності СОД спостерігали у проростках ріпаку після обробки насіння водними розчинами альфа-2b інтерферону людини за відсутності стресу (Sakhno, 2014). Це супроводжувалося збільшенням сирі біомаси проростків за рахунок біомаси гіпокотилів та коренів порівняно з контрольними проростками, які були отримані з насіння, витриманого або у воді, або у водному розчині інтерферону, інактивованого кип'ятінням, або у водному розчині інтерферону з додаванням інгібітору СОД – діетилдитіокарбамату натрію.

Обприскування 7-добових проростків нуту (*Cicer arietinum* L.) розчинами прогестерону, β-естрадіолу або андростерону (статеві гормони ссавців) забезпечувало кращий приріст надземної біомаси і коренів за 18 діб росту у порівнянні з рослинами без обробки за фізіологічних умов. У рослинах після обробки зафіксовано підвищення активності антиоксидантних ферментів (СОД, пероксидази і каталази), а також зростання вмісту загального розчинного білка і вмісту цукрів (Erdal, Dumlupinar, 2011).

У листках 22-добових рослин морської гірчиці, що були задіяні в експерименті з вивчення впливу засолення на метаболізм цього галофіту, після тижня вирощування у водній

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ОНТОГЕНЕЗІ РОСЛИН

культури в контрольних умовах зафіксовано сім Cu/Zn-СОД, що зникали після другого тижня росту і замість них детектувалася Fe-СОД ізоформа, активність якої зростала протягом наступного (третього) тижня (Houmani et al., 2016). В коренях за тих же умов були наявні спочатку чотири Cu/Zn-СОД, дві Mn-СОД та одна Fe-СОД. На другому тижні профіль ізоформ залишався без змін, але активність Fe-СОД ізоформи підвищувалася. Після трьох тижнів росту активність Fe-СОД та двох Mn-СОД зростала, а Cu/Zn-СОД ізоформи не виявлялися. За умов засолення головну роль як у листках, так і в коренях морської гірчиці відігравали ізоформи Cu/Zn-СОД. У листках за умов росту при 400 мМ NaCl зафіксовано сім Cu/Zn-СОД. Після першого тижня росту їх активність була вищою, ніж в контролі, за винятком ізоформи V. Після другого тижня підвищилася активність ізоформ I та IV, після третього – додатково збільшилася активність ізоформи I. У коренях зафіксована підвищена в порівнянні з контролем активність I – IV ізоформ Cu/Zn-СОД, зменшена активність двох Mn-СОД, активність Fe-СОД залишалася на рівні контролю протягом всіх трьох тижнів експерименту. Після третього тижня культивування не спостерігали активності IV ізоформи Cu/Zn-СОД. Таким чином, головну роль у солестійкості галофіту *Sakile maritima* відіграють Cu/Zn-СОД ізоформи, активність яких зростає, обумовлюючи загальне підвищення активності СОД, що забезпечує виживання за умов довготривалого засолення високої інтенсивності (Houmani et al., 2016).

У проростків люцерна, отриманих з праймованого розчином брасиноліду (5 мкМ) насіння, спостерігали позитивну кореляцію між накопиченням сирої та сухої біомаси проростків та підвищенням активності СОД за умов засолення (Zhang et al., 2007).

Підвищення активності СОД, що корелювало зі здатністю протистояти засоленню за умов гідропоніки, показано у рослин сафлору красильного (*Carthamus tinctorius*) (Zaoui et al., 2016).

Виявлено, що пластиди коренів рослин культурного томату відрізнялися від пластид дикого, стійкого до засолення, томату (*Lycopersicon pennellii*) за умов сольового стресу зниженою активністю СОД, аскорбатпероксидази і гваяколпероксидази (Mittova et al., 2002).

Обприскування рослин льону (*Linum usitatissimum* L.), що росли в умовах засолення

протягом двох тижнів, розчином, що мав в своєму складі хлорид кальцію та гіберелову кислоту, знижувало пошкоджуючий вплив NaCl (150 мМ) на рослини краще, ніж обробка кожним із компонентів окремо. Активність СОД в тканинах листків підвищувалася за таких умов на 25% порівняно з такою у рослин, що культивувались в умовах засолення (Khan et al., 2010).

Передобробка проростків рису розчином трегалози (10 мМ) підвищувала їх толерантність до засолення. Зміни активності СОД при цьому залежали від інтенсивності стресу. Якщо він був створений 150 мМ NaCl, активність СОД не змінювалася у порівнянні з контролями без солі та без солі з додаванням трегалози. За підвищення концентрації NaCl до 250 мМ вона була вищою від контролю, але нижчою, ніж за умов тільки стресу без впливу трегалози (Mostofa et al., 2015). За культивування рослин арабідопсису в умовах засолення (250 мМ NaCl) при додаванні трегалози в концентрації 1 мМ спостерігали пом'якшуючий ефект цього дисахариду на симптоми пошкоджуючої дії сольового стресу. Рослини формували більшу біомасу, накопичення іонів натрію в суцвіттях зменшувалося, а рівень цукрів збільшувався, що давало можливість краще протистояти засоленню високої інтенсивності на генеративній стадії розвитку. За таких умов показана підвищена активність СОД і пероксидаз порівняно з такою в контрольних умовах без трегалози та з додаванням трегалози без засолення (Yang L. et al., 2014).

При вивченні холодостійкості у різних сортів люцерна була виявлена позитивна лінійна кореляція між активністю антиоксидантних ферментів і толерантністю до холоду (Wang et al., 2009). За нормальних умов росту (25°C) активність СОД була вищою у коренях порівняно з такою у листках. За зниження температури до 10°C активність СОД в листках рослин підвищувалася, в той же час у коренях рослин обох сортів вона знижувалася. Активність СОД зростала у 1,86 раза більше у листках рослин толерантного сорту Xinmu No.1 порівняно з рослинами чутливого до низьких температур сорту Northstar. Останні виявилися менш холодостійкими на стадії проростків.

Активність СОД і аскорбатпероксидази за умов низьких температур показана для рослин *Stylosanthes guianensis* Schumach. і Thonn. (Zhou et al., 2009).

Зафіксована висока позитивна кореляція за коефіцієнтом Пірсона між активністю СОД і вмістом проліну ($R = 0,903$), вмістом хлорофі-

лів a ($R = 0,826$) і b ($R = 0,860$), загальною кількістю листків ($R = 0,742$) та індексом «летальна температура 50» ($R = 0,925$) при вивченні морозостійкості сортів озимої (сорт Norstar) та ярої пшениці (сорт Pishtaz), а також їх гібридних ліній в умовах польового дослідження. Рослини озимого сорту мали вищу більш, ніж удвічі, активність СОД протягом росту при 20°C, а також під час акліматизації в польових умовах на 60-ту, 90-ту та 120-ту добу протягом грудня-січня лютого у Кереджі (Іран) (Hosseini et al., 2016).

Поєднання нестачі світла та низької температури приводило до інгібування Cu/Zn-СОД у листках огірка (*Cucumis sativus* L.) за триразового збільшення вмісту пероксиду водню (Choi et al., 2002). Це викликало пригнічення фотосинтезу через інактивацію фотосистеми I.

Активність СОД підвищувалася у рослин винограду (*Vitis vinifera*) як після обприскування листків розчинами абсцизової кислоти (АБК) різної концентрації (50, 100 або 200 мкМ) за температури 24°C, так і після комбінованого впливу обробки АБК та зниження температури до +4°C протягом 12 год з наступним поверненням до вихідної температури протягом трьох діб. В останньому випадку активність СОД підвищувалася більше залежно від способу обробки і сягала максимально 180% відносно контролю за концентрації АБК 100 мкМ. Це дозволяло рослинам краще витримувати дію низьких позитивних температур (Karimi et al., 2016).

Активність СОД була найнижчою у проростків дерев *Pterocarya stenoptera*, отриманих з насіння рослин, які виростили в провінції Китаю Hefeng, порівняно з активністю СОД у проростків з чотирьох інших провінцій (Xu et al., 2015). Проростки з провінції Hefeng виявилися найменш стійкими до посухи і заболочення.

Здатність до накопичення більшої біомаси протягом 5-добового водного дефіциту, індукованого 20% ПЕГ 6000, у рослин чини посівної (*Lathyrus sativus*) порівняно з рослинами гороху посівного (*Pisum sativum*) супроводжувалася достовірно вищою активністю СОД, каталази, аскорбат- і гваяколпероксидази (Jiang et al., 2013).

Загальна активність СОД зростала на третину у молодих листках арабідопсису після 7 діб відсутності поливу, а у повністю розвинутих листках вона збільшувалася удвічі (Jung, 2004).

У проростках рису активність СОД позитивно корелювала зі стійкістю до водного дефіциту, резистентністю до алюмінію та до по-

єднання цих стресів (Pandey et al., 2014). Автори пропонують використовувати показники активності антиоксидантних ферментів (СОД, каталаза, аскорбатоксидаза та гваяколпероксидаза) як маркери стійкості до комбінованого стресу (водний дефіцит та надлишок алюмінію) у рису.

Збільшення активності СОД в умовах водного дефіциту, індукованого ПЕГ, у стійкої до холоду картоплі *Solanum curtilobum* було вдвічі більшим, ніж у чутливого до холоду культурного виду *Solanum tuberosum* (Martinez et al., 2001). При оксидативному стресі, індукованому метилвіологеном, збільшення активності СОД також було більш суттєвим у листках *Solanum curtilobum*.

Нестача марганцю не знижувала активності Mn-СОД, натомість підвищувала активність Fe-СОД і Cu/Zn-СОД і, таким чином, загальну активність СОД у молодих листках шовковиці білої (*Morus alba* L.) (Tewari et al., 2013). За фізіологічних умов чутливий до надлишку Mn сорт райграсу (*Lolium perrene* L.) виявляв нижчу загальну активність СОД, ніж Mn-стійкий, і ця відмінність ставала більш виразною за надмірного вмісту Mn, який буває на кислих ґрунтах. У рослинах Mn-стійкого сорту активність Fe-СОД підвищувалася до 5 разів порівняно з рослинами чутливого до марганцю сорту. Індуковане Mn підвищення експресії Mn-СОД і Cu/Zn-СОД спостерігали скоріше, ніж у випадку Fe-СОД ізоформи (Ribera-Fonseca et al., 2013).

У мутантів квасолі, дефектних за Mn-СОД (*sodPv1*) або за Fe-СОД (*sodPv2*), спостерігали нормальний ріст завдяки підвищеній активності Cu/Zn-СОД на стадії проростків і на рівні цілої рослини. Ці мутанти, оброблені арсеном, зберігали здатність до нормального росту; у них не виявлено достовірного підвищення генерації активних форм кисню. У подвійних мутантів повна відсутність як Mn-СОД, так і Fe-СОД супроводжувалася достовірним зниженням активності Cu/Zn-СОД, що приводило до накопичення АФК у великих кількостях і виявлялось у вигляді некротичних плям на фотосинтезуючих органах як за умов обробки арсеном, так і за його відсутності (Talukdar, Talukdar, 2013).

Мутанти *Arabidopsis* без шаперону міді для СОД, який доставляє мідь до ферменту Cu/Zn-СОД, не відрізнялись від рослин дикого типу за фенотипом і фотосинтетичним потенціалом, хоча у них не було зафіксовано активності СОД у хлоропластах і цитозолі, а загальна

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ОНТОГЕНЕЗІ РОСЛИН

СОД активність була представлена лише Mn-SOD (Cohn, Pilon, 2007).

В експериментах зі скередною волосистою (*Crepis capillaris*) показано, що активність СОД збільшується під час дії на рослини малих доз ультрафіолету В (3 kJ/m²) або озону до 1,4 і 1,94 раза, відповідно (Vyšniauskienė, Rancelienė, 2008). Повторна обробка тими ж чинниками приводила до подібних результатів, як і у випадках послідовного впливу двох факторів: додаткового впливу на рослини, що піддавались дії ультрафіолету В, озону та навпаки. Активність СОД за цих умов збільшувалась на 74% та 98% (Vyšniauskienė, Rancelienė, 2008).

Найвища температура, за якої виявлялася активність СОД у водних рослинах *Hydrilla verticillata* L., дорівнювала 45°C. Підвищення температури приводило до падіння активності, ймовірно, за рахунок денатурації білка (Panda, Khan, 2004). Після теплового шоку (прогрів екстрактів з листя за температури 90°C протягом 15 хв) активність СОД зменшувалась майже вдвічі як в нетрансформованих контрольних рослинах люцерни усіченої (*Medicago truncatula*), так і у відповідних трансгенних рослинах, що експресували в коренях ген гермін-подібного білка (*GLP*). Активність СОД в екстрактах без прогріву в контролі була достовірно нижчою, ніж в трансгенних рослинах (Sultana et al., 2016).

Проростки озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum*) після дворазового впливу підвищеної температури (32/24°C) ставали більш витривалими за наступної дії вищої температури (35/27°C) (Wang et al., 2014). Це супроводжувалося підйомом активності СОД і корелювало як з посиленням експресії генів Cu/Zn-SOD і Mn-SOD, так і з активацією гена *RcaB* (Rubisco активаза В) і збільшенням інтенсивності фотосинтеза, а також зі зниженою експресією гена *Cab*, що кодує головний зв'язуючий білок хлорофілів *a/b*, і через це зі зниженою здатністю до поглинання світла для захисту фотосистеми II за дії високих температур (Wang et al., 2014).

Обприскування проростків огірка розчином 5-амінолевуленової кислоти (3 мкМ) приводило до підвищення стійкості до дії високої температури (дві доби, 42/38°C при нормі 25/18°C) за рахунок активації антиоксидантних ферментів, зокрема, СОД, за умов стресу (Zhang et al., 2012).

Таким чином, зміни активності СОД виявляються у різних рослин на всіх етапах розвитку і за дії окремих абіотичних стресів, а та-

кож за їх поєднання. Більш толерантний до стресів рослинний матеріал часто характеризується підвищеною активністю СОД за нормальних умов росту та здатністю до суттєвішого підвищення цієї активності за несприятливих умов у порівнянні з чутливими до них генотипами.

Активність СОД і особливості ростових процесів *in vitro*

Труднощі введення в культуру *in vitro* і проблеми маніпуляцій під час культивування можуть бути пояснені оксидативним стресом і продукуванням клітинами АФК.

Достовірно підвищення активності СОД спостерігали у процесах як зиготичного, так і соматичного ембріогенезу у гіркогокаштану звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) (Bagnoli et al., 1998). У першому випадку спостерігали активність однієї ізоформи Mn-SOD і п'яти ізоформ Cu/Zn-SOD, в той час як при проходженні соматичного ембріогенезу експресувались одна ізоформа Mn-SOD і одна – Fe-SOD. Автори припускають, що труднощі у роботі з гіркогокаштаном в асептичних умовах можуть бути пов'язані з оксидативним стресом *in vitro* і особливостями функціонування ферментів СОД за цих умов.

Високий рівень активності СОД визначав здатність до ембріогенезу і розвиток соматичних ембріодів у банану (Ma et al., 2012). Активність СОД поступово підвищувалася після перенесення ембріогенних клітин на середовище для регенерації. Це супроводжувалося підвищенням вмісту пероксиду водню в тканинах, яке сягало максимуму на стадії проембрію. Потім вміст H₂O₂ поступово знижувався. Вміст пероксиду водню і активність антиоксидантних ферментів були вищими у клітин, здатних до ембріогенезу порівняно з неембріогенними клітинами (Ma et al., 2012).

Підвищення активності СОД детектували під час формування калюсу і регенерації пагонів у стеркулії пекучої (*Sterculia urens*) (Devi et al., 2013). У 30-добовому калюсі, що регенерував, активність СОД була вищою порівняно з контролем (експланти сім'ядолей) і калюсі, не здатному до регенерації, в 4,5- і 1,2 раза, відповідно. Підвищена активність антиоксидантних ферментів супроводжувалася підвищеним вмістом білка і зниженими загальним вмістом фенолів і вмістом флавоноїдів у регенеруючих пагонах (Devi et al., 2013).

Вища концентрація H₂O₂ і знижена активність каталази були зафіксовані у морфогенному калюсі кришталевої травички (*Mesembry-*

anthemum crystallinum), ніж у калюсі, не здатному до морфогенезу (Libik et al., 2005). У калюсних культурах спостерігали достовірні відмінності активностей хлоропластної Fe-СОД і цитозольної Cu/Zn-СОД, причому найбільше підвищення активності відзначено у останньої ізоформи.

Здатність до соматичного ембріогенезу зростала у дерези звичайної (*Lycium barbarum*) і астрагалу (*Astragalus adsurgens*) за обробки пероксидом водню або при інгібуванні ферментів, що приводять до розпаду H_2O_2 : каталази (обробка амінотріазолом або саліциловою кислотою) (Cui et al., 1999) і аскорбатпероксидази (обробка саліциловою кислотою) (Luo et al., 2001). Максимальна активність СОД спостерігалася в ембріогенних тканинах дерези до стадії утворення багатоклітинного ембрію. Інгібітор активності СОД, діетилдитіокарбамат, знижував активність СОД до 80% і це зменшувало ефективність соматичного ембріогенезу. Обробка пероксидом водню в концентрації 200 мкМ максимально підвищувала ембріогенез у дерези, в той час як обробка H_2O_2 в концентрації 300 мкМ інгібувала формування соматичних ембріодів (Cui et al., 1999). Максимальне підвищення соматичного ембріогенезу у астрагалу спостерігали після додавання саліцилової кислоти в концентрації 150 мкМ до середовища для регенерації. Це супроводжувалося підвищенням вмісту пероксиду водню в рослинних клітинах (Luo et al., 2001). Виявлено, що передобробка клітин астрагалу диметилтіосечовиною, яка взаємодіє з H_2O_2 , приводила до зменшення ембріогенезу навіть на середовищах з оптимальним вмістом саліцилової кислоти.

Експресія трангена *SOD*, який кодував хлоропластну Cu/Zn-СОД томату, поліпшувала регенерацію рослин перцю (*Capsicum annuum*) (Chatzidimitriadou et al., 2009). Трансгенні рослини перцю першого і другого поколінь мали на 30% вищу регенераційну здатність порівняно з нетрансформованим контролем.

Трансгенні рослини сливи (*Prunus domestica* сорт Claudia verde), які експресували цитозольну Cu/Zn-СОД з шпинату (*Spinacia oleracea*) і цитозольну аскорбатпероксидазу з гороху (*Pisum sativum*), характеризувалися прискореними темпами розмноження за умов *in vitro* (Faize et al., 2013). Рослини сливи, які були трансгенні лише за геном аскорбатпероксидази, не відрізнялись від нетрансформованого контролю за темпами мікророзмноження в асептичних умовах. Всі біотехнологічні рослини сливи з високою здатністю до мікророзмноження на-

копичували значні кількості пероксиду водню (Faize et al., 2013).

Активність СОД і вміст білка зменшувалися під час регенерації калюсу шафрану звичайного (*Crocus sativus* L.), який було отримано з меристем. Але в регенерантах активність СОД підвищувалася, тоді як активність каталази, пероксидази і поліфенолоксидази знижувалася (Vatankhah et al., 2010).

Активність СОД в експлантах цибулин ріпачика шахового (*Fritillaria meleagris*) була найвищою за 7 діб від початку морфогенезу *in vitro* (її визначали на 7-, 14-, 21- та 28-у добу) (Petrić et al., 2014). На початку експерименту в сегментах цибулин безпосередньо після їх нарізання, активність СОД була найнижчою. Зростання активності СОД залежало від складу середовища та умов культивування: за наявності кінетину і 2,4-Д воно було більшим, ніж за дії тидіазурону як при рості протягом шести тижнів за температури 24°C, так і за зниженої температури (4°C). Слід відзначити, що культивування за зниженої температури приводило до більш значного зростання активності СОД в культивованих експлантах. За наявності в середовищі підвищеного вмісту сахарози (4,5% проти 3% в контролі) при рості за температури 24°C спостерігали більш суттєве підвищення активності СОД на 7-му добу культивування на середовищах з тидіазуроном, ніж з кінетином і 2,4-Д. Підвищення активності СОД було більшим при культивуванні експлантів за умов низької температури або за підвищеної концентрації сахарози порівняно з культивуванням у контрольних умовах (Petrić et al., 2014).

Антиоксидантні ферменти і, зокрема, СОД впливають на процеси диференціації *in vitro*. З підвищеною активністю СОД пов'язана підвищена здатність до відповіді на маніпуляції в асептичних умовах.

Вплив експресії гетерологічних генів на активність СОД за умов стресів різного походження

Деякі гетерологічні гени, експресовані в рослинах, можуть впливати на активність антиоксидантних ферментів. Це супроводжується змінами активності, зокрема, СОД тільки за умов стресів або також і за фізіологічно нормальних умов росту. Трансгенні рослини однієї і тієї ж лінії, що здатні підвищувати активність СОД за умов стресів більше, ніж нетрансформовані рослини, по-різному збільшують її за різних стресових умов.

Рослини тютюну з трансгеном тілакоїд-зв'язаної аскорбатпероксидази томату (*StAPX*)

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ОНТОГЕНЕЗІ РОСЛИН

під контролем 35S промотора вірусу мозаїки цвітної капусти (ВМЦК) демонстрували збільшену толерантність до агента окиснювального стресу метилвіологену у дуже високій концентрації (200 мкМ) порівняно з нетрансформованими рослинами. Зазвичай для тестування стійких до цього агента рослин використовують розчини з концентрацією 5 мкМ. Активність СОД у рослин тютюну з трансгеном *StAPX* збільшувалася залежно від тривалості стресу: за три доби вона була вищою від контролю на 60%, за чотири – на 80%, за п'ять діб вона була більшою у 2,1 раза (Sun et al., 2013).

У рослинах ріпаку з трансгеном *secP1* (ген цекропіна P1) активність СОД підвищувалась на 30% при обробці 5 мкМ розчином метилвіологену (Zakharchenko et al., 2013).

Трансгенні рослини бавовника (*Gossypium hirsutum*), що надекспресували антиоксидантні ферменти у хлоропластах, були більш толерантні до сольового стресу, ніж ті, що експресували ті ж ферменти у цитозолі, хоча при цьому загальна активність антиоксидантних ферментів була майже однаковою. Рослини, які одночасно надекспресували власні гени *GhSOD1* і *GhCAT1*, мали найвищу стійкість серед аналізованих трансгенних рослин (Luo et al., 2013). Проникність мембран, виміряна за виходом електролітів, у найкращій з цих ліній була найнижчою за обробки 5 мкМ метилвіологеном і дорівнювала 16,8%, в той час як у рослин дикого типу пошкодження мембран виявлялося більш значним: цей показник був більшим майже втричі та становив 48,4%. Висота рослин при вирощуванні в умовах засолення (200 мМ NaCl) у теплиці складала в середньому 39,2 см (нетрансформовані рослини), 61,8 см (рослини, які надекспресують СОД), 64 см (рослини, які надекспресують аскорбатпероксидазу), 78,5 см (рослини, які надекспресують СОД і каталазу). Рослини бавовнику, які одночасно експресували два антиоксидантних фермента – СОД і каталазу, були найкращими і за такими агрономічними характеристиками як кількість коробочок на рослину, маса коробочки і урожай насіння на рослину (Luo et al., 2013).

Рослини тополь (*Populus tremula* × *Populus tremuloides* Michx клон Т89), що експресували ген *SOS2* з тополі чорної *Populus trichocarpa*, за умов засолення (85 мМ NaCl) мали активність СОД, яка на 30% перевищувала таку у контрольних рослин після трьох тижнів росту у ґрунті (Zhou et al., 2014).

Рослини арабідопсису з трансгеном *ThGSTZ1* (глутатіонредуктаза з *Tamarix*

hispida) мали на 42% вищу активність СОД за умов сольового стресу (100 мМ NaCl) і на 51% – за умов дефіциту вологи, індукованого манітолом, порівняно з контрольними нетрансформованими рослинами (Yang G. et al., 2014).

Біотехнологічні рослини тютюну, що експресували ген протеїнкінази з бавовнику (*GhMPK2*), за умов нестачі вологи, викликаній ПЕГ 6000, підвищували активність СОД на 30% порівняно з нетрансформованими рослинами, а за умов сольового стресу це підвищення сягало 50% (Zhang et al., 2011). Ген *GhMPK2* може слугувати точкою взаємозв'язку в реакціях рослин на абіотичний і біотичний стреси. Ектопічна експресія цього гена приводила до підвищення стійкості до патогенних грибів (*Fusarium oxysporum* та *Phytophthora parasitica*) і вірусів (вірус тютюнової мозаїки та вірус мозаїки огірка). Автори вважають, що підвищення стійкості до патогенів могло відбуватися за рахунок підвищеного конститутивного базального рівня стійкості, тому що у неінфікованих рослин спостерігали збільшену експресію генів, пов'язаних з патогенезом і біосинтезом етилену.

Рослини люцерни (*Medicago sativa* сорт Zhaodong) характеризувалися підвищеною на 14% порівняно з контролем активністю СОД після 15 діб сольового стресу (300 мМ NaCl) завдяки експресії гена *GsCBRLK*, що кодує Са-залежну кальмодулін-рецептор-подібну кіназу з сої *Glycine soja* Siebold & Zucc (Bai et al., 2013).

Активність СОД під час сольового (150 мМ NaCl) стресу підвищувалася у рослинах *Liquidambar formosana* з геном *AtNHX1* з арабідопсису під контролем 35S промотора ВМЦК. Порівняно з контролем вона зростала на 71% за 7 діб стресу, на 50% – за 14 діб, на 88% – за 21 добу і 58% – за 28 діб (Qiao et al., 2010).

Експресія гена *ICE1* з винограду (*Vitis amurensis*) (індуктор експресії CBF1) поліпшувала морозостійкість рослин тютюну, при цьому активність СОД була меншою в контрольних рослинах на 80% (Dong et al., 2013). Одночасна експресія генів *CuZnSOD* та *APX* під контролем 35S промотора ВМЦК надавала рослинам тютюну здатності краще протидіяти умовам посухи, засолення і низької температури та поєднанню цих стресів (Lee et al., 2013).

Експресія гена *OjERF* (фактор відповіді на етилен) із вічнозеленої трав'янистої багаторічної рослини *Ophiopogon japonicus* під контролем 35S промотора ВМЦК в рослинах тютюну приводила до поліпшення росту в умовах відсутності поливу при рості в кліматичній каме-

рі. Динаміка змін активності СОД залежно від тривалості стресу була такою: за 5 діб стресу активність СОД була вищою у трансгенних рослин порівняно з нетрансформованими на 63%, за 10 діб – на 70%, за 15 діб – на 50% і за 20 діб – на 360% (Li et al., 2012).

Одним із підходів до отримання толерантних до стресів трансгенних рослин є використання стрес-індуцибельних промоторів. Активність СОД у таких рослин не відрізняється від такої у нетрансформованих за нормальних умов росту. З настанням стресу активність СОД збільшується у цих рослин швидше і більш суттєво та надає їм переваги для росту порівняно з контрольними. Так, насіння рослин тютюну, які були трансгенні за Cu/Zn-СОД і аскорбатпероксидазою під контролем промотора SWPA2, було здатним проростати швидше за умов стресів (посуха, низька температура, засолення), ніж нетрансформоване (Lee et al., 2013). Ця особливість спостерігалася як за умов подвійного (посуха і сольовий стрес, або низька температура і посуха, або низька температура і сольовий стрес), так і потрійного (низька температура, сольовий стрес і посуха) стресів. Крім того, трансгенні проростки формували за цих умов більшу біомасу листків і коренів. Трансгенні за трьома генами, залученими до відповіді на стрес (СОД, аскорбатпероксидазою і *NDPK2*, під контролем того ж промотора SWPA2), рослини картоплі були більш толерантними до дії високих температур і окисативного стресу, індукованого метилвіологеном, за рахунок підвищення активності СОД, аскорбатпероксидази і каталази, яка регулюється *NDPK2* (Kim et al., 2010).

Трансгенні рослини ріпаку, що експресували як ген *CYP11A1* цитохрому P450_{SCC} з мітохондрій кори надиркових залоз великої рогатої худоби під контролем 35S промотора ВМЦК, так і ген інтерферону альфа 2b людини під тим же контролем, характеризувалися підвищеною активністю СОД як за нормальних умов культивування *in vitro* (Sakhno, Slyvets, 2014), так і за осмотичного стресу, індукованого манітолом (Slyvets, Sakhno, 2014; Sakhno, 2015). Рослини ліній, що мали найвищу активність СОД, були здатні до накопичення більшої біомаси за умов стресу порівняно з іншими трансгенними та контрольною нетрансформованою лініями (Slyvets, Sakhno, 2014; Sakhno, 2015).

Рослини картоплі сорту Superior, які експресували у хлоропластах під контролем SWPA2 промотора трансген *codA* із

Arthrobacter globiformis, що кодує холіноксидазу, задіяну у синтезі гліцинбетаїну, мали підвищену стійкість до водного дефіциту, індукованого ПЕГ, порівняно з нетрансформованими рослинами того ж сорту. За дві доби стресу активність СОД в трансгенних рослинах була вища, ніж в контрольних, на 55%, за 3 доби – на 99%, за одну добу після відновлення поливу – на 44% (Cheng et al., 2013).

Регуляція активності СОД

Зміни активності СОД регулюються мікроРНК (Dugas, Bartel, 2008; Sunkar et al., 2006; Trindade et al., 2010) і альтернативним сплайсингом (Feng et al., 2006; Srivastava et al., 2009).

МікроРНК (міРНК) – це ~21-нуклеотидні РНК, які зменшують накопичення цільових РНК за рахунок їх розщеплення або репресії трансляції. miR398 з арабідопсису регулює мРНК, які відповідають двом ферментам Cu/Zn-СОД. Сама miR398 знижує активність у відповідь на вміст міді і стрес. miR398 позитивно регулюється сахарозою, що приводить до зменшення мРНК як цитозольної, так і хлоропластної Cu/Zn-СОД (Dugas, Bartel, 2008). Така регуляція сахарозою спостерігається як за наявності, так і при відсутності фізіологічно відповідних рівнів додаткової міді. Крім того, виявлено, що рослини, які мають мРНК цитозольної і хлоропластної Cu/Zn-СОД зі зміненими сайтами комплементарності до miR398, накопичують відповідні мРНК, в той час як акумуляції відповідних білків не відбувається. Це говорить за те, що miR398 може діяти як трансляційний репресор. Крім того, показано, що цільові РНК можуть уникати регуляції міРНК на рівні накопичення мРНК, але зберігається чутливість до регуляції на рівні трансляції (Dugas, Bartel, 2008). Показано, що рослини арабідопсису, які надекспресували стійку до miR398 форму хлоропластної Cu/Zn-СОД, акумулювали більше відповідної мРНК, ніж рослини, що експресували звичайну хлоропластну Cu/Zn-СОД. Трансгенні рослини набували більшої толерантності до високої інсоляції, важких металів та інших окисативних стресів (Sunkar et al., 2006).

У рослинах люцерни (*Medicago truncatula*) за водного дефіциту підвищувалась активність miR398a/b і miR408 як у коренях, так і у надземній частині. Зниження активності відповідних цільових генів, які кодують мідь-вмісні білки COX5b (субодиниця 5b мітохондріальної оксидази цитохрому *c*) і пластоцианін, підтверджує участь цих мікроРНК у відповіді на посуху у рослин *Medicago truncatula*. Крім

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ОНТОГЕНЕЗІ РОСЛИН

того, підвищення активності miR398 приводить до зниження експресії цитозольної СОД під час водного дефіциту. Регуляція генів, що кодують мідь-вмісні білки, шляхом активації miR398a/b і miR408 виявляє зв'язок між гомеостазом міді та адаптацією *Medicago truncatula* до нестачі води, що посилюється (Trindade et al., 2010).

Альтернативний сплайсинг показаний для Fe-СОД, взятої з бібліотеки кДНК волоті рису (Feng et al., 2006). Він відбувається в четвертому екзоні гена *FeSOD*, що приводить до трансляції двох ізоформ різного розміру. 5'-фланкуюча область цього гена була клонувана. Знайдено цис-активні регуляторні елементи, які задіяні у відповідях на дію світла, включаючи G- та I-бокси. ПЛР аналіз, поєднаний зі зворотною транскрипцією, показав, що дві альтернативні форми експресувалися як у вегетативних, так і генеративних тканинах. Акумуляція обох ізоформ підвищувалася за дії світла. Крім того, альтернативний сплайсинг мРНК для Fe-СОД рису був чутливим до низьких температур. Дві рекомбінантні FeСОД рису були експресовані в клітинах *Escherichia coli*. Аналіз активності СОД виявив, що скорочення С-кінця у другій ізоформі не призводило до втрати ензиматичної активності (Feng et al., 2006).

Два гени (*PthipI-SODC1* і *PthipI-SODC2*), що кодують білок СОД з високою ізоелектричною точкою (*hipI-SOD*), були знайдені у рослинах тополі бальзамічної (*Populus trichocarpa*). Виявлено два транскрипти *PthipI-SODC1* (*hipI-SODC1b* і *hipI-SODC1s*), які різняться між собою за довжиною: перший був довшим від другого на 69 нуклеотидів за рахунок альтернативного сплайсингу в шостому інтроні. Транскрипт *hipI-SODC1b* експресується в ксилемі і камбії та не експресується у флоемі. Імунолокалізація і мас-спектрометричні дані підтвердили наявність СОД з високою ізоелектричною точкою у васкулярній тканині (Srivastava et al., 2009).

Активність СОД як критерій відбору стійкого до осмотичного і сольового стресів рослинного матеріалу

Вивчення особливостей залежності активності СОД і вмісту хлорофілів під час посухи від генотипу пшениці дозволило зробити висновок про можливість використання величин активності СОД як критерію для селекції посухостійкого рослинного матеріалу (Zaefyzadeh et al., 2009).

Аналіз активності СОД на стадіях цвітіння та зав'язування плодів в польових умовах посухи для 11 сортів арахису (*Arachis*

hypogaea), які є аллотетраплоїдами, виявив високу позитивну кореляцію цього показника і коефіцієнта посухостійкості за врожаєм (0,89 і 0,85, відповідно для експериментів, проведених у 2013 і 2014 роках) (Zhang et al., 2015). Коефіцієнт вираховували як відношення врожаю, отриманого за умов посухи (відносний вміст води у ґрунті становив 45%), до врожаю рослин цього ж сорту, сформованого за умов росту без водного дефіциту (відносний вміст води у ґрунті – 70%). Автори підтримують думку щодо доцільності використання величин активності СОД як індикатору посухостійкості у рослин арахису, демонструючи залежність цього показника від генотипу.

Схожого висновку дійшли і за результатами експериментів з отримання солестійких форм батату (*Ipomoea batatas*) (He et al., 2009). Після добору в умовах *in vitro* за активністю СОД серед 276 регенерантів, отриманих після гамма-опромінення ембріогенного каллосу і відібраних на середовищах з NaCl, 18 ліній було висаджено у теплицю, і серед них 3 виявились більш стійкими до засолення, ніж вихідні та інші регенеровані рослини. Активність СОД у кращих за солестійкістю ліній була майже у півтора раза вищою, ніж у контрольних рослин.

При тестуванні на солестійкість 15-добових рослин нуту шести сортів за умов гідропоніки показано, що активність СОД була найвищою у двох з них за контрольних умов. Для цих сортів зафіксовано максимальне (на 57,8% і 49,1%) збільшення активності СОД за сольового (NaCl) стресу найбільшої у даному експерименті тривалості (п'ять діб) та інтенсивності (100 мМ) (Rasool et al., 2013). Це поєднувалось із підвищенням активності інших ферментів антиоксидантного захисту – каталази, аскорбатпероксидази і глутатіонредуктази, а також зі зменшенням у порівнянні з іншими сортами вмістом малонового діальдегіду як показника рівня пероксидного окиснення ліпідів.

Висновки

Таким чином, наведені дані свідчать про взаємозв'язок між активністю СОД і особливостями фізіології рослин на різних етапах онтогенезу. Охарактеризовано особливості відповіді рослинних тканин на умови культивування *in vitro* залежно від активності СОД. Показано, що створені трансгенні рослини, які експресують гетерологічні гени різного походження, використовуються як моделі для вивчення активності СОД і можливостей її регуляції в нормі та за умов абіотичних стресів, а також як вихідний матеріал для селекції важливих сільськогоспо-

дарських культур на толерантність до цих несприятливих умов росту. Активність СОД може бути використана для первинного скринінгу рослин на толерантність до сольового стресу і водного дефіциту.

Стаття підготовлена при виконанні проекту «Створення посухостійких ліній рослин за допомогою надекспресії дріжджових генів біосинтезу трегалози», що виконується в межах цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Молекулярні та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства».

ЛІТЕРАТУРА

- Колупаєв Ю.Є., Обозний О.І.* Активні форми кисню і антиоксидантна система при перехресній адаптації рослин до дії абіотичних стресорів // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2013. – Вип. (3) 30. – С. 18-31.
- Arisi A.C.M., Cornic G., Jouanin L., Foyer C.H.* Overexpression of Iron superoxide dismutase in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO₂ partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methyl viologen // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 117. – P. 565-574.
- Bagnoli F., Capuana M., Racchi M.L.* Developmental changes of catalase and superoxide dismutase isoenzymes in zygotic and somatic embryos of horse chestnut // *Aust. J. Plant Physiol.* – 1998. – V. 25. – P. 909-913.
- Bai X., Liu J., Tang L., Cai H., Chen M., Ji W., Liu Y., Zhu Y.* Overexpression of *GsCBRLK* from *Glycine soja* enhances tolerance to salt stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa*) // *Funct. Plant Biol.* – 2013. – V. 40. – P. 1048-1056.
- Bowler C., van Montagu M., Inzé D.* Superoxide dismutase and stress tolerance // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1992. – V. 43. – P. 83-116.
- Bueno P., Varela J., Gimenez-Gallego G., del Rio L.A.* Peroxisomal copper, zinc superoxide dismutase. Characterization of the isoenzyme from watermelon cotyledons // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 108. – P. 1151-1160.
- Chatzidimitriadou K., Nianiou-Obeidat I., Madesis P., Perl-Treves R.* Expression of SOD transgene in pepper confers stress tolerance and improves shoot regeneration // *Electron. J. Biotechnol.* – 2009. – V. 12, № 4.
- Cheng Y.J., Deng X.P., Kwak S.S.* Enhanced tolerance of transgenic potato plants expressing choline oxidase in chloroplasts against water stress // *Bot. Stud.* – 2013. – V. 54:30.
- Choi S.M., Jeong S.W., Jeong W.J., Kwon S., Chow W., Park Y.I.* Chloroplast Cu/Zn-superoxide dismutase is a highly sensitive site in cucumber leaves chilled in the light // *Planta.* – 2002. – V. 216. – P. 315-324.
- Cohu C.M., Pilon M.* Regulation of superoxide dismutase expression by copper availability // *Physiol. Plant.* – 2007. – V. 129. – P. 747-755.
- Cui K., Xing G., Liu X., Gengmei X., Yafu W.* Effect of hydrogen peroxide on somatic embryogenesis of *Lycium barbarum* L. // *Plant Sci.* – 1999. – V. 146. – P. 9-16.
- Devi P.S., Satyanarayana B., Arundhati A., Rao T.R.* Activity of antioxidant enzymes and secondary metabolites during in vitro regeneration of *Sterculia urens* // *Biol. Plant.* – 2013. – V. 57. – P. 778-782.
- Diaz-Vivancos P., Barba-Espin G., Clemente-Moreno M.J., Hernandez J.A.* Characterization of the antioxidant system during the vegetative development of pea plants // *Biol. Plant.* – 2010. – V. 54. – P. 76-82.
- Dong C., Zhang Z., Ren J., Qin Y., Huang J., Wang Y., Cai B., Wang B., Tao J.* Stress-responsive gene *ICE1* from *Vitis amurensis* increases cold tolerance in tobacco // *Plant Physiol. Biochem.* – 2013. – V. 71. – P. 212-217.
- Dugas D.V., Bartel B.* Sucrose induction of Arabidopsis miR398 represses two Cu/Zn superoxide dismutases // *Plant Mol. Biol.* – 2008. – V. 67. – P. 403-417.
- Erdal S., Dumlupinar R.* Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants // *Acta Physiol. Plant.* – 2011. – V. 33. – P. 1011-1017.
- Faize M., Faize L., Petri C., Barba-Espin G., Diaz-Vivancos P., Clemente-Moreno M.J., Koussa T., Rifai L.A., Burgos L., Hernandez J.A.* Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase enhance in vitro shoot multiplication in transgenic plum // *J. Plant Physiol.* – 2013. – V. 170. – P. 625-632.
- Farooq M., Basra S.M.A., Wahid A., Cheema Z. A., Cheema M. A., Khaliq A.* Physiological role of exogenously applied glycinebetaine to improve drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.) // *J. Agronomy Crop Sci.* – 2008. – V. 194. – P. 325-333.
- Feng W., Hongbin W., Bing L., Jinfa W.* Cloning and characterization of a novel splicing isoform of the iron-superoxide dismutase gene in rice (*Oryza sativa* L.) // *Plant Cell Rep.* – 2006. – V. 24. – P. 734-742.
- Fridovich I.* Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas // *J. Biol. Chem.* – 1989. – V. 264. – P. 7761-7764.
- Giannopolitis C.N., Ries S.K.* Superoxide dismutases. II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings // *Plant Physiol.* – 1977. – V. 59. – P. 315-318.
- Gupta S.A., Webb R.P., Holaday A.S., Allen R.D.* Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress (Induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase-overexpressing plants) // *Plant Physiol.* – 1993. – V. 103. – P. 1067-1073.

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ОНТОГЕНЕЗІ РОСЛИН

- Hasanuzzaman M., Hossain A.M., Teixeira da Silva J.A., Fujita M. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor // Crop stress and its management: perspectives and strategies / Eds. Venkateswarlu B. et al. – Springer Netherlands, 2012. – P.261-315.
- He S., Han Y., Wang Y., Zhai H., Liu Q. In vitro selection and identification of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) plants tolerant to NaCl // Plant Cell Tiss Organ Cult. – 2009. – V. 96. – P.69-74.
- Hosseini M., Maali-Amiri R., Mahfoozi S., Fowler D.B., Mohammadi R. Developmental regulation of metabolites and low temperature tolerance in lines of crosses between spring and winter wheat // Acta Physiol Plant. – 2016. – V. 38:87.
- Houmani H., Rodríguez-Ruiz M., Palma J.M., Abdelly C., Corpas F.J. Modulation of superoxide dismutase (SOD) isozymes by organ development and high long-term salinity in the halophyte *Cakile maritima* // Protoplasma. – 2016. – V. 253. – P. 885-894.
- Jackson C., Dench J., Moore A. L., Halliwell B., Foyer C.H., Hall D.O. Subcellular localisation and identification of superoxide dismutase in the leaves of higher plants // Europ. J. Biochem. – 1978. – V. 91. – P. 339-344.
- Jiang J., Su M., Chen Y., Gao N., Jiao C., Sun Z., Li F., Wang C. Correlation of drought resistance in grass pea (*Lathyrus sativus*) with reactive oxygen species scavenging and osmotic adjustment // Biologia. – 2013. – V. 68. – P. 231-240.
- Jung S. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought // Plant Sci. – 2004. – V. 166. – P. 459-466.
- Karimi R., Ershadi A., Nejad A.R., Khanizadeh S. Abscisic acid alleviates the deleterious effects of cold stress on 'Sultana' grapevine (*Vitis vinifera* L.) plants by improving the anti-oxidant activity and photosynthetic capacity of leaves // J. Horticult. Sci. Biotechnol. – 2016. – V. 91. – P. 386-395.
- Karuppanapandian T., Moon J.-C., Kim C., Manoharan K., Kim W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms // Aust. J. Crop Sci. – 2011. – V. 5. – P. 709-725.
- Khan M.N., Siddiqui M.H., Mohammad F., Naeem M., Khan M.M.A. Calcium chloride and gibberellic acid protect linseed (*Linum usitatissimum* L.) from NaCl stress by inducing antioxidative defence system and osmoprotectant accumulation // Acta Physiol. Plant. – 2010. – V. 32. – P.121-132.
- Kim M.D., Kim Y.H., Kwon S.Y., Yun D.J., Kwak S.S., Lee H.S. Enhanced tolerance to methyl viologen-induced oxidative stress and high temperature in transgenic potato plants overexpressing the *CuZnSOD*, *APX* and *NDPK2* genes // Physiol. Plant. – 2010. – V. 140. – P. 153-162.
- Lee Y.P., Ahmad R., Lee H.S., Kwak S.-S., Shafiqat M.N., Kwon S.Y. Improved tolerance of Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase expressing transgenic tobacco seeds and seedlings against multiple abiotic stresses // Int. J. Agric. Biol. – 2013. – V.15. – P. 725-730.
- Li C., Han L.-B., Zhang X. Enhanced drought tolerance of tobacco overexpressing *OjERF* gene is associated with alteration in proline and antioxidant metabolism // J. Amer. Soc. Hort. Sci. – 2012. – V. 137. – P. 107-113.
- Libik M., Konieczny R., Pater B., Ślesak I., Miszalski Z. Differences in the activities of some antioxidant enzymes and in H₂O₂ content during rhizogenesis and somatic embryogenesis in callus cultures of the ice plant // Plant Cell Rep. – 2005. – V. 23. – P.834-841.
- Luo J.P., Jiang S.T., Pan L.J. Enhanced somatic embryogenesis by salicylic acid of *Astragalus adsurgens* Pall.: relationship with H₂O₂ production and H₂O₂-metabolizing enzyme activities // Plant Sci. – 2001. – V. 161. – P. 125-132.
- Luo X., Wu J., Li Y., Nan Z., Guo X., Wang Y., Zhang A., Wang Z., Xia G., Tian Y. Synergistic effects of *GhSOD1* and *GhCAT1* overexpression in cotton chloroplasts on enhancing tolerance to methyl viologen and salt stresses // PLoS ONE. – 2013. – V. 8, № 1. – e54002.
- Ma L., Xie L., Lin G., Jiang S., Chen H., Li H., Takáč T., Šamaj J., Xu C. Histological changes and differences in activities of some antioxidant enzymes and hydrogen peroxide content during somatic embryogenesis of *Musa AAA* cv. Yueyoukang 1 // Sci. Hortic. – 2012. – V. 144. – P. 87-92.
- Martinez C.A., Loureiro M.E., Oliva M.A., Maestri M. Differential responses of superoxide dismutase in freezing resistant *Solanum curtilobum* and freezing sensitive *Solanum tuberosum* subjected to oxidative and water stress // Plant Sci. – 2001. – V. 160. – P. 505-515.
- Martins L.L., Mourato M.P., Cardoso A.I., Pinto A.P., Mota A.M., Gonçalves M.L.S., de Varennes A. Oxidative stress induced by cadmium in *Nicotiana tabacum* L.: effects on growth parameters, oxidative damage and antioxidant responses in different plant parts // Acta Physiol. Plant. – 2011. – V.33. – P.1375-1383.
- Matamoros M.A., Loscos J., Dietz K.J., Aparicio-Tejo P.M., Becana M. Function of antioxidant enzymes and metabolites during maturation of pea fruits // J. Exp. Bot. – 2010. – V. 61. – P. 87-97.
- McCord J.M., Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein // J. Biol. Chem. – 1969. – V. 244. – P.6049-6055.
- Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. – 2002. – V. 7. – P. 405-410.
- Mittova V., Guy M., Tal M., Volokita M. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant rela-

- tive *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: increased activities of antioxidant enzymes in root plastids // *Free Radic. Res.* – 2002. – V. 36. – P.195-202.
- Mostofa M.G., Hossain M.A., Fujita M. Trehalose pretreatment induces salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings: oxidative damage and co-induction of antioxidant defense and glyoxalase systems // *Protoplasma.* – 2015. – V. 252. – P.461-475.
- Myouga F., Hosoda C., Umezawa T., Iizumi H., Kurotori T., Motohashi R., Shono Y., Nagata N., Ikeuchi M., Shinozaki K. A heterocomplex of iron superoxide dismutases defends chloroplast nucleoids against oxidative stress and is essential for chloroplast development in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* – 2008. – V. 20. – P. 3148-3162.
- Nath K., Kumar S., Poudyal R.S., Yang Y.N., Timilsina R., Park Y.S., Nath J., Chauhan P.S., Pant B., Lee C.H. Developmental stage-dependent differential gene expression of superoxide dismutase isoenzymes and their localization and physical interaction network in rice (*Oryza sativa* L.) // *Genes Genomics.* – 2014. – V. 36. – P. 45-55.
- Panda S.K., Khan M.H. Changes in growth and superoxide dismutase activity in *Hydrilla verticillata* L. under abiotic stress // *Braz. J. Plant Physiol.* – 2004. – V. 16. – P.115-118.
- Pandey P., Srivastava R.K., Dubey R.S. Water deficit and aluminum tolerance are associated with a high antioxidative enzyme capacity in Indica rice seedlings // *Protoplasma.* – 2014. – V. 251. – P. 147-160.
- Petrić M., Jevremović S., Trifunović M., Tadić V., Milošević S., Subotić A. Activity of antioxidant enzymes during induction of morphogenesis of *Fritillaria meleagris* in bulb scale culture // *Turk. J. Biol.* – 2014. – V. 38. – P. 328-338.
- Pilon M., Ravet K., Tapken W. The biogenesis and physiological function of chloroplast superoxide dismutases // *Biochim. Biophys. Acta. Bioenerg.* – 2011. – V. 1807. – P. 989-998.
- Pilon-Smits E.A.H., Ebskamp M.J.M., Paul M.J., Jeuken M.J.W., Weisbeek P.J., Smeekens S.C.M. Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 107. – P. 125-130.
- Qiao G., Zhou J., Jiang J., Sun Y., Pan L., Song H., Jiang J., Zhuo R., Wang X., Sun Z. Transformation of *Liquidambar formosana* L. via *Agrobacterium tumefaciens* using a mannose selection system and recovery of salt tolerant lines // *Plant Cell Tiss Organ Cult.* – 2010. – V. 102. – P.163-170.
- Racchi M.L., Bagnoli F., Balla I., Danti S. Differential activity of catalase and superoxide dismutase in seedlings and *in vitro* micropropagated oak (*Quercus robur* L.) // *Plant Cell Rep.* – 2001. – V. 20. – P. 169-174.
- Rasool S., Ahmad A., Siddiqi T.O., Ahmad P. Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress // *Acta Physiol Plant.* – 2013. – V. 35. – P. 1039-1050.
- Ribera-Fonseca A., Inostroza-Blancheteau C., Cartes P., Rengel Z., Mora M.L. Early induction of Fe-SOD gene expression is involved in tolerance to Mn toxicity in perennial ryegrass // *Plant Physiol. Biochem.* – 2013. – V. 73. – P. 77-82.
- Sakhno L. Interferon application causes canola seedling biomass increase// *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.* – 2014. – V. 3, № 6. – P.436-439: http://www.jmbfs.org/wp-content/uploads/2014/05/jmbfs_0612_sakhno.pdf.
- Sakhno L.O. Adaptive plasticity in osmotic stress of biotech canola (*Brassica napus* L.) possessing *cyp11A1* or simultaneously *desC* and *epsps* transgenes // *Наукові доповіді НУБіП.* – 2015. – № 5 (54): http://nd.nubip.edu.ua/2015_5/9.pdf.
- Sakhno L.O., Slyvets M.S. Superoxide dismutase activity in transgenic canola // *Cytol. Genet.* – 2014. – V. 48. – P. 145-149.
- Scandalios J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases // *Plant Physiol.* – 1993. – V. 101. – P. 7-12.
- Slyvets M., Sakhno L. Human interferon alpha 2b positively affects canola growth in both aseptic non-stress and water deficit conditions // *Int. J. Biosci. Nanosci.* – 2014. – V. 1, № 5. – P.104-118: http://ijbsans.com/journal14/oct14/MS-09-14-01_3.pdf.
- Srivastava V., Srivastava M.K., Chibani K., Nilsson R., Rouhier N., Melzer M., Wingsle G. Alternative splicing studies of the reactive oxygen species gene network in *Populus* reveal two isoforms of high-isoelectric-point superoxide dismutase // *Plant Physiol.* – 2009. – V. 149. – P. 1848-1859.
- Sultana T., Deeba F., Naz F., Rose R.J., Naqvi S.M.S. Expression of a rice *GLP* in *Medicago truncatula* exerting pleiotropic effects on resistance against *Fusarium oxysporum* through enhancing FeSOD-like activity // *Acta Physiol. Plant.* – 2016. – V. 38:255.
- Sun W.H., Wang Y., He H.G., Li X., Song W., Du B., Meng Q.W. Reduction of methyl viologen-mediated oxidative stress tolerance in antisense transgenic tobacco seedlings through restricted expression of *StAPX* // *J. Zhejiang Univ-Sci B (Biomed. Biotechnol.)*. – 2013. – V. 14. – P. 578-585.
- Sunkar R., Kapoor A., Zhu J. Posttranscriptional induction of two Cu/Zn superoxide dismutase genes in *Arabidopsis* is mediated by downregulation of miR398 and important for oxidative stress tolerance // *Plant Cell.* – 2006. – V.18. – P. 2051-2065.
- Susuki N., Miller G., Morales J., Shulaev V., Torres M.A., Mittler R. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2011. – V. 14. – P.691-699.

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ОНТОГЕНЕЗІ РОСЛИН

- Talukdar D., Talukdar T. Superoxide-dismutase deficient mutants in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.): genetic control, differential expressions of isozymes, and sensitivity to Arsenic // *BioMed Res. Int.* – 2013. – Article ID 782450, 11 pages: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/782450>.
- Tewari R.K., Kumar P., Sharma P.N. Oxidative stress and antioxidant responses of mulberry (*Morus alba*) plants subjected to deficiency and excess of manganese // *Acta Physiol. Plant.* – 2013. – V. 35. – P. 3345-3356.
- Trindade I., Capitão C., Dalmay T., Feveireiro M.P., dos Santos D.M. miR398 and miR408 are up-regulated in response to water deficit in *Medicago truncatula* // *Planta.* – 2010. – V.231. – P.705-716.
- van Breusegem F., Slooten L., Stassart J.-M., Botterman J., Moens T., van Montagu M., Inzé D. Effects of overproduction of tobacco MnSOD in maize chloroplasts on foliar tolerance to cold and oxidative stress // *J. Exp. Bot.* – 1999. – V. 50. – P. 71-78.
- Vatankhah E., Niknam V., Ebrahimzadeh H. Activity of antioxidant enzyme during *in vitro* organogenesis in *Crocus sativus* // *Biol. Plant.* – 2010. – V. 54. – P. 509-514.
- Vyšniauskienė R., Rancelienė V. Changes in the activity of antioxidant enzyme superoxide dismutase in *Crepis capillaris* plants after the impact of UV-B and ozone // *Sodininkyste ir Daržininkyste.* – 2008. – V. 27, № 2. – P. 209-214.
- Wang W.B., Kim Y.H., Lee H.S., Deng X.P., Kwak S.S. Differential antioxidation activities in two alfalfa cultivars under chilling stress // *Plant Biotechnol. Rep.* – 2009. – V. 3. – P.301-307.
- Wang X., Cai J., Liu F., Dai T., Cao W., Wollenweber B., Jiang D. Multiple heat priming enhances thermotolerance to a later high temperature stress via improving subcellular antioxidant activities in wheat seedlings // *Plant Physiol Biochem.* – 2014. – V. 74. – P.185-192.
- Xu L., Pan Y., Yu F. Effects of water-stress on growth and physiological changes in *Pterocarya stenoptera* seedlings // *Sci. Hortic-Amsterdam.* – 2015. – V.190. – P.11-23.
- Yang G., Wang Y., Xia D., Gao C., Wang C., Yang C. Overexpression of a *GST* gene (*ThGSTZ1*) from *Tamarix hispida* improves drought and salinity tolerance by enhancing the ability to scavenge reactive oxygen species // *Plant Cell Tiss Organ Cult.* – 2014. – V.117. – P. 99-112.
- Yang L., Zhao X., Zhu H., Paul M., Zu Y., Tang Z. Exogenous trehalose largely alleviates ionic unbalance, ROS burst, and PCD occurrence induced by high salinity in *Arabidopsis* seedlings // *Front. Plant Sci.* – 2014. – V. 5:570.
- Zaefyzadeh M., Quliyev R.A., Babayeva S.M., Abbasov M.A. The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces // *Turk. J. Biol.* – 2009. – V. 33. – P. 1-7.
- Zakharchenko N.S., Buryanov Ya.I., Lebedeva A.A. Physiological features of rapeseed plants expressing the gene for an antimicrobial peptide cecropin P1 // *Russ. J. Plant Physiol.* – 2013. – V. 60. – P. 411-419.
- Zaoui S., Gautier H., Bancel D., Chaabani G., Wasli H., Lachaâl M., Karray-Bouraoui N. Antioxidant pool optimization in *Carthamus tinctorius* L. leaves under different NaCl levels and treatment durations // *Acta Physiol. Plant.* – 2016. – V. 38. – Article 187.
- Zhang J., Li D.M., Gao Y., B. Yu B., Xia C.X., Bai J.G. Pretreatment with 5-aminolevulinic acid mitigates heat stress of cucumber leaves // *Biol. Plant.* – 2012. – V. 56. – P.780-784.
- Zhang L., Xi D., Luo L. Meng F., Li Y., Wu C., Guo X. Cotton GhMPK2 is involved in multiple signaling pathways and mediates defense responses to pathogen infection and oxidative stress // *FEBS J.* – 2011. – V. 278. – P. 1367-1378.
- Zhang S., Hu J., Zhang Y., Xie X.J., Knapp A. Seed priming with brassinolide improves lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress // *Austr. J. Agricult. Res.* – 2007. – V. 58. – P. 811-815.
- Zhang X., Wan Q., Liu F., Zhang K., Sun A., Luo B., Sun L., Wan Y. Molecular analysis of the chloroplast Cu/Zn-SOD gene (*AhCSD2*) in peanut // *Crop J.* – 2015. – V. 3. – P.246-257.
- Zhou B., Guo Z. Calcium is involved in the abscisic acid-induced ascorbate peroxidase, superoxide dismutase and chilling resistance in *Stylosanthes guianensis*// *Biol. Plant.* – 2009. – V. 53. – P. 63-68.
- Zhou L., Wang J., Bi Y., Wang L., Tang L., Yu X., Ohtani M., Demura T., Zhuge Q. Overexpression of *PtSOS2* enhances salt tolerance in transgenic poplars// *Plant Mol. Biol. Report.* – 2014. – V. 32. – P. 185-197.

Надійшла до редакції
15.01.2017 р.

САХНО

**SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY IN PLANT ONTOGENESIS
UNDER NORMAL AND ABIOTIC STRESS CONDITIONS**

L. O. Sakhno

*Institute of Food Biotechnology and Genomics
National Academy of Sciences of Ukraine
(Kyiv, Ukraine)
E-mail: sakhno2007@ukr.net*

Data about a role of the key enzyme of plant antioxidant system namely superoxide dismutase (SOD) in growth and development as well as in tolerance to abiotic stresses are summarized in this article. The interrelation between SOD activity and features of plant tissues cultivated under *in vitro* conditions was enlightened. The role of transgenesis in both investigation of SOD activity in abiotic stresses and possibilities of its regulation was demonstrated. It was proposed to use the SOD activity as a parameter for initial screening for plant tolerance to salinity and water deficit.

Key words: *plant antioxidant system, superoxide dismutase (SOD), salinity, water deficit, transgenesis*

**АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ
В ОНТОГЕНЕЗЕ РАСТЕНИЙ В НОРМЕ И ПРИ ДЕЙСТВИИ
АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ**

Л. А. Сахно

*Государственное учреждение «Институт пищевой биотехнологии и геномики» Национальной
академии наук Украины
(Киев, Украина)
E-mail: sakhno2007@ukr.net*

Обобщены сведения о роли ключевого фермента антиоксидантной системы растений – супероксиддисмутазы (СОД) – в процессах роста и развития, а также обеспечения толерантности к абиотическим стрессам. Показана взаимосвязь между активностью этого фермента и особенностями ответа растительных тканей на условия культивирования *in vitro*. Продемонстрирована роль трансгенеза в изучении активности СОД при абиотических стрессах и возможностях ее регуляции. Предложено использовать активность СОД для первичного скрининга растений на толерантность к солевому стрессу и водному дефициту.

Ключевые слова: *антиоксидантная система растений, супероксиддисмутаза (СОД), засоление, водный дефицит, трансгенез*