

ОГЛЯДИ

УДК 577.15:581.1

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ НЕЭНЗИМАТИЧЕСКИХ АНТИОКСИДАНТОВ РАСТЕНИЙ

© 2015 г. Ю. Е. Колупаев, Т. О. Ястреб

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

Рассмотрено участие неферментативных антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, глутатиона, токоферолов, каротиноидов, флавоноидов и пролина) в системе антиоксидантной защиты и адаптации растений к действию стресс-факторов. Особое внимание уделено функциональному взаимодействию низкомолекулярных антиоксидантов между собой и с ферментативными антиоксидантами. Коротко описаны функции антиоксидантов, не связанные с прямым обезвреживанием активных форм кислорода.

Ключевые слова: *неэнзиматические антиоксиданты, аскорбиновая кислота, глутатион, токоферол, каротиноиды, флавоноиды, пролин, активные формы кислорода, адаптация растений*

Около 2,7 млрд. лет назад в связи с эволюцией фотосинтеза цианобактерий в земной атмосфере появилось значительное количество кислорода (Halliwell, 2006). С тех пор образование и превращение активных форм кислорода (АФК) стало неотъемлемой составляющей аэробной жизни. Наличие в молекуле кислорода двух неспаренных электронов существенно ограничивает его реакционную способность. Однако в живых организмах в процессе эволюции сформировались специализированные ферментативные системы восстановления молекулярного кислорода посредством переноса на него одного, двух или трех электронов – оксидазы. Реакции с участием оксидаз являются одним из основных источников образования АФК (Путилина и др., 2008). АФК также образуются в качестве побочных продуктов различных метаболических путей, локализованных во многих клеточных компартментах, прежде всего в хлоропластах, митохондриях и пероксисомах (Gill, Tuteja, 2010). Одновременно с системами, генерирующими АФК, в ходе биохимической эволюции появились и системы их утилизирующие, названные антиоксидантными. Баланс образования и утилизации АФК

жестко регулируется большой сетью генов (Pucciarriello et al., 2012).

В настоящее время АФК рассматриваются как минимум в двух качествах – как ключевые регуляторы (компоненты сигнальных систем) и токсичные побочные продукты метаболизма (Gill, Tuteja, 2010; Колупаев, Карпец, 2014). Нарушение баланса между образованием и обезвреживанием АФК вызывает окислительные повреждения биомолекул и клеточных структур. Реакции растений на действие стрессоров сопровождаются как усилением образования АФК, так и активацией антиоксидантных систем. Предполагается, что взаимодействие АФК и антиоксидантов (АО) является важной составляющей сигналинга, регулирующей экспрессию генов и обеспечивающего адаптивную гибкость организма (Gill, Tuteja, 2010).

АО в живых организмах представлены обширной группой химически разнородных веществ, которые задерживают или ингибируют окисление субстратов, присутствуя в системе в значительно более низких концентрациях по сравнению с этими субстратами (Gutteridge, 1995). На рис. 1 представлены ключевые АО растений, обезвреживающие АФК, образующиеся из молекулярного кислорода.

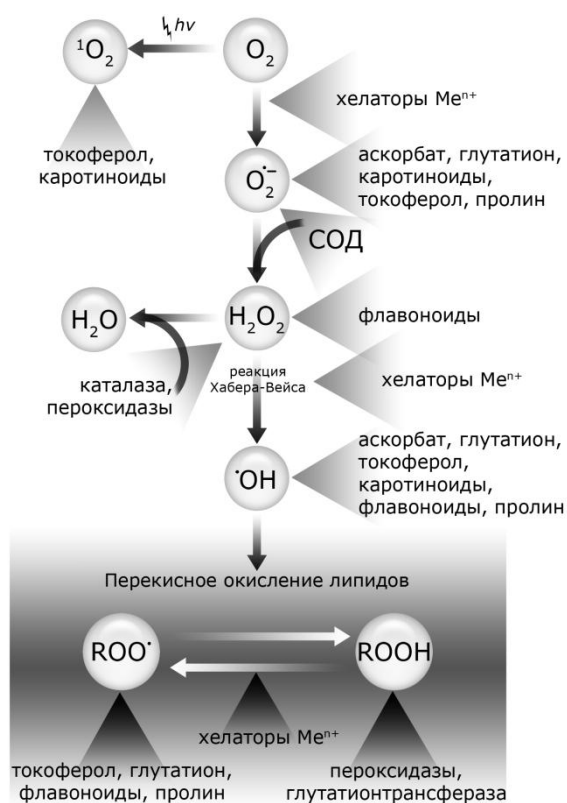


Рис. 1. Образование АФК в растительной клетке и их обезвреживание с помощью АО.

Как известно, по каталитической активности АО делятся на ферментативные и неферментативные. Ферментативные АО характеризуются высокой специфичностью действия, направленного против определенной формы активного кислорода, специфичностью клеточной локализации и использованием в качестве катализаторов преимущественно металлов с переменной валентностью (Fe, Mn, Cu) (Прадедова и др., 2011). Основными антиоксидантными ферментами являются супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, пероксидазы, ферменты аскорбат-глутатионового цикла, некоторые трансферазы (Gill, Tuteja, 2010; Колупаев и др., 2011; Прадедова и др., 2011).

Группа неферментативных АО значительно шире. К ним относятся аскорбиновая кислота, восстановленный глутатион, каротиноиды, токоферолы, флавоноиды, пролин, сахара и многие другие природные соединения. Особенности неферментативных АО являются их химическая разнородность, отсутствие строгой специфичности действия по отношению к конкретным АФК, способность нейтрализовать с АФК как самостоятельно, так и в ферментативных реакциях. Важной функцией низкомолекулярных АО является обезвреживание таких активных радикалов как $\text{HO}\cdot$, $\text{RO}\cdot$,

$\text{ROO}\cdot$ и др. (рис. 1), для элиминации которых не существует специализированных ферментов, подобных СОД или каталазе. Наряду с этим многие неферментативные АО помимо собственно антиоксидантной могут выполнять и ряд других функций: осморегуляторную, мембранопротекторную, шаперонную. В свою очередь типичные осмолиты могут выполнять и антиоксидантные функции, а также оказывать косвенное антиоксидантное действие, поддерживая структуру антиоксидантных ферментов (Колупаев и др., 2011; 2014). Наконец, для некоторых низкомолекулярных соединений, обладающих антиоксидантными свойствами, характерно участие в клеточном сигналинге и регуляции экспрессии генов, в т.ч. контролирующей антиоксидантные системы (Hossain et al., 2014). Полифункциональность низкомолекулярных АО, их сложное (как синергическое, так и антагонистическое) взаимодействие с ферментативными АО затрудняют понимание работы антиоксидантной системы в целом.

Задачей настоящего обзора явилось обобщение современных сведений о роли низкомолекулярных (неэнзиматических) АО в базовой и индуцированной устойчивости растений к действию стрессоров, их функциональном взаимодействии с ферментативными АО и участии в клеточном сигналинге.

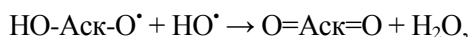
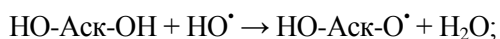
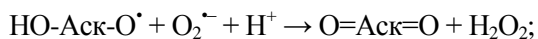
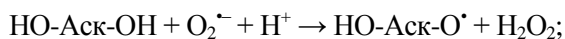
Аскорбиновая кислота

У растений аскорбат является самым распространенным низкомолекулярным АО и компонентом редокс-буферной системы (Chen, Daniel, 2005). В ходе эволюции растительного мира происходило постепенное увеличение содержания аскорбиновой кислоты. Так, у цианобактерий оно составляет ничтожное количество, у мхов и печеночников – 0,1-0,5, у водорослей – около 0,5, а у высших растений (*Arabidopsis thaliana*) – 5 мкмоль/г сырого вещества (Kaur, Naugar, 2014). Аскорбат локализуется в цитоплазме, хлоропластах, митохондриях, пероксисомах и апопласте (Noctor, Foyer, 1998; Asada, 1999). В хлоропластах находится 30-40% общего аскорбата, его концентрация в строме составляет около 50 мМ (Foyer, Noctor, 2005). В апопласте аскорбат является единственным редокс-буфером (Foyer, Noctor, 2009).

Аскорбиновая кислота обладает способностью взаимодействовать с радикальными АФК, синглетным кислородом и пероксидом водорода. Константа взаимодействия аскорбата с $\text{O}_2^{\cdot-}$ составляет $2,7 \cdot 10^5$, а с $\text{HO}\cdot$ – $7,2 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (Путилина и др., 2008). Отрыв одного электро-

на от аскорбиновой кислоты приводит к образованию семидегидроаскорбата (радикал аскорбата), который при дальнейшем окислении при отрыве второго электрона переходит в дегидроаскорбат.

Процесс взаимодействия аскорбиновой кислоты с АФК можно отобразить схемами:



где НО-Аск-ОН – дигидроаскорбиновая кислота, НО-Аск-О[·] – семидегидроаскорбат, O=Аск=O – дегидроаскорбат.

Защитный эффект аскорбиновой кислоты основан на том, что образующиеся при ее окислении промежуточные радикалы и молекулы химически менее активны по сравнению с радикалами АФК (Путилина и др., 2008). Восстановленная форма аскорбата способна не только непосредственно взаимодействовать с АФК, но и участвовать в восстановлении других низкомолекулярных антиоксидантов (α -токоферола, глутатиона) в ферментативных и неферментативных реакциях (Gill, Tuteja, 2010).

Синтез аскорбиновой кислоты у растений связан с превращениями L-галактозы (Foyer, Noctor, 2009). Ключевая особенность синтеза аскорбата у растений – локализация последнего фермента его образования (дегидрогеназы галактонолактона) в митохондриях. Этот энзим связан с митохондриальным комплексом I и функционально с комплексами III и IV (Millar et al., 2003). Таким образом, синтез аскорбата у растений зависит от активности дыхательной электрон-транспортной цепи (Millar et al., 2003).

В литературе накоплен довольно большой объем экспериментальных данных, свидетельствующих о роли аскорбиновой кислоты в защите растительных клеток от окислительных повреждений при действии стрессоров.

Так, показано, что у засухоустойчивых сортов пшеницы окислительные повреждения при засухе проявлялись в меньшей степени, чем у неустойчивых, при этом они отличались повышенным содержанием аскорбиновой кислоты и усиленной индукцией ферментов аскорбат-глутатионового цикла (Lascano et al., 2001). У засухоустойчивых сортов нута также отмечалось большее содержание аскорбиновой кислоты (Гунес и др., 2008). Повышенное количество аскорбиновой кислоты выявлено и у холодоустойчивых генотипов нута (Kumar et al., 2011).

Резистентные к холоду генотипы риса и ячменя отличались более высоким содержанием аскорбиновой кислоты по сравнению с чувствительными (Huang, Guo, 2005; Dai et al., 2009). При этом однако в указанных источниках сообщается и о более высоких показателях функционирования других протекторных систем у данных генотипов (повышенном содержании пролина, высокой активности антиоксидантных ферментов и пр.), что не позволяет четко оценить вклад аскорбиновой кислоты в защиту растений от последствий действия абиотических стрессоров.

Применение экзогенного предшественника аскорбиновой кислоты L-галактоно-1,4-лактона увеличивало пул аскорбиновой кислоты у растений пшеницы и повышало ее засухоустойчивость (Kaur, Nayyar, 2014). Под влиянием аскорбиновой кислоты у пшеницы в условиях засухи увеличивалась интенсивность транспирации (Malik, Ashraf, 2012). Участие аскорбиновой кислоты в регуляции состояния устьиц показано и молекулярно-генетическими методами. Так, растения с повышенной экспрессией дегидроаскорбатредуктазы отличались пониженным содержанием пероксида водорода в замыкающих клетках и большим процентом открытых устьиц (Chen, Gallie, 2004). Известно, что АБК-индуцированное закрытие устьиц происходит при посредничестве пероксида водорода как сигнальной молекулы, а количество последнего зависит от пула аскорбиновой кислоты (Pastori, Foyer, 2002). При этом повышение содержания аскорбиновой кислоты усиливает устьичную проводимость и транспирацию. Кроме того, аскорбиновая кислота непосредственно и как субстрат аскорбатпероксидазы защищает фотосинтетический аппарат от окислительных повреждений (Kaur, Nayyar, 2014).

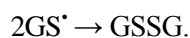
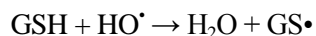
Под влиянием экзогенной аскорбиновой кислоты повышалась устойчивость проростков сои к никелю (Саиди-Сар и др., 2007). При этом в растениях, обработанных аскорбиновой кислотой, отмечалось не только снижение содержания продукта пероксидного окисления липидов (ПОЛ) малонового диальдегида, сохранение близкого к контрольному содержания хлорофилла, но и повышение активности антиоксидантных ферментов (не только зависимой от аскорбиновой кислоты аскорбатпероксидазы, но и каталазы и гваяколпероксидазы). Таким образом, не исключено, что аскорбиновая кислота прямо или косвенно защищала и компоненты самой антиоксидантной системы. Ряд других примеров, свидетельствующих о роли

аскорбиновой кислоты в устойчивости растений к тяжелым металлам, приведен в обзоре Kaur, Nayyar (2014).

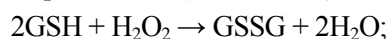
Глутатион

Глутатион (γ -Глу-Цис-Гли) представляет собой полифункциональный трипептид, присутствующий в значительных количествах в организме растений и животных. Его антиоксидантные свойства определяются как непосредственным взаимодействием с АФК и обменными реакциями с соединениями с дисульфидными связями, так и функционированием ряда ферментов глутатионового цикла, основные из которых глутатионпероксидаза и глутатион-S-трансфераза. Помимо непосредственной антиоксидантной функции глутатион выполняет сигнальные функции, участвует в регуляции редокс гомеостаза клетки (Szalai et al., 2009), в детоксикации ксенобиотиков, связывании тяжелых металлов (Tausz et al., 2004; Han et al 2013b).

Прямое антиоксидантное действие глутатиона (GSH) связано с его способностью перехватывать радикалы с образованием GS-радикала и последующей димеризацией в дисульфид (окисленную форму – GSSG):



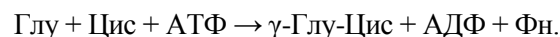
Помимо неэнзиматических реакций с АФК глутатион также обезвреживает пероксид водорода и органические пероксиды с участием глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9):



В настоящее время рассматривается два пути участия глутатиона в процессе детоксикации пероксида водорода в хлоропластах (Гришко, Сыщиков, 2012). В первом случае GSH восстанавливает пероксид водорода в реакции, катализируемой глутатионпероксидазой. Второй путь восстановления H_2O_2 связан с окислением аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбата под действием аскорбатпероксидазы. Образовавшийся дегидроаскорбат может восстанавливаться до аскорбиновой кислоты за счет окисления GSH неферментативным путем либо с участием дегидроаскорбатредуктазы или глутатиондегидрогеназы.

Синтез глутатиона у высших растений происходит при последовательном действии γ -глутамилцистеинсинтетазы и глутатионсинтетазы (Noctor et al., 2012). Начальный этап синтеза заключается в АТФ-зависимом образовании дипептида γ -глутамилцистеина из глутамин

стеина с участием γ -глутамилцистеинсинтетазы (КФ 6.3.2.2):



На втором этапе глицин под действием глутатионсинтетазы (КФ 6.3.2.3) присоединяется к С-терминальному участку γ -глутамилцистеина с образованием глутатиона. Для этой реакции также необходим гидролиз макроэргической связи АТФ:



Общая концентрация глутатиона в растениях варьирует в пределах 0,1-10 мМ (Wonish, Schaur, 2001). Основной пул глутатиона и ферментов его синтеза сосредоточен в хлоропластах, также GSH может синтезироваться в цитоплазме.

Зарегистрированы изменения содержания глутатиона и соотношения между его восстановленной и окисленной формами при действии стресс-факторов различной природы. Его количество в растениях сильно зависит от продолжительности действия стрессоров и их природы. Так, при умеренном действии засухи на растений яровой пшеницы было выявлено снижение общего и восстановленного глутатиона, при этом, однако, отношение GSH/GSSG увеличивалось (Chen et al., 2004). Также авторами показано повышение в ответ на засуху содержания предшественников глутатиона – цистеина и глутамилцистеина, а также активности ферментов глутамилцистеинсинтетазы, глутатионсинтетазы, и глутатионредуктазы, преобразующей GSSG в GSH.

В работе Wang et al. (2012) установлено, что у более засухоустойчивых генотипов риса снижение содержания GSH при засухе было менее заметным, чем у неустойчивых. Выявлена и положительная связь между теплоустойчивостью сортов пшеницы и содержанием восстановленного глутатиона (Sairam et al., 2000; Dash, Mohanty, 2002).

Исследования участия глутатиона в холодной адаптации биоэнергетического растения *Jatropha curcas* показали, что в условиях закаливания (при 12°C) происходило увеличение содержания GSH, а при последующем действии стрессовой температуры (1°C) у закаленных растений содержание глутатиона было значительно выше, чем у незакаленных (Ao et al., 2013). Показана также важная роль глутатиона и ферментов, катализирующих его синтез и превращения, у разных видов растений при солевом стрессе (Waskiewicz et al., 2014).

Во многих работах исследовано значение глутатиона в адаптации растений к действию

тяжелых металлов. Так, на растениях арабидопсиса показано, что ионы кадмия индуцировали повышение уровня мРНК генов ферментов, участвующих в синтезе глутатиона, и гена фитохелатинсинтазы (Semane et al., 2007). При этом однако регистрировалось значительное снижение содержания восстановленного глутатиона и одновременное увеличение содержания фитохелатинов. В настоящее время не вызывает сомнения, что при действии тяжелых металлов глутатион участвует не только в защите растений от окислительного стресса, но и в связывании ионов тяжелых металлов как исходный материал для синтеза фитохелатинов. Образование последних индуцируется действием на растения ионов кадмия, цинка, меди, ртути, свинца, сурьмы и других тяжелых металлов (Гришко, Сыщиков, 2012). Еще в 1989 году было показано, что синтез фитохелатинов происходит путем удлинения пептидной цепи глутатиона, которое катализируется специфическим энзимом – γ -глутамилцистеиндипептидазой (фитохелатинсинтазой, КФ 2.3.2.15) (Grill et al., 1989). Позднее были получены генетические доказательства существования этого фермента.

Отдельного рассмотрения заслуживает вопрос о роли глутатиона в клеточном редокс-сигналинге. Увеличение в клетках содержания пероксида водорода приводит к накоплению окисленного глутатиона и к повышению окислительно-восстановительного потенциала в системе, что служит сигналом, способствующим синтезу глутатиона *de novo* (Noctor et al., 2012). Модификация глутатионом окислительно-восстановительного потенциала клетки осуществляется посредством S-глутатионирования белков или путем окисления тиоредоксинов.

Глутатион как участник редокс-сигналинга задействован в трансдукции в генетический аппарат растительных клеток сигнала салициловой кислоты (Han et al., 2013a). Установлено, что у растений арабидопсиса дикого типа под действием экзогенного глутатиона усиливалась экспрессия гена *PR1*. Экзогенная салициловая кислота индуцировала экспрессию гена *PR1* у растений арабидопсиса дикого типа, в то время как у мутантов *cad2*, дефицитных по глутатиону, этот эффект проявлялся очень слабо.

Глутатион, по-видимому, также задействован в трансдукции сигналов жасмоновой кислоты. У мутантов арабидопсиса *cad2* отмечался низкий уровень экспрессии генов *VSP2* и *PDF1.2a*, контролируемых жасмоновой кисло-

той (Han et al., 2013b). У растений арабидопсиса дикого типа экспрессия этих генов снижалась при обработке ингибитором синтеза глутатиона бутионин сульфоксимином. Также установлено, что экзогенный глутатион стимулировал экспрессию жасмонат-зависимых генов *LOX3*, *JAZ10*, *VSP2* (Han et al., 2013b). Естественно, этими примерами не исчерпываются данные об участии глутатиона в клеточном сигналинге.

Таким образом, значение глутатиона в адаптивных реакциях растений может быть многогранным: связанным с собственно антиоксидантным действием, восстановлением тиольных групп в белковых молекулах, поддержанием пула аскорбиновой кислоты; обусловленным участием в трансдукции клеточных сигналов, а также в связывании тяжелых металлов и детоксикации ксенобиотиков (Szalai et al., 2009; Митева и др., 2010; Han et al., 2013a; b).

Токоферол

Токоферол (витамин Е) относится к жирорастворимым антиоксидантам. В зависимости от количества и положения метильных групп различают несколько токоферолов: α -, β -, γ - и δ -формы (Путилина и др., 2008). Токоферол образуется только фотосинтезирующими организмами, в том числе всеми высшими растениями, водорослями и цианобактериями (Quadrana et al., 2013; Waskiewicz et al., 2014). Его содержание у растений варьирует в широких пределах от 1 мкг/г сухого вещества в листьях до 0,1 мг/г в семенах (Munne-Bosch, Alegre, 2002). В вегетативных органах обычно накапливается α -токоферол, в то время как семена богаты γ -токоферолом, β - и δ -токоферолы менее распространенные (Velasco и др., 2013; Waskiewicz et al., 2014).

Биосинтез токоферола происходит в мембранах пластид из предшественников двух метаболических путей (DellaPenna, Pogson, 2006). Гомогентизиновая кислота, синтезирующаяся в цитозольном шикиматном пути, используется для образования бензольного кольца в токофероле (Herrmann, Weaver, 1999). Фитилдифосфат образует изопреновую цепь и синтезируется в пластидном метилэритритолфосфатном (МЭФ) пути (Estévez et al., 2001). В результате конденсации гомогентизиновой кислоты и фитилдифосфата с участием фермента гомогентизатфитилтрансферазы образуется 2-метил-6-фитил-1,4-бензохинон (МФБХ). Затем происходит метилирование МФБХ до 2,3-диметил-6-фитил-1,4-бензохинона (ДМФБХ) под действием МФБХ-

метилтрансферазы. Токоферолциклаза превращает МФБХ и ДМФБХ в γ - и δ -токоферолы, соответственно. Последний фермент на пути биосинтеза токоферола – γ -токоферолметилтрансфераза – катализирует превращение γ - и δ -токоферола в α - и β -токоферолы соответственно (DellaPenna, Pogson, 2006). Механизмы биосинтеза токоферола обстоятельно проанализированы в обзоре (Lushchak, Semchuk, 2012).

Функции токоферолов у растений состоят прежде всего в обезвреживании АФК и побочных радикальных продуктов окислительного стресса в липидной фазе. Кроме того, токоферолы эффективно нейтрализуют синглетный кислород: одна молекула токоферола, не повреждаясь, может нейтрализовать 120 молекул синглетного кислорода (Jaleel et al., 2009). При взаимодействии с другими АФК (супероксидным анион-радикалом, гидроксильным радикалом) α -токоферол превращается в α -токоферолхинон (Munne-Bosch, 2002). Показана возможность восстановления последнего в хлоропластах *A. thaliana* до α -токоферола (Kobayashi et al., 2008; Kruk et al., 2008).

Синтез токоферола индуцируется действием стрессоров и стрессовых фитогормонов, таких как жасмоновая, салициловая и абсцизовая кислоты (Szarka и др., 2012). Также показано, что биосинтез токоферола регулируется АФК, образующимися при фотосинтезе (Munne-Bosch et al., 2007). Нередко наблюдается двухфазный характер изменения содержания токоферола при реакции растений на действие стрессоров. На первом этапе происходит увеличение содержания α -токоферола, которое играет защитную роль, уменьшая уровни АФК. На втором этапе, когда стресс оказывается слишком сильным, деградация α -токоферола превышает его синтез (Waskiewicz et al., 2014). У фотосинтезирующих организмов изменения содержания токоферола были показаны в ответ на действие засухи, тяжелых металлов, засоления, избыточной освещенности (Collakova, DellaPenna, 2003; Ledford et al., 2004; Tounekti et al., 2011a, b; Waskiewicz et al., 2014).

Установлено участие токоферола в низкотемпературной адаптации растений. Так, токоферол-дефицитные мутанты арабидопсиса проявляли резкие изменения фенотипа при действии пониженной температуры (Maeda et al., 2006).

Получены данные, свидетельствующие о роли токоферолов в сигнальной трансдукции (Munne-Bosch et al., 2007). Так, показано, что

дефицит α -токоферола в растениях *Arabidopsis* может уменьшить их рост и индуцировать накопление антоцианов. У этих растений также зарегистрировано повышение содержания жасмоновой кислоты, что приводит к формированию соответствующих жасмонатных сигналов.

На растениях арабидопсиса, дефектных по синтезу токоферолов, показано, что их отсутствие в условиях солевого стресса компенсируется повышением содержания каротиноидов и антоцианов. В то же время у растений, которые синтезировали вместо α - γ -токоферол, усиливалась антиоксидантная защита за счет повышения активности СОД и ферментов аскорбат-глутатионового цикла (Semchuk et al., 2009; 2012).

Каротиноиды

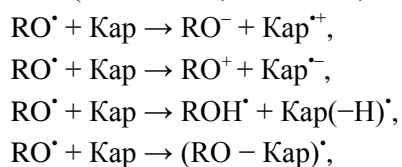
Наряду с токоферолами каротиноиды относятся фенольным антиоксидантам липидной фазы. К настоящему времени выделено и охарактеризовано более 600 каротиноидов (Путилина и др., 2008; Gill, Tuteja, 2010). Они имеют желтую, оранжевую, реже красную окраску. Большинство каротиноидов состоит из C_{40} -углеводородного радикала, содержащего сопряженные двойные связи. Именно эта система двойных связей выполняет функции хромофора и определяет спектральные свойства конкретных каротиноидов, которые имеют три или два максимума светопоглощения в диапазоне от 400 до 500 нм (Смоликова, Медведев, 2015). Каротиноиды встречаются как в свободном состоянии, так и в форме гликозидов; они способны нековалентно связываться с белками и мембранными липидами.

В зеленых органах растений каротиноиды локализируются в различных частях хлоропластов и в зависимости от этого могут выполнять разные функции. Каротиноиды, которые находятся в тилакоидных мембранах, участвуют в световых реакциях фотосинтеза и обеспечивают структурную стабильность пигмент-белковых светособирающих комплексов (Cuttriss et al., 2004). Каротиноиды, локализованные на мембранах хлоропластов, связаны с синтезом АБК и образованием апокаротиноидов – продуктов частичного разрушения каротиноидов (Shumskaya, Wurtzela, 2013). В гетеротрофных и запасующих органах и тканях высших растений каротиноиды обычно находятся в хромопластах. Каротиноиды также обнаружены в семенах всех высших растений (Смоликова, Медведев, 2015).

Антиоксидантные функции каротиноидов обусловлены их способностью предотвращать повреждения, вызываемые образованием триплетного хлорофилла и синглетного кислорода (Edge, Truscott, 2010).

При этом они могут либо принимать энергию возбуждения триплетного хлорофилла, а затем рассеивать ее в виде тепла, либо «гасить» молекулы синглетного кислорода (Смоликова, Медведев, 2015).

Наряду с этим каротиноиды могут связывать радикальные АФК, преимущественно пероксидные радикалы (Gill, Tuteja, 2010). Известно по меньшей мере четыре типа процессов, приводящих к перехвату свободных радикалов каротиноидами, результатом которых является образование стабильных каротиноидных радикалов (Смоликова, Медведев, 2015):



где $\text{Кар}^{+\bullet}$ и $\text{Кар}^{-\bullet}$ – катион- и анион-радикалы каротиноидов, образующиеся при переносе электрона, соответственно, от или к радикалу RO^\bullet ; $\text{Кар}(-\text{H})^\bullet$ – каротиноидный радикал, образующийся в результате передачи атома водорода; $(\text{RO} - \text{Кар})^\bullet$ – каротиноидный аддукт-радикал.

Предшественником каротиноидов является изопентенилпирофосфат, который в растениях может синтезироваться двумя независимыми метаболическими путями – глицеральдегидфосфат-пируватным или мевалонатным (Lichtenthaler, 1997). Синтез каротиноидов обстоятельно описан в обзоре (Смоликова, Медведев, 2015). Условно выделяют четыре этапа синтеза. На первом – происходит сборка «углеродных скелетов». Продуктом этого этапа является геранилгеранилпирофосфат. Второй этап связан с синтезом ликопина. На третьем – под действием ликопинциклаз происходит циклизация молекулы ликопина и образование циклических каротинов. Наконец, четвертый этап заключается в окислении каротинов и образовании ксантофиллов.

Показано, что синтез каротиноидов в растениях может индуцироваться самими АФК (Bouvier et al., 1998). Несмотря на очевидную роль каротиноидов в антиоксидантной защите растений, данные об изменении их содержания при действии стрессоров весьма противоречивы и плохо поддаются систематизации. Так, например, при действии кадмия на растения за-

регистрировано как повышение содержания каротиноидов, так и его снижение (Rai et al., 2005; Demirevska-Kerova et al., 2006; Gill, Tuteja, 2010). Подобные эффекты могут объясняться с одной стороны индукцией образования каротиноидов действием стресс-фактора, с другой – его усиленной деградацией при сильном стрессе.

Флавоноиды

Флавоноиды являются полифенольными соединениями растительного происхождения. Разнообразие флавоноидов огромно и составляет около восьми тысяч соединений (Тараховский и др., 2013). Известно, что до 20% фиксируемого при фотосинтезе углерода идет на образование полифенолов, среди которых значительное место занимают флавоноиды (Harborne, Williams, 2000; Ververidis et al., 2007). В клетках животных и человека флавоноиды не синтезируются, и их присутствие в тканях полностью зависит от потребления в пищу растительных продуктов (Тараховский и др., 2013).

Фенольный каркас флавоноидов состоит из 15 атомов углерода, образующих два ароматических кольца (А и В), соединенных через три углеродных атома. Обычно общую формулу флавоноидов представляют как $\text{C}_6 - \text{C}_3 - \text{C}_6$ (Тараховский и др., 2013). Классификация флавоноидов основана на различиях в структуре трех углеродных атомов, соединяющих бензольные кольца. На рис. 2 они обозначены номерами 2, 3 и 4. Отличительными характеристиками этой группы атомов являются возможность присутствия двойной связи, присоединение карбонильной или гидроксильной групп, а также способность образовывать пяти- или шестичленное гетероциклическое кольцо С (Тараховский и др., 2013). Кроме того, фенольные кольца могут присоединяться не только к концевым атомам углеродной цепи C_3 . В зависимости от особенностей структуры молекул в области атомов углерода 2, 3 и 4 (рис. 2) выделяют следующие классы флавоноидов: флаваны, флаванолы, флавоны, флавонолы, флаванолы, антоцианы, изофлавоны (изофлавоноиды), ауруны, неофлавоноиды, халконы.

Флавоноиды являются продуктами реакций на пересечении фенилпропаноидного и ацетатно-малонатного метаболических путей (Олениченко и др., 2008). Одним из основных компартиментов их синтеза являются хлоропласты. Огромное разнообразие флавоноидов достигается с помощью согласованного эффекта свыше 20 ферментов, которые, действуя пооче-

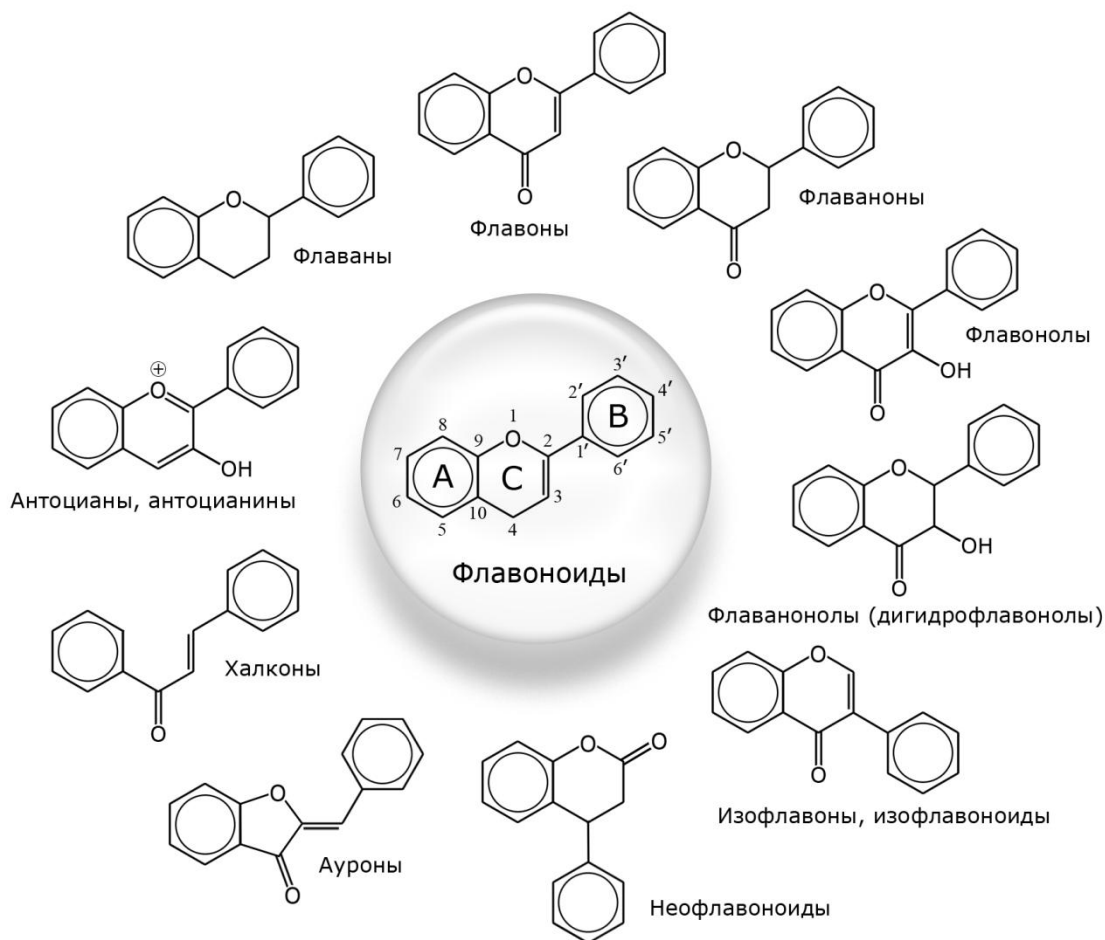


Рис. 2. Классификация флавоноидов, основанная на особенностях структуры молекул в области атомов углерода 2, 3 и 4. (По: Тараховский и др., 2013, с изменениями).

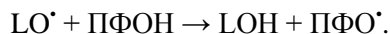
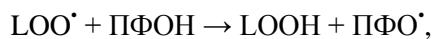
редно, сначала синтезируют халконы, а затем дают начало различным классам и различным представителям внутри каждого класса. Схемы их синтеза хорошо описаны в обзоре Winkel (2008).

Большинство флавоноидов (флавоны, флавонолы, ауруны, халконы, флаван-4-олы, катехины, лейкоантоцианидины, проантоцианидины) являются или пигментами, или предшественниками других флавоноидных пигментов. Желтую или оранжевую окраску имеют флавоны, гликозиды флавонолов, ауруны и халконы. Красно-коричневые пигменты представлены флабафенами (производными флаван-4-олов) или проантоцианидинами (производными катехинов и лейкоантоцианидинов). Широкую гамму пигментов от розового до красного, синего и фиолетового обеспечивают антоцианидины и их производные антоцианы (Хлесткина и др., 2014). При этом сами по себе катехины, лейкоантоцианины и флавонолы бесцветны, в связи с чем некоторые авторы вы-

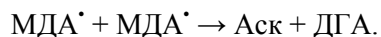
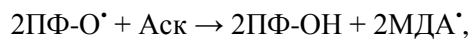
деляют отдельную группу бесцветных флавоноидов (Gould, Lister, 2006).

Все флавоноиды в той или иной степени участвуют в антиоксидантной защите клеток. В соответствии с общепринятой точкой зрения антиоксидантные свойства флавоноидов объясняются их способностью служить ловушками для свободных радикалов, а также хелатировать ионы металлов, участвующих в радикальных процессах (Es-Safi et al., 2007).

Полифенольные соединения (ПФ) способны взаимодействовать с гидроксильным (LO^{\bullet})- и пероксильным (LOO^{\bullet})-радикалами липидов благодаря их способности отдавать электрон (или атом водорода). В результате образуются радикалы фенолов – феноксилы, которые не участвуют в распространении окислительного процесса. Это связано с уникальной структурой их молекулы, в которой происходит стабилизация электронного облака (Тараховский и др., 2013):



Кроме того, возможно восстановление окисленных полифенолов, которое может происходить разными путями. Например, с участием аскорбиновой кислоты (Аск). В результате, образуется радикал монодигидроаскорбата (МДА[•]), который превращается в аскорбиновую кислоту и дегидроаскорбиновую кислоту (ДГА) (Тараховский и др., 2013):



В настоящее время не существует общей теории, позволяющей связать структуру флавоноидов с их антиоксидантной активностью, однако предполагается, что существует специализация флавоноидов в защите организма от различных повреждающих агентов. При этом неверно утверждать, что какие-то флавоноиды более эффективны, чем другие, не учитывая конкретных условий эксперимента и особенностей окислителя (Тараховский и др., 2013). В то же время в сравнительных экспериментах получены данные об очень высокой антиоксидантной активности флавоноидов, во многом превосходящей активность других АО. Так, показано, что эффективность взаимодействия флавоноидов с АФК и активными формами азота в четыре раза выше, чем у аскорбиновой кислоты и α -токоферола (Khlestkina et al., 2013). Отдельно следует отметить высокую антиоксидантную активность антоцианов, в т.ч. их бесцветных таутомеров, которые способны эффективно деактивировать супероксидные анион-радикалы (Neill, Gould, 2003).

Флавоноиды накапливаются в основном в вакуолях, в связи с чем в литературе дискутируется вопрос о том, насколько велик их вклад в работу антиоксидантной системы растительных клеток. В то же время флавоноидные соединения выявлены и в других компартментах, в т.ч. в хлоропластах и ядре (Khlestkina, 2013). С другой стороны, и флавоноиды, локализованные в вакуоли, могут участвовать в детоксикации пероксида водорода, который может транспортироваться в этот компартмент (Gould, Lister, 2006).

Помимо прямого взаимодействия с АФК флавоноиды в растениях могут оказывать косвенное антиоксидантное действие. Важным их эффектом является поглощение избыточной световой энергии, особенно в области УФ В (280-315 нм) (Deckmyn, Impens, 1997; Treutter, 2006; Bilger et al., 2007), что предотвращает

светоиндуцируемые окислительные повреждения. Функции защиты фотосинтетического аппарата растений от избыточной освещенности выполняют и антоцианы. При сильной освещенности антоцианы служат оптическим фильтром, предохраняющим от высокоэнергетических квантов уже насыщенную фотосинтетическую электрон-транспортную цепь и повышают поглощение солнечной энергии в пределах видимой области (380-700 нм) в среднем на 8-12%. Поэтому антоцианы причисляют к нефотохимическим защитным механизмам, наряду с каротиноидами (Макаревич и др., 2010). Антоцианы защищают листья при фотосинтезе путем абсорбции избыточных фотонов, которые могли бы быть поглощены хлорофиллом *b*. Хотя в целом красные листья поглощают больше света, их фотосинтетические ткани получают меньше квантов, чем зеленые листья, т.к. энергия, поглощенная вакуолью, где локализованы антоцианы, не может быть передана хлоропластам (Gould et al., 2002).

Как уже отмечалось, косвенное антиоксидантное действие флавоноидов может быть связано с их способностью образовывать комплексы с ионами металлов с переменной валентностью и тем самым предотвращать неферментативное образование АФК (Khlestkina, 2013).

Изменение содержания флавоноидов в растениях зарегистрировано при действии стрессоров различной природы. Так, установлено повышение содержания антоцианов и флавоноидов, имеющих максимум светопоглощения при 350 нм, у растений арабидопсиса при действии низкой температуры и избыточного освещения (Navaux, Kloppstech, 2001; Munne-Bosch et al., 2002). У растений огурца зарегистрировано увеличение содержания флавоноидов, поглощающих длину волны около 300 нм, в ответ на облучение УФ В (Kondo, Kawashima, 2000). Примечательно, что у растений гороха под действием УФ В синтез флавоноидов индуцировался и в этиолированных тканях (Jordan et al., 1994). При действии УФ-В и дефицита азота, а особенно при сочетании влияния этих стрессоров, содержание флавоноидов повышалось в растениях ржи (Deckmyn, Impens, 1997). У растений арабидопсиса синтез флавоноидов также индуцировали недостатком азота. Установлено, что ключевыми транскрипт-факторами, участвующими в этом процессе, являются MYB и bHLH (Lea et al., 2007).

Об особой роли флавоноидов в защите растений от повреждений УФ-В свидетель-

ствуют и данные о защитном действии экзогенных флавоноидов на устойчивость семядолей огурца к данному виду излучений (Sergiev et al., 2005).

При низкотемпературной адаптации растений пшеницы (действии закаливающих температур) отмечалось существенное повышение содержания флавоноидов, особенно у морозоустойчивого сорта (Олениченко и др., 2008). При незначительном снижении температуры у растений сорго индуцировался синтез антоцианов (Shichijo, 1993). Похожий эффект наблюдали и у растений кукурузы (Christie et al., 1994). Более того, после переноса растений, испытывавших действие пониженных температур, в оптимальные условия происходило дополнительное увеличение содержания антоцианов. В антиоксидантной защите при холодовом стрессе задействованы как антоцианы, так и бесцветные флавоноиды. Так, у боярышника охлаждением индуцировался синтез эпикатехина и гиперозида (Gould, Lister, 2006). С другой стороны, при действии низких повреждающих температур у растений пшеницы и картофеля зарегистрировано снижение содержания флавоноидов, что связывают с их окислительной деградацией (Загоскина и др., 2011; Павлючкова и др., 2014).

У растений базилика камфорного (*Ocimum basilicum* L.), полыни (*Artemisia lericheana* Web.) и чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) в ответ на действие УФ-В, засоление, а также совместное влияние двух факторов происходило значительное увеличение содержания антоцианов. При этом отмечались видовые особенности: стресс-индуцированное увеличение содержания антоцианов у чернушки во много раз превосходило соответствующие величины у базилика и полыни (Радюкина и др., 2012). В то же время у растений, накапливающих большое количество низкомолекулярных АО, изменения активности антиоксидантных ферментов были менее существенными. Авторами сделано заключение о ведущей роли неэнзиматических АО в защите от окислительного стресса у исследуемых лекарственных растений.

Вероятно, не все стрессовые воздействия вызывают изменения содержания флавоноидных соединений. Так, у 7-дневных зеленых проростков тритикале не выявлено изменения содержания антоцианов после 3-часового воздействия температуры 42°C (Абрамчик и др., 2014). В то же время при сочетанном действии гипертермии и водного дефицита на проростки ячменя в них увеличивалось содержание анто-

цианов (Кабашникова и др., 2013). Синтез кверцетина выявлен в ответ на тепловой стресс у растений огурца (Gould, Lister, 2006).

Под влиянием тяжелых металлов в растениях зарегистрировано как повышение, так и снижение содержания флавоноидов (Treutter, 2006; Khlestrina, 2013). Противоречивость этих результатов, по-видимому, может быть объяснена тем, что при действии тяжелых металлов наряду с индуцированием синтеза флавоноидных соединений может происходить их трата на связывание ионов тяжелых металлов. Подобный эффект зарегистрирован у растений ячменя при действии кадмия (Lachman et al., 2005).

В некоторых работах отмечается связь между устойчивостью сортов культурных растений к тем или иным стрессорам и содержанием в них флавоноидов (Treutter, 2006). Так, показано, что у более морозоустойчивого сорта пшеницы содержание флавоноидов после холодового закаливания было значительно более высоким по сравнению с неустойчивым. При этом у незакаленных растений подобные различия не проявлялись (Олениченко и др., 2008).

Механизмы регуляции содержания флавоноидов у растений остаются изученными не полностью. В то же время установлены структурные гены биосинтеза флавоноидов у ряда растений, в т.ч. пшеницы (Хлесткина и др., 2014), показано и участие ряда регуляторных генов, в частности, генов транскрипт-факторов MYB, MYC и WD40 (Хлесткина и др., 2014).

Мало известно об участии сигнальных и гормональных посредников в индуцировании синтеза флавоноидов. В экспериментах с проростками *Alternanthera bettzickiana* показано, что их обработка антагонистом кальмодулина хлорпромазином препятствовала накоплению флавоноидов, индуцируемому действием пониженной температуры, что свидетельствует о роли кальмодулина в этом процессе (Wang et al., 2005). В работе Solfanelli et al. (2006) получены экспериментальные доказательства участия сахарозы в индукции синтеза флавоноидов у арабидопсиса. Показана индукция синтеза антоцианов у арабидопсиса экзогенной жасмоновой кислотой (Li et al., 2014). Подобный эффект проявлялся только на свету.

Есть основания полагать, что сами флавоноиды могут выполнять роль сигнальных соединений. В связи с этим прежде всего упоминают их участие в процессах индуцирования симбиоза азотфиксирующих бактерий с бобовыми (Treutter, 2006). Можно предположить,

что как АО флавоноиды могут участвовать в модуляции АФК-сигналов. Правда, в растительных клетках, где синтезируются флавоноиды, подобные эффекты почти не изучены. К тому же преимущественно вакуолярную локализацию флавоноидов трудно ассоциировать с процессами трансдукции сигналов АФК в генетический аппарат. В то же время показано, что кемпферол способен взаимодействовать с цитоплазматической субъединицей НАДФН-оксидазы животных и ингибировать ее, предотвращая сигнальные эффекты окислительного стресса (Тараховский и др., 2013).

Таким образом, флавоноиды выполняют разнообразные физиологические функции, многие из которых, по-видимому, прямо или косвенно связаны с их антиоксидантными эффектами. При этом их можно рассматривать в качестве полифункциональных протекторов растительных клеток, поскольку помимо антиоксидантной функции они могут выполнять роль осмопротекторов, связывать тяжелые металлы, экранировать избыточное освещение и, возможно, участвовать в передаче клеточных сигналов (Khlestkina, 2013).

Пролин

Пролин – один из наиболее многофункциональных стрессовых метаболитов растений. В настоящее время считается, что помимо известной функции совместимого осмолита, пролин выполняет антиоксидантные функции (Szabados, Savoure, 2009). Также пролин рассматривается как низкомолекулярный шаперон (Liang et al., 2013), который может участвовать в поддержании нативной структуры ферментов, в т.ч. антиоксидантных.

Структурные особенности пролина позволяют рассматривать возможность прямой инактивации его молекулами радикальных форм кислорода. Так, эта иминокислота может образовывать устойчивый радикал, поскольку содержит третичный углеродный атом. Образование такого устойчивого радикала приводит к «гашению» или обрыву каскада свободнорадикальных реакций, запускаемых супероксид-радикалом, пероксид-радикалом или гидроксил-радикалом. Антирадикальное действие пролина проявлялось в системе *in vitro* при реакции со свободным стабильным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (Okuma et al., 2004). Показано, что при pH 7-8 свободный пролин может прямо реагировать с пероксидом водорода, гидроксильным радикалом и синглетным кислородом с образованием стабильных свободных радикалов – аддуктов произ-

водных пролина и гидроксипролина (Liang et al., 2013). В то же время прямая реакция между пероксидом водорода и пролином возможна при довольно высоких концентрациях последнего (Kumar et al., 2012), что ставит под сомнение значение этого процесса в клетках растений. Как отдельная причина антиоксидантного действия пролина рассматривается его способность связывать ионы металлов с переменной валентностью и тем самым ограничивать неферментативные свободнорадикальные процессы (Liang et al., 2013). Подробно механизмы антиоксидантного действия пролина рассмотрены в работах Kumar et al. (2012), Liang et al. (2013), а также в нашем недавнем обзоре (Колупаев и др., 2014).

Пролин в растениях может синтезироваться двумя путями – из глутамата или орнитина. Считается, что синтез пролина, индуцированный действием стрессоров, происходит в основном по глутаматному пути (Liang et al., 2013). Ключевым ферментом этого пути является Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатсинтаза (П5КС, КФ 2.7.2.11/1.2.1.41). Конечный продукт реакции, катализируемой этим ферментом – Δ^1 -пирролин-5-карбоновая кислоты (П5К), которая затем восстанавливается до пролина с помощью НАДФН-зависимой Δ^1 -пирролин-5-карбоксилат-редуктазы (П5КР, КФ 1.5.1.2). Указанные ферменты выявлены в цитоплазме и хлоропластах. В орнитиновом пути П5К образуется из орнитина с участием орнитин- δ -аминотрансферазы (ОАТ, КФ 2.6.1.13). Этот процесс у растений происходит в митохондриях (Szabados, Savoure, 2009) Его вклад в синтез пролина до сих пор остается предметом дискуссии (см. обзор: Колупаев и др., 2014).

Дегградация пролина происходит в митохондриях путем последовательного окисления пролиндегидрогеназой (ПДГ, КФ 1.5.99.8) до П5К и затем пирролин-5-карбоксилат-дегидрогеназой (ПКДГ, КФ 1.5.1.12) до глутамата. При этом скорость дегградации пролина определяется активностью ПДГ (Liang et al., 2013).

Во многих исследованиях сообщается о повышении содержания пролина в растениях в ответ на действие стрессоров различной природы (Колупаев и др., 2014; Hossain et al., 2014). Так, при длительной холодной акклимации ржи содержание пролина возрастало почти в 10 раз (Koster et al., 1992). С другой стороны, проростки ржи, которые, в отличие от морозостойких сортов пшеницы, проявляли конститутивную морозоустойчивость, содержали большее

количество этой аминокислоты (Колупаев и др., 2015). Сорт клубники, накапливающий большее количество пролина, был более устойчив к низким температурам и сохранял активность антиоксидантных ферментов при действии гипотермии (Luo et al., 2011).

Значение пролина как фактора, важного для выживания при действии стрессоров, также удалось подтвердить в экспериментах с трансгенными растениями. Например, растения табака, экспрессирующие ген П5КС *Vigna aconitifolia*, накапливали в 10-18 раз больше пролина по сравнению с контрольными растениями и характеризовались высокой солеустойчивостью (Kavi Kishor et al., 2005). У растений сахарного тростника, также трансформированных геном П5КС из *Vigna aconitifolia*, в условиях засухи окислительные повреждения проявлялись значительно слабее, чем у контрольных растений (Molinari et al., 2007). Растения-регенеранты подсолнечника, несущие двухцепочечный РНК-супрессор ПДГ, отличались повышенным содержанием пролина и высокой устойчивостью к осмотическому стрессу, способностью сохранять пул фотосинтетических пигментов в условиях почвенной засухи (Комисаренко и др., 2015).

Отмечается положительное влияние экзогенного пролина на устойчивость растений к стрессорам. Так, экзогенный пролин способствовал прорастанию семян вигны при действии низких температур и уменьшал содержание в проростках продукта ПОЛ малонового диальдегида (Posmyk, Janas, 2007). Под влиянием пролина повышалась теплоустойчивость растений нута (Kaushal et al., 2011). В то же время в наших экспериментах выявлено, что экзогенный пролин (1 мМ) препятствовал развитию теплоустойчивости проростков, индуцированному кратковременным закалывающим прогревом. При этом пролин снимал эффект увеличения содержания пероксида водорода в корнях проростков пшеницы, вызываемый действием повышенной температуры (Вайнер и др., 2014а). Предполагается, что таким образом пролин препятствовал передаче АФК-сигнала, индуцирующего развитие теплоустойчивости.

В настоящее время становится популярной гипотеза, согласно которой пролин может выступать в качестве метаболического сигнала, регулирующего окислительно-восстановительный гомеостаз и экспрессию некоторых генов стрессового ответа (Hossain et al., 2014). В то же время экспериментальных доказательств участия пролина в регуляции экспрессии генов,

причастных к адаптивным реакциям растений, пока недостаточно. При этом зафиксировано немало феноменов, которые не вписываются в классические представления о пролине как пассивном осмолите.

В работе Nounjan, Theerakulpisut (2012) показано уменьшение содержания пероксида водорода в 6-дневных проростках риса при солевом стрессе под влиянием экзогенного пролина. При этом пролин оказывал влияние и на активность ключевых антиоксидантных ферментов. В варианте с пролином увеличение активности СОД и аскорбатпероксидазы, вызываемое NaCl, было менее существенным, чем в варианте без обработки пролином. В постстрессовый период, наоборот, в варианте с предобработкой пролином активность этих ферментов была выше. Эти данные косвенно указывают на неоднозначное влияние пролина на экспрессию генов антиоксидантных ферментов.

В последнее время получены данные о вовлечении пролина в регуляцию экспрессии генов антиоксидантных ферментов и с использованием молекулярно-генетических подходов. У трансформированных гибридов грейпфрута и понцируса, дефектных по синтезу П5КС, отмечалась усиленная экспрессия генов разных форм аскорбатпероксидазы, Fe-СОД, Mn-СОД и хлоропластной глутатионредуктазы в физиологически нормальных условиях и при водном стрессе (Carvalho et al., 2013). Можно полагать, что в данном случае пролин выступает в роли негативного регулятора экспрессии генов антиоксидантных ферментов.

В наших исследованиях показано, что обработка проростков пролином нивелировала вызываемое кратковременным тепловым закалыванием повышение активности антиоксидантных ферментов – СОД, аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы (Вайнер и др., 2014в). В то же время при обработке проростков 1 мМ валином подобных эффектов не наблюдалось.

Иные результаты были получены при исследовании влияния пролина на активность антиоксидантных ферментов в листьях проростков проса при солевом стрессе и в физиологически нормальных условиях. Обработка экзогенным пролином не влияла на активность ферментов в физиологически нормальных условиях, однако способствовала сохранению повышенной активности СОД и гваяколпероксидазы в условиях солевого стресса, что может быть обусловлено непосредственным протек-

торным действием пролина на молекулы ферментов (Вайнер и др., 2014б).

Установлено, что пролин обладает способностью предотвращать образование агрегатов белковых молекул при действии денатурирующих агентов (Samuel et al., 2000). Показано его защитное влияние на нитратредуктазу растений риса, подвергнутых действию осмотического стресса и алюминия (Sharma, Dubey, 2005). В условиях *in vitro* пролин восстанавливал активность РНКазы проростков риса после денатурирующего действия арсенита на этот белок (Mishra, Dubey, 2006). В культурах клеток показано повышение экзогенным пролином активности СОД, каталазы, ферментов аскорбат-глутатионового цикла при действии засоления, ионов кадмия, агентов окислительного стресса (Chen, Dickman, 2005; Hoque et al., 2006; Islam et al., 2009; Xu et al., 2009). В системе *in vitro* показано, что пролин в концентрациях 200-500 мкМ способствовал сохранению активности малатдегидрогеназы при действии 100 мМ хлорида натрия (Гринин, 2010).

В целом пролин, по-видимому, оказывает многогранное действие на функционирование растений в стрессовых условиях. При этом многие его эффекты обусловлены прямым и косвенным влиянием на про-/антиоксидантное равновесие в клетках. В то же время следует отметить, что пролин может оказывать не только антиоксидантное, но и прооксидантное действие. Катаболизм пролина в митохондриях может вызывать усиление образования АФК (Miller et al., 2009). У растений арабидопсиса при реакции сверхчувствительности на инфицирование авирулентными патогенами (например, *Pseudomonas syringae*) накопление пролина сопровождалось последующим усилением экспрессии гена ПДГ, повышением активности этого фермента и, как следствие, увеличением количества П5К (Secchini et al., 2011). Показано, что в сочетании с АФК П5К может быть триггером апоптоза (Deuschle et al., 2004; Fabro et al., 2004).

Заключение

Антиоксидантная система растений (и, по-видимому, других аэробных организмов) является сложной и многокомпонентной. Особенности ее функционирования состоят в многостадийных эффектах, включающих аддитивные, синергические и антагонистические взаимодействия между АО (Прадедова и др., 2011). Особенно сложной и разнообразной является неэнзиматическая составляющая антиоксидантной системы. Ее многочисленные компо-

ненты оказывают как прямое, так и косвенное антиоксидантное действие, в основе которого могут быть мембранопротекторные, шаперонные, сигнально-регуляторные и другие эффекты (Колупаев и др., 2014). Помимо рассмотренных в настоящем обзоре классических АО – аскорбиновой кислоты, глутатиона, токоферолов, каротиноидов, флавоноидов и полифункционального стрессового метаболита пролина, антиоксидантные функции могут выполнять и другие соединения – некоторые аминокислоты, в особенности серусодержащие (Чистяков, 2008), сахара (Синькевич и др., 2009), полиамины (Кузнецов и др., 2006) и пр. В последние годы разрабатывается гипотеза, согласно которой протекторным потенциалом обладают не только АО, но и значительное число веществ, индуцирующих образование устойчивых к АФК конформаций макромолекул (Чистяков, 2008), а также соединений, задействованных в восстановлении поврежденных АФК физиологически важных молекул (Прадедова и др., 2011). Предполагается, что антиоксидантная система зарегулирована множеством вертикальных и горизонтальных связей, образуя «функционально упругую» сетевую структуру, напоминающую паутину (Чистяков, 2008).

Характер функционального взаимодействия АО растений до сих пор изучен слабо, это касается как взаимоотношений между низкомолекулярными АО, так и их влияния на активность и экспрессию генов антиоксидантных ферментов. Антиоксидантной системе присуща избыточность компонентов, однако их взаимная регуляция, по-видимому, позволяет клетке находить оптимальную «цену адаптации» к окислительному стрессу. Недостаток одних АО может быть компенсирован наличием других. Например, у линии арабидопсиса *vte1*, дефектной по синтезу всех четырех форм токоферолов (α , β , γ и δ), отмечалось повышение содержания других низкомолекулярных АО – каротиноидов, антоцианов и глутатиона (Semchuk et al., 2009). При действии солевого и окислительного стрессов у линии *vte4*, дефектной по синтезу α и β -токоферолов, происходило более существенное повышение активности СОД и ферментов аскорбат-глутатионового цикла (Semchuk et al., 2012).

В то же время есть примеры снижения активности отдельных антиоксидантных ферментов при генетических трансформациях либо экзогенных воздействиях, увеличивающих содержание низкомолекулярных соединений. Так, у растений картофеля, трансформированных

геном дрожжевой инвертазы и накапливающих повышенное количество сахаров в листьях, а также у растений дикого типа, выращиваемых на среде с сахарозой, отмечалась более низкая активность СОД, чем у контрольных (Синькевич и др., 2009). Предполагается, что это связано со способностью сахарозы связывать радикальные АФК, т.е. СОД и сахара рассматриваются как функционально взаимозаменяемые компоненты антиоксидантной системы. Выше приводились примеры отрицательного влияния пролина на активность и экспрессию генов антиоксидантных ферментов. С другой стороны, имеются примеры повышения под влиянием экзогенного пролина содержания других низкомолекулярных АО – аскорбиновой кислоты и глутатиона (Kaushal et al., 2011). Одним из объяснений подобных эффектов может быть свойство пролина перехватывать АФК и тем самым способствовать сохранению пула низкомолекулярных АО.

Вклад различных компонентов АО системы в защиту от окислительного стресса может иметь видовые особенности. По-видимому, это проявляется при адаптации злаков к действию низких температур. Так, конститутивная морозоустойчивость ржи, проявляющаяся без закаливания, может быть обусловлена высоким базовым содержанием низкомолекулярных протекторов – сахаров и особенно пролина (Колупаев и др., 2015). При этом у незакаленных проростков ржи проявлялась и устойчивость к окислительным повреждениям, вызываемым промораживанием, что выражалось в отсутствии характерного для других видов злаков повышения содержания продуктов ПОЛ. В проявлении морозоустойчивости проростков мягкой пшеницы, по-видимому, также играют роль сахара и пролин, однако увеличение их содержания, необходимое для достижения определенного уровня морозоустойчивости, происходит только после воздействия закаливающих температур. Также установлено, что особенностью морозоустойчивых злаков является их способность к накоплению пролина при действии отрицательных температур. Возможно, что пролин, проявляя упомянутые выше свойства молекулярного шаперона, способствует сохранению активности антиоксидантных ферментов в условиях криостресса (Колупаев и др., 2015).

Взаимозаменяемость АО, их функциональное взаимодействие друг с другом, безусловно, придает стабильность и надежность антиоксидантной системе в целом. Однако эти осо-

бенности создают значительные трудности в изучении вклада отдельных компонентов в функционирование антиоксидантной системы и ее роли в целом в адаптации растений к действию стрессоров. Другая сложность в изучении роли АО (особенно низкомолекулярных) обусловлена их полифункциональностью, в особенности участием многих из них в клеточном сигналинге. В то же время можно надеяться, что рассмотрение антиоксидантной системы и отдельных АО с позиций их функционального взаимодействия друг с другом, участия в выполнении других функций (в частности, сигнальных) создаст предпосылки для более целенаправленного и эффективного изучения механизмов адаптации растений.

ЛИТЕРАТУРА

- Абрамчик Л.М., Сердюченко Е.В., Макаров В.Н., Зеневич Л.А., Жаворонкова Н.Б., Кабашикова Л.Ф. Сортоспецифические особенности реакции ярового гексаплоидного тритикале на тепловой стресс // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2014. – № 4. С. 43-49.
- Вайнер А.А., Колупаев Ю.Е., Обозный А.И. Влияние экзогенного пролина на содержание пероксида водорода в проростках пшеницы и формирование индуцированной теплоустойчивости // Физиология растений и генетика. – 2014а. – Т. 46, № 3. – С. 252-258.
- Вайнер А.А., Колупаев Ю.Е., Хрипач В.А. Раздельное и совместное влияние 24-эпибрассинолида и пролина на антиоксидантную систему растений проса при солевом стрессе // Физиология растений и генетика. – 2014б. – Т. 46, № 5. – С. 428-436.
- Вайнер А.А., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Экзогенный пролин угнетает повышение активности антиоксидантных ферментов проростков пшеницы, вызываемое закаливающим прогревом // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2014в. – Вип. 1 (31). – С. 66-71.
- Гринин А.Л. Устойчивость растений горчицы к засолению и возможная роль пролина: Автореферат дисс. ... канд. биол. наук. – Москва, 2010. – 24 с.
- Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Функционирование глутатионзависимой антиоксидантной системы и устойчивость растений при действии тяжелых металлов и фтора. – Киев: Наук. думка, 2012. – 239 с.
- Гунес А., Инал А., Адак М.С., Багци Е.Г., Цицек Н., Ераслан Ф. Влияние засухи до и после зацветания растений нута на ряд физиологических параметров – возможных критериев засухоустойчивости // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 1. – С. 64-72.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ НЕЭНЗИМАТИЧЕСКИХ АНТИОКСИДАНТОВ РАСТЕНИЙ

- Загоскина Н.В., Олениченко Н.А., Назаренко Л.В. Влияние кратковременного действия гипотермии на активность антиоксидантных ферментов и содержание фенольных соединений в листьях проростков яровой и озимой пшеницы // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2011. – Вып. 3 (24). – С. 25-34.
- Кобашикова Л.Ф., Абрамчик Л.М., Сердюченко Е.В., Капылова Л.В. Реакция проростков ячменя (*Hordeum vulgare*) при сочетанном действии гипертермии и обезвоживания // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2013. – № 3. – С. 60-65.
- Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Проллин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2014. – Вып. 2 (32). – С. 6-22.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Активные формы кислорода и стрессовый сигналинг у растений // Ukr. Biochem. J. – 2014. – V. 86, № 4. – P. 18-35.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Обозный А.И. Антиоксидантная система растений: участие в клеточной сигнализации и адаптации к действию стрессоров // Вісник Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2011. – Вып. 1 (22). – С. 6-34.
- Колупаев Ю.Е., Рябчун Н.И., Вайнер А.А., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Активность антиоксидантных ферментов и содержание осмолитов в проростках озимых злаков при закаливании и криострессе // Физиология растений. – 2015. – Т. 63, № 4. – С. 533-541.
- Комисаренко А.Г., Михальская С.И., Курчий В.М., Сытник С.К., Сергеева Л.Е., Тищенко Е.Н. Физиолого-биохимическая характеристика трансгенных растений подсолнечника с двухцепочечным РНК-супрессором гена пролиндегидрогеназы // Физиология растений и генетика. – 2015. – Т. 47, № 2. – С. 160-166.
- Кузнецов Вл.В., Радюкина Н.Л., Шевякова Н.И. Полиамины при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 5. – С. 658-683.
- Макаревич А.М., Шутова А.Г., Спиридович Е.В., Решетников В.Н. Функции и свойства антоцианов растительного сырья // Труды Белорусск. гос. ун-та. – 2010. – Т. 4, вып. 2. – С. 1-11.
- Митева Л.П.-Е., Иванов С.В., Алексеева В.С. Изменение пула глутатиона и некоторых ферментов его метаболизма в листьях и корнях растений гороха, обработанных гербицидом глифосатом // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, № 1. – С. 139-145.
- Олениченко Н.А., Загоскина Н.В., Астахова Н.В., Трунова Т.И., Кузнецов Ю.В. Первичный и вторичный метаболизм озимой пшеницы при холодом закаливании и действии антиоксидантов // Прикл. биохимия и микробиология. – 2008. – Т. 44, № 5. – С. 589-594.
- Павлючкова С.М., Стивак Е.А., Вершиловская И.В., Недведь Е.Л., Шкраба Е.В. Влияние экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты на функционирование антиоксидантной системы растений картофеля (*Solanum tuberosum*) при низкотемпературном стрессе // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2014. – № 3. – С. 46-51.
- Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Салеев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 177-185.
- Путилина Ф.Е., Галкина О.В., Ещенко Н.Д., Дижэ Г.П., Красовская И.Е. Свободнорадикальное окисление. – Санкт-Петербург.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2008. – 161 с.
- Радюкина Н.Л., Тоайма В.И.М., Зарипова Н.Р. Участие низкомолекулярных антиоксидантов в кросс-адаптации лекарственных растений к последовательному действию UV-B облучения и засоления // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 1. – С. 80-88.
- Сауди-Сар С., Хавари-Неджад Р.А., Фахим Х., Горбанли М., Мажд А. Совместное влияние глутарелловой и аскорбиновой кислот на перекисное окисление липидов и активность антиокислительных ферментов в проростках сои при обработке никелем // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 1. – С. 85-91.
- Синькевич М.С., Дерябин А.Н., Трунова Т.И. Особенности окислительного стресса у растений картофеля с измененным углеводным метаболизмом // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 2. – С. 186-192.
- Смоликова Г.Н., Медведев С.С. Каротиноиды семян: синтез, разнообразие и функции // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 1. – С. 3-16.
- Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. – Пушино: Synchronbook, 2013. – 310 с.
- Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю., Гордеева Е.И. Гены биосинтеза флавоноидов пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Т. 18, № 4/1. – С. 784-796.
- Чистяков В.А. Неспецифические механизмы защиты от деструктивного действия активных форм кислорода // Успехи соврем. биологии. – 2008. – Т. 128, № 3. – С. 300-306.
- Ао Р.-Х., Ли З.-Г., Фан Д.-М., Гонг М. Involvement of antioxidant defense system in chill hardening-induced chilling tolerance in *Jatropha curcas* seedlings // Acta Physiol. Plant. – 2013. – V. 35. – P. 153-160.

- Asada K.* The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1999. – V. 50. – P. 601-639.
- Bilger W., Rolland M., Nybakken L.* UV screening in higher plants induced by low temperature in the absence of UV-B radiation // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2007. – V. 6, № 2. – P. 190-195.
- Bouvier F., Backhaus R.A., Camara B.* Induction and control of chromoplast-specific carotenoid genes by oxidative stress // *J. Biol. Chem.* – 1998. – V. 273. – P. 30751-30659.
- Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G.* The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic *Swingle citrumelo* // *Mol. Biol. Rep.* – 2013. – V. 40. – P. 3269-3279.
- Cecchini N.M., Monteoliva M.I., Alvarez M.E.* Proline dehydrogenase contributes to pathogen defense in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 155. – P. 1947-1959.
- Chen K.M., Gong H.J., Chen G.-C., Wang S.M., Zhang C.L.* Gradual drought under field conditions influences the glutathione metabolism, redox balance and energy supply in spring wheat // *J. Plant Growth Regul.* – 2004. – V. 23. – P. 20-28.
- Chen Z., Gallie D.R.* The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement // *Plant Cell.* – 2004. – V. 16. – P. 1143-1162.
- Chen C., Dickman M.B.* Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – V. 102. – P. 3459-3464.
- Christie P.J., Alfenito M.R., Walbot V.* Anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings // *Planta.* – 1994. – V. 194. – P. 541-549.
- Collakova E., DellaPenna D.* The role of homogentisate phytyltransferase and other tocopherol pathway enzymes in the regulation of tocopherol synthesis during abiotic stress // *Plant Physiol.* – 2003. – V. 133. – P. 930-940.
- Cuttriss A.J., Pogson B.J.* Carotenoids // *Plant Pigments and Their Manipulation* / Ed. K.M. Davies. – Boca Raton: CRC Press, 2004. – P. 57-91.
- Dai F., Huang Y., Zhou M., Zhang G.* The influence of cold acclimation on antioxidative enzymes and antioxidants in sensitive and tolerant barley cultivars // *Plant Biol.* – 2009. – V. 53. P. 257-262.
- Dash S., Mohanty N.* Response of seedlings to heat-stress in cultivars of wheat: growth temperature-dependent differential modulation of photosystem 1 and 2 activity and foliar antioxidant defense capacity // *J. Plant Physiol.* – 2002. – V. 159. – P. 49-59.
- Deckmyn G., Impens I.* Combined effects of enhanced UV-B radiation and nitrogen deficiency on the growth, composition and photosynthesis of rye (*Secale cereale*) // *Plant Ecol.* – 1997. – V. 128. – P. 235-240.
- DellaPenna D., Pogson B.J.* Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2006. – V. 57. – P. 711-738.
- Demirevska-Kepova K., Simova-Stoilova L., Stoyanova Z.P., Feller U.* Cadmium stress in barley: growth, leaf pigment, and protein composition and detoxification of reactive oxygen species // *J. Plant Nutr.* – 2006. – V. 29. – P. 451-468.
- Deuschle K., Funck D., Forlani G., Stransky H., Biehl A., Leister D., van der Graaff E., Kunze R., Frommer W.B.* The role of [Delta]1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase in proline degradation // *Plant Cell.* – 2004. – V. 16. – P. 3413-3425.
- Edge R., Truscott G.* Properties of carotenoid radicals and excited states and their potential role in biological systems // *Carotenoids: Physical, Chemical, and Biological Functions and Properties* / Ed. J.T. Landrum. – Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 2010. – P. 283-307.
- Es-Safi N. E., Ghidouche S., Ducrot P.H.* Flavonoids: hemisynthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity // *Molecules.* – 2007. – V. 12. – P. 2228-2258.
- Estevez J.M., Cantero A., Reindl A. Reichler S., Leon P.* 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, a limiting enzyme for plastidic isoprenoid biosynthesis in plants // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V. 276. – P. 22901-22909.
- Fabro G., Kovacs I., Pavet .V, Szabados L., Alvarez M.E.* Proline accumulation and *AtP5CS2* gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis* // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2004. – V. 17. – P. 343-350.
- Foyer C.H., Noctor G.* Redox homeostis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses // *Plant Cell.* – 2005. – V. 17. – P. 1866-1875.
- Foyer C.H., Noctor G.* Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – V. 11. – P. 861-906.
- Gill S.S., Tuteja N.* Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiol. Biochem.* – 2010. – V. 48. – P. 909-930.
- Gould K.S., Lister C.* Flavonoid functions in plants // *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications* / Eds. O.M. Andersen, K.R. Markham. – Taylor & Francis Group, 2006. – P. 397-442.

- Gould K.S., Vogelmann T.C., Han T., Clearwater M.J. Profiles of photosynthesis within red and green leaves of *Quintinia serrata* // Plant Physiol. – 2002. – V. 116, № 1. – P. 127-133.
- Grill E., Löffler S., Winnacker E.L., Zenk M.H. Phytochelatins, the heavy-metal-binding peptides of plants, are synthesized from glutathione by a specific gamma-glutamylcysteine dipeptidyl transpeptidase (phytochelatin synthase) // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1989. – V. 86. – P. 6838-6842.
- Gutteridge J.M.C. Signal, messenger and trigger molecules from free radical reactions and their control by antioxidants // NATO ASI Series. – V. H92. – Berlin; Heidelberg; N.Y.: Springer-Verlag, 1995. – P. 157-164.
- Halliwell B. Reactive species and antioxidants. redox biology is a fundamental theme of aerobic life // Plant Physiol. – 2006. – V. 141. – P. 312-322.
- Han Y., Chaouch S., Mhamdi A., Queval G., Zechmann B., Noctor G.D. Functional analysis of arabidopsis mutants points to novel roles for glutathione in coupling H₂O₂ to activation of salicylic acid accumulation and signaling // Antioxidants Redox Signal. – 2013a. – V. 18. – P. 2106-2121.
- Han Y., Mhamdi A., Chaouch S., Noctor G. Regulation of basal and oxidative stress-triggered jasmonic acid-related gene expression by glutathione // Plant Cell Environ. – 2013b. – V. 36. – P. 1135-1146.
- Harborne J.B., Williams C.A. Advances in flavonoid research since 1992 // Phytochemistry. – 2000. – V. 55. – P. 481-504.
- Havaux M., Kloppstech K. The protective functions of carotenoid and flavonoids pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis npq* and *tt* mutants // Planta. – 2001. – V. 213. – P. 953-966.
- Herrmann K.H., Weaver L.M. The shikimate pathway // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1999. – V. 50. – P. 473-503.
- Hoque M.A., Banu M.N., Nakamura Y., Shimoishi Y., Murata Y. Proline and glycinebetaine enhance antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems and reduce NaCl-induced damage in cultured tobacco cells // J. Plant Physiol. – 2008. – V. 165. – P. 813-824.
- Hossain M.A., Hoque M.A., Burritt D.J., Fujita M. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms // Oxidative Damage to Plants Antioxidant Networks and Signaling / Ed. P. Ahmad. - Academic Press is an imprint of Elsevier, 2014. – P. 477-521.
- Huang M., Guo Z. Responses of antioxidant system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity // Plant Biol. – 2005. – V. 49. – P. 81-84.
- Islam M.M., Hoque M.A., Okuma E., Banu M.N., Shimoishi Y., Nakamura Y., Murata Y. Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells // J. Plant Physiol. – 2009. – V. 166. – P. 1587-1597.
- Jaleel C.A., Riadh K., Gopi R. Manivannan P., Jallali I., Al-Juburi H.J., Xing Z.C., Hong-Bo S., Panneerselvam R. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints // Acta Physiol. Plant. – 2009. – V. 31. – P. 427-436.
- Jordan B.R., James P.E., Strid A., Anthony R.G. The effect of ultraviolet-B radiation on gene expression and pigment composition in etiolated and green pea leaf tissue: UV-B-induced changes are gene-specific and dependent upon the developmental stage // Plant, Cell Environ. – 1994. – V. 17. – P. 45-54.
- Kaur R., Nayyar H. Ascorbic acid a potent defender against environmental stresses // Oxidative Damage to Plants Antioxidant Networks and Signaling / Ed. P. Ahmad. – Academic Press is an imprint of Elsevier, 2014. – P. 235-287.
- Kaushal N., Gupta K., Bhandhari K., Kumar S., Thakur P., Nayyar H. Proline induces heat tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) plants by protecting vital enzymes of carbon and antioxidative metabolism // Physiol. Mol. Biol. Plants. – 2011. – V. 17. – P. 203-213.
- Kavi Kishor P.B., Sangam S., Amrutha R.N., Sri Laxmi P., Naidu K.R., Rao K. R.S.S., Rao S., Reddy K.J., Theriappan P., Sreenivasulu N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance // Current Sci. – 2005. – V. 88. – P. 424-438.
- Khlestkina E.K. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals // Cereal Res. Commun. – 2013. – V. 41. – P. 185-198.
- Kobayashi N., DellaPenna D. Tocopherol metabolism, oxidation and recycling under high light stress in *Arabidopsis* // Plant J. – 2008. – V. 55. – P. 607-618.
- Kondo N., Kawashima M. Enhancement of the tolerance to oxidative stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings by UV-B irradiation: possible involvement of phenolic compounds and antioxidative enzymes // J. Plant Res. – 2000. – V. 113. – P. 311-317.
- Kruk J., Szymańska R., Krupinska K. Tocopherol quinone content of green algae and higher plants revised by a new high-sensitive fluorescence detection method using HPLC – Effects of high light stress and senescence // J. Plant Physiol. – 2008. – V. 165. – P. 1238-1247.
- Kumar S., Malik J., Thakur P., Kaistha S., Sharma K.D., Upadhyaya H.D. Growth and metabolic responses of contrasting chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes to chilling stress at reproductive phase // Acta Physiol. Plant. – 2011. – V. 33. – P. 779-787.
- Kumar N.S., Zhu W., Liang X., Zhang L., Demers A.J., Zimmerman M.C., Simpson M.A., Becker D.F. Pro-

- line dehydrogenase is essential for proline protection against hydrogen peroxide-induced cell death // *Free Radical Biology Medicine*. – 2012. – V. 53. – P. 1181-1191.
- Lachman J., Dudjak J., Miholova D., Kolihovas D., Pivec V. Effect of cadmium on flavonoid content in young barley (*Hordeum sativum* L.) plants // *Plant Soil Environ*. – 2005. – V. 51, № 11. – P. 513-516.
- Lascano H.R., Antonicelli G.E., Luna C.M., Melchiorre M.N., Gomez L.D., Racca R.W. Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies // *Aust. J. Plant Physiol*. – 2001. – V. 28. – P. 1095-1102.
- Lea U.S., Slimestad R., Smedvig P., Lillo C. Nitrogen deficiency enhances expression of specific MYB and bHLH transcription factors and accumulation of end products in the flavonoid pathway // *Planta*. – 2007. – V. 225. – P. 1245-1253.
- Ledford H.K., Baroli I., Shin J.W., Fischer B.B., Eggen R.I.L., Niyogi K.K. Comparative profiling of lipid-soluble antioxidants and transcripts reveals two phases of photo-oxidative stress in a xanthophyll-deficient mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* // *Mol. Genet. Genomics*. – 2004. – V. 272. – P. 470-479.
- Li T., Jia K.P., Lian H.L., Yang X., Li L., Yang H.Q. Jasmonic acid enhancement of anthocyanin accumulation is dependent on phytochrome A signaling pathway under far-red light in *Arabidopsis* // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. – 2014. – V. 454. – P. 78-83.
- Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival // *Antioxid. Redox Signal*. – 2013. – V. 19. – P. 998-1011.
- Lichtenthaler H.K., Schwender J., Disch A., Rohmer M. Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a mevalonate-independent pathway // *FEBS Lett*. – 1997. – V. 400. – P. 271-274.
- Luo Y., Tang H., Zhang Y. Production of reactive oxygen species and antioxidant metabolism about strawberry leaves to low temperatures // *J. Agric. Sci*. – 2011. – V. 3. – P. 89-95.
- Lushchak V.I., Semchuk N.M. Tocopherol biosynthesis: chemistry, regulation and effects of environmental factors // *Acta Physiol. Plant*. – 2012. – V. 34. – P. 1607-1628.
- Maeda H., Song W.N., Sage T.L., DellaPenna D. Tocopherols play a crucial role in low-temperature adaptation and phloem loading in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 2006. – V. 18. – P. 2710-2732.
- Malik S., Ashraf M. Exogenous application of ascorbic acid stimulates growth and photosynthesis of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought // *Soil Environ*. – 2012. – V. 31. – P. 72-77.
- Millar A.H., Mittova V., Kiddle G., Heazlewood J.L., Bartoli C.G., Theodoulou F.L., Foyer C.H. Control of ascorbate synthesis by respiration and its implications for stress responses // *Plant Physiol*. – 2003. – V. 133. – P. 443-447.
- Miller G., Arik H., Stein H., Suzuki N., Mittler R., Aviah Z. Unraveling Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate-proline cycle in plants by uncoupled expression of proline oxidation enzymes // *J. Biol. Chem*. – 2009. – V. 284. – P. 26482-26492.
- Mishra S., Dubey, R.S. Inhibition of ribonuclease and protease activities in arsenic exposed rice seedlings: role of proline as enzyme protectant // *J. Plant Physiol*. – 2006. – V. 163. – P. 927-936.
- Molinari H.B.C., Marura C.J., Daros E., De Campos M.K.F., Carvalho J.F.R.P., Filho J.C.B., Pereira L.F.P., Vieira L.G.E. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress // *Physiol. Plant*. – 2007. – V. 130. – P. 218-229.
- Munne-Bosch S., Alegre L. The function of tocopherols and tocotrienols in plants // *Crit. Rev. Plant Sci*. – 2002. – V. 21. – P. 31-57.
- Munne-Bosch S., Weiler E., Alegre L., Muller M., Duchting P., Falk J. α -Tocopherol may influence cellular signaling by modulating jasmonic acid levels in plants // *Planta*. – 2007. – V. 225. – P. 681-691.
- Neill S.O., Gould K.S. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? // *Functional Plant Biol*. – 2003. – V. 30, № 8. – P. 865-873.
- Noctor G., Mhamdi A., Chaouch S., Han Y., Neukermans J., Marquez-garcia B., Queval G., Foyer C.H. Glutathione in plants: an integrated overview // *Plant, Cell Environ*. – 2012. – V. 35. – P. 454-484.
- Noctor G., Foyer C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control // *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol*. – 1998. – V. 49. – P. 249-279.
- Nounjan N., Theerakulpisut P. Effects of exogenous proline and trehalose on physiological responses in rice seedlings during salt-stress and after recovery // *Plant Soil Environ*. – 2012. – V. 58, № 7. – P. 309-315.
- Okuma E., Murakami Y., Shimoishi Y., Tada M., Murata Y. Effects of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions // *Soil Sci. Plant Nutr*. – 2004. – V. 50. – P. 1301-1305.
- Pastori G.M., Foyer C.H. Common components, networks, and pathways of crosstolerance to stress. The central role of «redox» and abscisic acid-mediated controls // *Plant Physiol*. – 2002. – V. 129. P. 460-468.
- Posmyk M.M., Janas K.M. Effects of seed hydropriming in presence of exogenous proline on chilling injury limitation in *Vigna radiata* L. seedlings // *Acta Physiol. Plant*. – 2007. – V. 29. – P. 509-517.

- Pucciariello C., Banti V., Perata P.* ROS signaling as common element in low oxygen and heat stresses // *Plant Physiol. Biochem.* – 2012. – V. 59. – P. 3-10.
- Quadrana L., Almeida J., Otaiza S.N., Duffy T., Correa da Silva J.V., de Godoy F.* Transcriptional regulation of tocopherol biosynthesis in tomato // *Plant Mol. Biol.* – 2013. – V. 81. – P. 309-325.
- Rai V., Khatoon S., Bisht S.S., Mehrotra S.* Effect of cadmium on growth, ultramorphology of leaf and secondary metabolites of *Phyllanthus amarus* Schum. and Thonn // *Chemosphere.* – 2005. – V. 61. – P. 1644-1650.
- Sairam R.K., Srivastava G.C., Saxena D.C.* Increased antioxidant activity under elevated temperatures: a mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes // *Biol. Plant.* – 2000. – V. 43. – P. 245-251.
- Samuel D., Kumar T.K., Ganesh G., Jayaraman G., Yang P.W., Chang M.M., Trivedi V.D., Wang S.L., Hwang K.C., Chang D.K., Yu C.* Proline inhibits aggregation during protein refolding // *Protein Sci.* – 2000. – V. 9. – P. 344-352.
- Semane B., Cuypers A., Smeets K., Van B.F., Horemans N., Schat H., Vangronsveld J.* Cadmium responses in *Arabidopsis thaliana*: Glutathione metabolism and antioxidative defence system // *Physiol. Plant.* – 2007. – V. 129. – P. 519-528.
- Semchuk N., Lushchak O.V., Falk J., Krupinska K., Lushchak V.I.* Inactivation of genes, encoding tocopherol biosynthetic pathway enzymes, results in oxidative stress in outdoor grown *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol. Biochem.* – 2009. – V. 47. – P. 384-390.
- Semchuk N.M., Vasylyk Yu.V., Lushchak O.V., Lushchak V.I.* Effect of short-term salt stress on oxidative stress markers and antioxidant enzymes activity in tocopherol-deficient *Arabidopsis thaliana* plants // *Ukr. Biochem. J.* – 2012. – V. 84, № 4. – P. 41-48.
- Sergiev I., Alexieva V., Ivanov S., Bankova V., Mapelli S., Karanov E.* UV-Protecting properties of exogenously applied flavonoids on excised cucumber cotyledons // *Докл. Бълг. АН.* – 2005. – V. 58, № 4. – P. 427-432.
- Sharma P., Dubey R.S.* Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant // *J. Plant Physiol.* – 2005. – V. 162. – P. 854-864.
- Shichijo C., Hamada T., Hiraoka M., Johnson C.B., Hashimoto T.* Enhancement of red-light-induced anthocyanin synthesis in sorghum first internodes by moderate low temperature given in the pre-irradiation culture period // *Planta.* – 1993. – V. 191. – P. 238-245.
- Shumskaya M., Wurtzela E.T.* The carotenoid biosynthetic pathway: thinking in all dimensions // *Plant Sci.* – 2013. – V. 208. – P. 58-63.
- Solfanelli C., Poggi A., Loreti E., Alpi A., Perata P.* Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 140. – P. 637-646.
- Szabados L., Savoure A.* Proline: a multifunctional amino acid // *Trends Plant Sci.* 2009. – 15, № 2. – P. 89-97.
- Szalai G., Kellos T., Galiba G., Kocsy G.* Glutathione as an Antioxidant and Regulatory Molecule in Plants Under Abiotic Stress Conditions // *J. Plant Growth Regul.* – 2009. – V. 28. – P. 66-80.
- Szarka A., Tomasskovic B., Banhegyi G.* The ascorbate-glutathione-tocopherol triad in abiotic stress response // *Inter. J. Mol. Sci.* – 2012. – V. 13. – P. 4458-4483.
- Tausz M., Sircelj H., Grill D.* The glutathione system as a stress marker in plantecophysiology: is a stress-response concept valid? // *J. Exp. Bot. Sulphur Metabol. Plant.* – 2004. – V. 55. – P. 1955-1962.
- Tounekti T., Hernandez I., Muller M., Khemira H., Munne-Bosch S.* Kinetin applications alleviate salt stress and improve the antioxidant composition of leaf extracts in *Salvia officinalis* // *Plant Physiol. Biochem.* – 2011a. – V. 49. – P. 1165-1176.
- Tounekti T., Vadel A.M., Onate M., Khemira H., Munne-Bosch S.* Salt-induced oxidative stress in rosemary plants: damage or protection? // *Environ. Exp. Bot.* – 2011b. – V. 71. – P. 298-305.
- Treutter D.* Significance of flavonoids in plant resistance: a review // *Environ. Chem. Lett.* – 2006. – V. 4. – P. 147-157.
- Velasco L., Garcia-Navarro E., Perez-Vich B., Fernandez-Martinez J.M.* Selection for contrasting tocopherol content and profile in Ethiopian mustard // *Plant Breed.* – 2013. – V. 132. – P. 694-700.
- Ververidis F., Trantas E., Douglas C., Vollmer G., Kretschmar G., Panopoulos N.* Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health // *Biotechnol. J.* – 2007. – V. 2. – P. 1214-1234.
- Wang C.Q., Zhang Y.F., Liu T.* Activity changes of calmodulin and Ca²⁺-ATPase during low-temperature-induced anthocyanin accumulation in *Alternanthera bettzickiana* // *Physiol. Plant.* – 2005. – V. 124. – P. 260-266.
- Wang S., Liang D., Li C., Hao Y., Maa F., Shu H.* Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and droughtsensitive apple rootstocks // *Plant Physiol. Biochem.* – 2012. – V. 51. – P. 81-89.
- Waskiewicz A., Beszterda M., Golinski P.* Nonenzymatic antioxidants in plants // *Oxidative Damage to Plants Antioxidant Networks and Signaling* / Ed. P. Ahmad. – Academic Press is an imprint of Elsevier, 2014. – P. 201-234.

- Waskiewicz A., Gladysz O., Szentner K., Golinski P.* Role of glutathione in abiotic stress tolerance // *Oxidative Damage to Plants Antioxidant Networks and Signaling* / Ed. P. Ahmad. – Academic Press is an imprint of Elsevier, 2014. – P. 149-181.
- Winkel B.S.J.* The biosynthesis of flavonoids // *The science of flavonoids* / Ed. P.E. Grotewold. – N.Y.: Springer, 2008. – P. 71-95.
- Wonish W., Schaur R.* Chemistry of glutathione // *Plant Ecophysiology*. – V. 2. Significance of glutathione in plant adaptation to the environment / Eds D. Grill, M. Tausz, L. de Kok. – Dordrecht: Kluwer, 2001. – P. 13-26.
- Xu J., Yin H., Li X.* Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. // *Plant Cell Rep.* – 2009. – V. 28. – P. 325-333.

Поступила в редакцію
18.05.2015 з.

PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS OF NONENZYMATIC ANTIOXIDANTS IN PLANTS

Yu. E. Kolupaev, T. O. Yastreb

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

The participation of nonenzymatic antioxidants (ascorbic acid, glutathione, tocopherol, carotenoids, flavonoids and proline) in the antioxidant defense system and the adaptation of plants to stressors is considered. Particular attention is paid to the functional interaction of low-molecular-weight antioxidants between themselves and with the enzymatic antioxidants. Functions of antioxidants which not related to the direct disposal of reactive oxygen species are described briefly.

Key words: *nonenzymatic antioxidants ascorbic acid, glutathione, tocopherol, carotenoids, flavonoids, proline, reactive oxygen species, plants adaptation*

ФІЗІОЛОГІЧНІ ФУНКЦІЇ НЕЕНЗИМАТИЧНИХ АНТИОКСИДАНТІВ РОСЛИН

Ю. Є. Колупаєв, Т. О. Ястреб

*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)
E-mail: yukolupaev@mail.ru*

Розглянуто участь неферментативних антиоксидантів (аскорбінової кислоти, глутатіону, токоферолів, каротиноїдів, флавоноїдів і проліну) у системі антиоксидантного захисту та адаптації рослин до дії стрес-факторів. Особливу увагу приділено функціональній взаємодії низькомолекулярних антиоксидантів між собою і з ферментативними антиоксидантами. Коротко описані функції антиоксидантів, не пов'язані з прямим знешкодженням активних форм кисню.

Ключові слова: *неензиматичні антиоксиданти, аскорбінова кислота, глутатіон, токоферол, каротиноїди, флавоноїди, пролін, активні форми кисню, адаптація рослин*