

О Г Л Я Д И

УДК 581.1

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТКАХ: РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ И УЧАСТИЕ В СТРЕССОВЫХ РЕАКЦИЯХ

© 2012 г. Ю. Е. Колупаев, Ю. В. Карпец, Т. О. Ястреб

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

Приведена краткая характеристика основных ферментных систем, участвующих в генерации активных форм кислорода (АФК) в растительных клетках – НАДФН-оксидазы, пероксидазы, оксалатоксидазы. Рассмотрено влияние сигнальных посредников (ионов кальция, АФК, оксида азота, салициловой кислоты и др.), а также отдельных фитогормонов на активность названных ферментов. Анализируется участие АФК-генерирующих ферментных систем в стрессовых реакциях растений.

Ключевые слова: *НАДФН-оксидаза, пероксидаза, оксалатоксидаза, активные формы кислорода, кальций, оксид азота (NO), фитогормоны, стрессовые реакции*

Активные формы кислорода (АФК) занимают особое место среди сигнальных и стрессовых метаболитов растительных и животных клеток. Под АФК подразумевают совокупность взаимно превращающихся реакционноспособных форм кислорода, большинство из которых существует короткое время. Среди них выделяют свободнорадикальные частицы – супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал (OH^{\cdot}), пероксидные радикалы (RO_2^{\cdot} и др.) и нейтральные молекулы, такие как пероксид водорода (H_2O_2), синглетный кислород (1O_2) и пр. (Scandalios, 2002). АФК образуются в реакциях одно-, двух- и трехэлектронного восстановления кислорода в результате спонтанного и ферментативного окисления различных субстратов, а также в фотоиндуцируемых реакциях.

Внимание к исследованию механизмов образования АФК значительно возросло в связи

с установлением их роли в передаче стрессовых и других сигналов в растительных клетках (Suzuki, Mittler, 2006; Креславский и др., 2012). Особый интерес представляет образование АФК в ферментативных реакциях, поскольку оно, как правило, находится под контролем клетки или всего организма. Идентификация источников АФК, образующихся во время ранних стрессовых ответов растительных клеток, важна для понимания механизмов формирования защитных реакций растений (Минибаева, Гордон, 2003).

Генерация АФК происходит в различных клеточных компартментах, в частности, в хлоропластах, митохондриях, пероксисомах, глиоксисомах, а также в плазматической мембране и клеточной стенке (Mittler, 2002; Минибаева, Гордон, 2003; Колупаев, Карпец, 2009). Несмотря на то, что наибольший пул АФК образуется в хлоропластах, митохондриях и пероксисомах, при «окислительном взрыве», являющемся активной реакцией растений на патогены и элиситоры, в качестве основных источников АФК в растительных клетках рассматриваются окислительно-восстановительные фер-

Адрес для корреспонденции: Колупаев Юрий Евгеньевич, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В.Докучаева, п/о «Коммунист-1», Харьков, 62483, Украина;
e-mail: plant_biology@mail.ru

ментативные системы плазмалеммы и апопласта (Bolwell et al., 1998; Минибаева, Гордон, 2003). С другой стороны, в настоящее время накапливается все больше экспериментальных данных, свидетельствующих об участии НАДФН-оксидазы, пероксидаз, оксалатоксидазы в реакции растений на абиотические стрессоры, а также в реализации физиологических эффектов экзогенных (а возможно и эндогенных) сигнальных молекул и фитогормонов (Kwak et al., 2006; Трошина и др., 2007; Wong et al., 2007; Zhang et al., 2010). Обобщение и анализ таких сведений и является основной целью настоящего обзора.

НАДФН-оксидаза

Краткая характеристика фермента. НАДФН-оксидаза (КФ 1.6.3.1) считается основным продуцентом АФК в животных и растительных клетках (Меньщикова, Зенков, 2006; Sagi, Fluhr, 2006; Глянько и др., 2009). Этот ферментный комплекс специализируется на восстановлении молекулярного кислорода с образованием супероксидного анион-радикала:



В реакции используется цитоплазматический НАДФН, электроны от которого с участием ФАД и гема переносятся через мембрану на наружную ее сторону к молекулярному кислороду с образованием супероксидного анион-радикала (Глянько и др., 2009). Супероксид является исходным материалом для образования других АФК: пероксида водорода, гидроксильного радикала, синглетного кислорода, пероксинитрита (Меньщикова, Зенков, 2006).

НАДФН-оксидаза растений отличается от таковой у животных. Так, НАДФН-оксидаза фагоцитов представляет собой сложную систему, состоящую из шести гетерогенных субъединиц, в т.ч. двух мембраносвязанных ($\text{gp91}^{\text{phox}}$ – glycoprotein of 91 kDa phagocyte oxidase-specific и p22^{phox}) и четырех цитозольных (p47^{phox} , p40^{phox} , p67^{phox} и Rac1 или Rac2 (ГТФазы)), которые при активации фермента под действием широкого спектра эффекторов объединяются в комплекс, генерирующий $\text{O}_2^{\cdot-}$ (Меньщикова, Зенков, 2006). У растений найдены только гомологи мембраносвязанной субъединицы $\text{gp91}^{\text{phox}}$ (Nox2 – NADPH oxidase) и цитозольная субъединица семейства малых ГТФаз (Rac-белки, которые применительно к растениям чаще называют Rop (Rho-related GTPases from plants)) (Глянько и др., 2009).

Геном арабидопсиса содержит 10 представителей семейства генов мембраносвязанной субъединицы Rboh (respiratory burst oxidase homologs), обозначаемых как *AtRboh* (A, B, C, D, E, F, G, H, J, L) (Torres et al., 2002; Kaye et al., 2011).

Растительная мембраносвязанная субъединица имеет N-концевой участок, который связывает ионы кальция с помощью двух мотивов (EF-рука). Ионы Ca^{2+} считаются основными регуляторами НАДФН-оксидазы, о чем подробнее будет сказано ниже.

Растительные гомологи НАДФН-оксидазы содержат также цитозольный ФАД- и НАДФН-связывающие домены и шесть трансмембранных спиралей с двумя гемами, необходимыми для транспорта электронов к внеклеточному акцептору молекулярного кислорода (Sagi, Fluhr, 2006; Глянько и др., 2009).

Считается, что основной пул НАДФН-оксидазы у растений локализован в плазмалемме (Kobayashi et al., 2006; Sagi, Fluhr, 2006).

Сигнальные посредники и фитогормоны, участвующие в регуляции активности и синтеза НАДФН-оксидазы. НАДФН-оксидаза является стартовым ферментом одноименной сигнальной системы. Достаточно давно исследуется активация этого фермента элиситорами патогенов (Tenhaken et al., 1995; Тарчевский, 2002). При этом показана роль кальций-зависимого фосфорилирования в активации фермента. Согласно одной из моделей, кальций активирует Ca^{2+} -зависимую протеинкиназу, которая фосфорилирует N-концевой участок мембраносвязанной субъединицы (Rboh) НАДФН-оксидазы и вызывает ее конформационные изменения, способствующие связыванию с ней цитозольного компонента – Rop-белка (ГТФазы). В результате происходит активация НАДФН-оксидазы, приводящая к усилению генерации АФК (Wong et al., 2007).

В то же время предполагаются и альтернативные механизмы. Так, показана возможность прямой активации НАДФН-оксидазы ионами кальция (Sagi, Fluhr, 2001). Недавно установлен эффект синергизма в активирующем действии Ca^{2+} -ионофора иономицина и ингибитора протеинфосфатаз каликулина А на НАДФН-оксидазу арабидопсиса (Ogasawara et al., 2008). Предполагается, что фосфорилированная каталитическая субъединица AtrbohD, присоединяя кальций в области EF-рук, претерпевает более глубокие конформационные

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ

изменения, чем нефосфорилированная, в результате этого происходит более существенная активация фермента при одновременном действии кальциевого ионофора и ингибитора протеинфосфатаз. Несмотря на то, что механизмы регуляции активности НАДФН-оксидазы растений полностью не выяснены, важная роль кальция в этих процессах не вызывает сомнений (Sagi, Fluhr, 2006; Wong et al., 2007; Ogasawara et al., 2008). По-видимому, за счет активации НАДФН-оксидазы может происходить преобразование кальциевого сигнала в окислительный. При этом поддержание высокой активности НАДФН-оксидазы возможно за счет поступления кальция через регулируемые гиперполяризацией кальциевые каналы, открывающиеся под влиянием НАДФН-зависимой генерации АФК (Demidchik et al., 2009).

В физиологических экспериментах показано усиление генерации супероксидного анион-радикала под влиянием экзогенного кальция в колеоптилях и каллусных культурах пшеницы (Колупаев, Карпец, 2010; Максимов и др., 2010). НАДФН-оксидаза в апопластном пространстве колеоптилей злаков была выявлена ранее с использованием ингибиторного метода (Frahry, Schopfer, 2001). Следует, однако, отметить, что в апопласте колеоптилей пшеницы найдена и высокая активность пероксидаз (Колупаев и др., 2005), также являющихся потенциальными продуцентами АФК. В связи с этим можно полагать, что усиление генерации АФК в апопласте колеоптилей под влиянием кальция может быть обусловлено повышением активности как минимум двух ферментов – НАДФН-оксидазы и пероксидазы.

Имеются сведения об участии оксида азота (NO) в регуляции активности НАДФН-оксидазы. Есть основания полагать, что эта регуляция осуществляется при посредничестве кальция, поступление которого в цитозоль активируется под влиянием оксида азота (Lamotte et al., 2004; Besson-Bard et al., 2008). Показано, что в культуре тканей корней женьшеня донор NO вызывал активацию НАДФН-оксидазы и усиление генерации супероксидного анион-радикала ($O_2^{\cdot-}$) (Tewari et al., 2008). Также показана активация НАДФН-оксидазы корней гороха донором оксида азота нитропруссидом натрия (Глянько и др., 2010). Обработка колеоптилей пшеницы донором NO приводила к усилению генерации супероксидного анион-радикала. Данный эффект в значительной степени подавлялся ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом, блокатором кальциевых

каналов хлоридом лантана и антагонистом кальмодулина хлорпромазином, что позволяет предполагать кальций-зависимое повышение активности НАДФН-оксидазы под действием NO (Карпец и др., 2011).

Механизмы влияния оксида азота на кальциевый статус растительных клеток, по-видимому, многогранны (Lamotte et al., 2004; Neill et al., 2008), детальное их обсуждение выходит за рамки тематики настоящего обзора. Отметим лишь некоторые факты. Известна способность NO повышать активность фосфолипазы D, что обуславливает увеличение содержания фосфатидной кислоты (ФК) (Lanteri et al., 2008). Кроме того, оксид азота может оказывать влияние на фосфолипазу C и диацилглицеролкиназу, что также может приводить к накоплению ФК – важного вторичного мессенджера липидного сигналинга (Laxalt et al., 2007). ФК в растительных клетках может функционировать и как кальциевый ионофор (Медведев и др., 2006) и способствовать поступлению кальция в цитозоль и последующей активации НАДФН-оксидазы. Примечательно, что в ряде работ сообщается об активирующем влиянии самой ФК на НАДФН-оксидазу (Wang, 1999; Sang et al., 2001). Показано, что в системе *in vitro* ФК стабилизирует НАДФН-оксидазный комплекс мембранной фракции, выделенной из растительных клеток, и тем самым усиливает генерацию АФК (Sang et al., 2001), при этом остается неясным, может ли *in vivo* ФК самостоятельно регулировать активность НАДФН-оксидазы или же ее эффекты опосредованы влиянием на кальциевый баланс в клетках.

Еще один механизм влияния оксида азота на поступление кальция в цитозоль связан с накоплением цАДФ-рибозы, которая стимулирует открывание внутриклеточных кальциевых каналов (Neill et al., 2008). Увеличение содержания цАДФ-рибозы происходит вследствие активации АДФ-рибозилциклазы под влиянием цГМФ – продукта, накапливающегося в результате активации оксидом азота гуанилатциклазы, которую считают одной из основных мишеней оксида азота как сигнальной молекулы (Тарчевский, 2002). Наконец, возможно прямое ферментативное влияние оксида азота на состояние кальциевых каналов. Оно связано с S-нитрозилированием белков кальциевых каналов, что приводит к их открыванию (Klausner et al., 1993). Все указанные эффекты могут повышать содержание цитозольного кальция и, как следствие, активировать НАДФН-оксидазу. Следует отметить, что в угасании активации

НАДФН-оксидазы также может быть задействован кальций. Его избыток может ингибировать взаимодействие цитозольной и мембранной субъединиц НАДФН-оксидазы и тем самым снижать ее активность (Глянько и др., 2009).

Естественно, что активность НАДФН-оксидазы может регулироваться и на уровне генной экспрессии. Недавно были получены интересные сведения о роли гидролиза фосфатидилинозитолов полифосфат-5-фосфатазой7 (*At5PTase7*) в регуляции экспрессии гена *RbohJ* у растений арабидопсиса. Мутанты по *At5PTase7* оказывались неспособными к усилению экспрессии гена *RbohJ* и активации генерации АФК в ответ на действие солевого стресса, что было характерно для растений дикого типа (Kaye et al., 2011). Обработка мутантов *At5PTase7* фосфатидилинозитолом, дефосфорилированным в положении D5', приводила к появлению у них способности генерировать АФК в ответ на засоление.

Ряд экспериментальных данных свидетельствует о влиянии салициловой кислоты (СК) на активность НАДФН-оксидазы растений. Традиционно СК рассматривают в качестве одного из посредников НАДФН-оксидазной сигнальной системы. Индуктором синтеза СК в растительных клетках может быть пероксид водорода, образующийся вследствие активации НАДФН-оксидазы (Leon et al., 1995a). Такое действие пероксида водорода связывают с его способностью активировать 2-гидроксилазу бензойной кислоты (Leon et al., 1995b). В свою очередь СК, как ингибитор каталазы и аскорбатпероксидазы, может способствовать накоплению H_2O_2 и усилению действия АФК, что важно, например, для развития реакции сверхчувствительности растений на патогены (Тарчевский, 2002).

В то же время есть сведения не только об ингибировании СК антиоксидантных ферментов, но и о повышении под ее влиянием активности АФК-генерирующих ферментов, в частности НАДФН-оксидазы. Обработка культуры клеток африканского проса СК вызывала окислительную вспышку, обусловленную в основном увеличением активности НАДФН-оксидазы (Geetha, Shetty, 2002). Усиление генерации супероксидного анион-радикала колеоптилями пшеницы, вызываемое экзогенной СК, на 45-55% подавлялось ингибиторами НАДФН-оксидазы имидазолом и α -нафтолом (Колупаев та ін., 2011). Механизмы влияния СК

на активность НАДФН-оксидазы остаются малоисследованными. Возможно, что СК активирует синтез фермента *de novo* (Yoshioka et al., 2001). Не исключено, что влияние СК на активность или синтез НАДФН-оксидазы опосредовано изменением концентрации ионов кальция в цитозоле. Так, показана способность СК вызывать увеличение концентрации цитозольного кальция в растительных клетках (Wang, Li, 2006). Правда, до сих пор не ясно, какой из эффектов, вызываемых СК – увеличение содержания цитозольного кальция или количества АФК – является первичным.

Активность НАДФН-оксидазы может увеличиваться и под влиянием классического стрессового фитогормона абсцизовой кислоты (АБК). Более того, получены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что увеличение содержания пероксида водорода, которое является элементом реакций, необходимых для закрытия устьиц, обусловлено способностью СК повышать активность НАДФН-оксидазы (Desikan et al., 2004; Kwak et al., 2006; Cho et al., 2009). Роль НАДФН-оксидазы как источника АФК, индуцируемого АБК, показана в экспериментах с мутантами арабидопсиса по генам мембраносвязанной субъединицы НАДФН-оксидазы *AtrbohD* и *AtrbohF*, у которых угнетался эффект закрытия устьиц, вызываемый АБК (Kwak et al., 2003). Примечательно, что эти же гены, кодирующие каталитические субъединицы НАДФН-оксидазы, задействованы и в сигналинге метилжасмоната в замыкающих клетках устьиц (Torres et al., 2005).

НАДФН-оксидаза принимает участие и в реализации действия другой группы стрессовых фитогормонов – брассиностероидов. Так, показано, что положительному влиянию экзогенных брассиностероидов на устойчивость растений огурца к абиотическим стрессорам предшествовало усиление генерации АФК и данные эффекты подавлялись ингибиторами НАДФН-оксидазы (Xia et al., 2009).

На листьях кукурузы показано, что брассиностероид индуцировал накопление транскриптов и повышение активности НАДФН-оксидазы (Zhang et al., 2010). АФК, генерируемые НАДФН-оксидазой, были необходимы как сигнал для индуцирования антиоксидантных ферментов. Последний эффект блокировался ингибитором НАДФН-оксидазы дифенилениодониумом (Zhang et al., 2010). В этой же работе показано, что под действием брассиностероида усиливались активность и накопление тран-

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ

скриптов MAP-киназы (ZmMPK5), а повышение активности антиоксидантных ферментов, вызываемое brassinosterоидом, угнеталось ингибиторами MAP-киназ. Кроме того, установлено, что повышение активности ZmMPK5 необходимо для усиленной генерации АФК НАДФН-оксидазой листьев кукурузы в течение продолжительного времени, но не вначале обработки растений brassinosterоидом. Сделан вывод, что первоначальное накопление пероксида водорода в апопласте, вызываемое brassinosterоидом, активирует синтез ZmMPK5, которая, в свою очередь, выступает в качестве регулятора экспрессии генов НАДФН-оксидазы (Zhang et al., 2010). Возможность участия пероксида водорода, генерируемого НАДФН-оксидазой, в активации MAP-киназного каскада показана и в других работах (Lin et al., 2009; Xia et al., 2009).

Таким образом, активность НАДФН-оксидазы в растительных клетках может увеличиваться под влиянием различных сигнальных посредников (ионов кальция, оксида азота, салициловой кислоты) и ряда стрессовых фитогормонов. Эти факты хорошо согласуются с представлениями о сигналинге АФК не как об автономной сети, а как об интегрированном сигнальном пути, функционирующем в кооперации с другими сигнальными сетями (Mittler et al., 2011). Наконец, установлен эффект активации НАДФН-оксидазы самими АФК (молекулами пероксида водорода) (Bailey-Serres, Chang, 2005). Недавно предложена концепция сигнальной волны АФК, передаваемой от клетки к клетке посредством активации НАДФН-оксидазы под действием пероксида водорода, образующегося в апопласте соседней клетки (Mittler et al., 2011). Модель предполагает, что каждая клетка вдоль пути волны активирует «свою» НАДФН-оксидазу и производит АФК автономным способом. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что гомолог НАДФН-оксидазы RbohD необходим для быстрого распространения системных сигналов по целому растению со скоростью приблизительно 8 см/мин (Suzuki et al., 2012).

Механизмы подавления активности НАДФН-оксидазы, необходимые для угасания соответствующего сигнала, исследованы слабо. Как уже отмечалось, угнетать взаимодействие цитозольной и мембраносвязанной субъединиц фермента могут высокие концентрации ионов кальция. Также сообщается о подавлении НАДФН-оксидазы таким важным клеточным посредником как цАМФ (Tsuruhara et al., 1999).

Участие НАДФН-оксидазы в реакции растений на действие стрессоров. НАДФН-оксидаза рассматривается как основной фермент, участвующий в ответе растений на заражение патогенами и действие их элиситоров, в частности обеспечивающий реакцию «окислительного взрыва» (Bolwell, Wojtasek et al., 1997; Park et al., 1998; Ito et al., 1999). Так, показано, что обработка культуры клеток африканского проса суспензией зооспор и компонентами спорангиальной клеточной стенки *Sclerospora graminicola* вызывала окислительную вспышку, обусловленную, в первую очередь, повышением активности НАДФН-оксидазы (Geetha, Shetty, 2002). Увеличение активности НАДФН-оксидазы зарегистрировано как самая ранняя реакция клеток табака на обработку элиситором криптогеином (Lherminier et al., 2009). Сфинголипидный элиситор стимулировал образование мРНК Rboh в культуре клеток риса (Pinontoan et al., 2003).

В последние годы значительное внимание уделяется выяснению роли НАДФН-оксидазы в реакциях растений на абиотические стрессоры. По мнению ряда исследователей, плазмалемма и, возможно, клеточная стенка являются основными структурами локализации сенсоров стрессовых сигналов. Предполагается, что восприятие сигнала активирует ферменты, генерирующие АФК, следствием чего может быть последующая активация различных сигнальных систем (Apel, Hirt, 2004). НАДФН-оксидаза рассматривается как ключевой фермент в этих процессах.

Установлен эффект повышения активности НАДФН-оксидазы в корнях проростков гороха и листьях арабидопсиса при действии гипотермии, гербицида параквата и других неблагоприятных факторов (Глянько и др., 2010; Straus et al., 2010). Показано транзиторное увеличение активности НАДФН-оксидазы и содержания пероксида водорода в корнях и побегах этиолированных проростков кукурузы при действии низких положительных температур (Пиотровский и др., 2011). В листьях растений перца методом электрофореза выявлено три изоформы НАДФН-оксидазы (NOX I, II и III). Через сутки после воздействия температуры 8°C активность NOX III повышалась, тогда как активность NOX I снижалась (Airaki et al., 2012).

Кратковременное усиление образования пероксида водорода в корнях проростков пшеницы показано после одномоментного действия

высокой закалывающей температуры (42°C). Данный эффект частично угнетался ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом, что позволяет предполагать причастность НАДФН-оксидазы к накоплению H₂O₂ (Колупаев и др., 2011). Кроме того, имидазол частично нивелировал развитие теплоустойчивости проростков, индуцируемое кратковременным действием гипертермии, что можно рассматривать как косвенное свидетельство участия НАДФН-оксидазы в процессе закалывания. С другой стороны, предполагается, что активация НАДФН-оксидазы может быть причастна и к повреждениям растений, вызываемым экстремальными температурами. Так, холодовому повреждению растений огурца предшествовало повышение активности этого фермента и накопление пероксида водорода (Shen et al., 2000). Предобработка растений полиамином спермидином предотвращала индуцированное охлаждением увеличение содержания H₂O₂ в листьях, активности НАДФН-оксидазы и НАДФН-зависимого образования супероксида в микросомах, а также ослабляла холодовое повреждение.

Сообщается об активации НАДФН-оксидазы под влиянием солевого стресса (Mazel et al., 2004; Jaspers, Kangasjarvi, 2010). Примечательно, что мутанты *AtRbohJ* производили меньше АФК и отличались низкой солеустойчивостью (Leshem et al., 2007). Солеустойчивость растений арабидопсиса снижалась и при обработке специфическим ингибитором НАДФН-оксидазы дифенилениодонием (Leshem et al., 2007). Низкую солеустойчивость имели также мутанты арабидопсиса по гену *At5PTase7*, кодирующему инозитолполифосфат-5-фосфатазу7 – фермент, катализирующий дефосфорилирование фосфатидилинозитола в положении D5' (Kaue et al., 2011). Как отмечалось выше, дефосфорилирование фосфатидилинозитола в положении D5', является необходимым для процесса активации экспрессии гена *AtRbohJ*, усиления образования АФК и формирования защитной реакции арабидопсиса на солевой стресс.

Под влиянием обезвоживания у растений также происходит повышение активности НАДФН-оксидазы и усиление генерации АФК (Jiang, Zhang, 2002). Такая реакция является необходимой для адаптации. При угнетении НАДФН-оксидазы специфическим ингибитором в проростках кукурузы, подвергнутых водному стрессу или действию АБК, не наблюдалась такой ответной адаптивной реакции как

повышение активности антиоксидантных ферментов (Jiang, Zhang, 2002).

Отмечается роль НАДФН-оксидазы в накоплении АФК при действии на растения тяжелых металлов (Rodriguez-Serrano et al., 2006). В целом угнетение НАДФН-оксидазы ее ингибиторами блокировало усиление генерации АФК при стрессах различной природы (Jiang, Zhang, 2002; Vranova et al., 2002). Однако во многих случаях не удается разграничить роль НАДФН-оксидазы как источника АФК, необходимого для активации защитных реакций растений на стрессоры и ее участие в развитии повреждений.

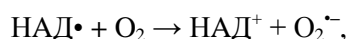
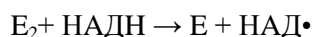
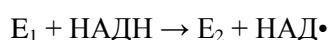
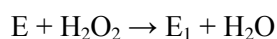
Как уже отмечалось, индуктором экспрессии НАДФН-оксидазы может быть пероксид водорода (Bailey-Serres, Chang, 2005). Подобный механизм может быть задействован в индукции апоптоза, что требует усиленного образования АФК. Такой же механизм активации НАДФН-оксидазы участвует в ответе растений на поражение патогенами, но не исключен и при действии абиотических стрессоров. Считается, что этот процесс включает в себя первичный всплеск содержания пероксида водорода, который может генерироваться внеклеточными пероксидазами (Mehdy, 1994), и последующую активацию НАДФН-оксидазы.

В последнее время рассматривается возможность активации НАДФН-оксидазы при реакции сверхчувствительности за счет сигнала АФК, поступающего из пластид в апопласт. Такие эффекты были изучены на трансгенных растениях табака, экспрессирующих локализованный в пластидах белок флаводоксин (Zubriggen et al., 2010). Флаводоксин присутствует в фотосинтезирующих микроорганизмах, в трансформированных растениях они предотвращают образование АФК в хлоропластах. У таких растений при инфицировании патогенами наблюдался более низкий уровень АФК не только в хлоропластах, но и в апопласте. Последнее было обусловлено сниженной активностью НАДФН-оксидазы. Иными словами, сигнал от восприятия патогена растением передается в хлоропласт, индуцирует светозависимое образование АФК, в свою очередь, сигнал хлоропластных АФК передается в апопласт и вызывает активацию НАДФН-оксидазы, что приводит к локальной клеточной гибели (Zubriggen et al., 2010). Однако механизмы трансдукции подобных сигналов пока не ясны.

Пероксидаза

Краткая характеристика фермента. Неспецифическая пероксидаза (КФ 1.11.1.7) традиционно рассматривается как антиоксидантный фермент, обезвреживающий пероксид водорода за счет окисления им различных восстановителей, хотя данный энзим является мультифункциональным (Gaspar et al., 1991; Tognolli et al., 2003). Неспецифические пероксидазы относятся к гемосодержащим гликопротеинам. Их простетическая группа – протогематин IX состоит из протопорфирина IX и иона Fe^{3+} . Первичную структуру апофермента образуют одна полипептидная цепь (около 300 аминокислотных остатков, возможно образование димеров и тетрамеров), отдельные боковые углеводные остатки (возможно отсутствие углеводов у некоторых пероксидаз) и атомы кальция (Иевиньш, 1987).

Наряду с антиоксидантной активностью пероксидазы могут проявлять и оксидазную активность с передачей электронов от восстановителей (например, НАДН) на кислород (Лебедева, Угарова, 1997):



где E_n – разные окисленные состояния пероксидазы.

Пероксидаза, для которой характерен такой механизм действия, может быть локализована в цитозоле и (чаще) в клеточных стенках в состоянии, связанном ионными или ковалентными связями с их полимерами. Считается, что при «окислительном взрыве» пероксидаза клеточных стенок может генерировать большое количество супероксида и, как следствие, H_2O_2 (Bestwick et al., 1997), хотя процесс генерации АФК может осуществляться «тандемом» пероксидаза – НАДФН-оксидаза.

Установлено наличие в корнях пшеницы экстраклеточных пероксидаз с молекулярной массой 37, 40 и 136 kD. Высокая чувствительность генерации супероксидного радикала корнями пшеницы к ингибиторам пероксидазы рассматривается авторами как свидетельство участия указанных пероксидаз в генерации АФК (Minibayeva et al., 2009).

Влияние сигнальных посредников на активность пероксидазы. Во многих работах сообщается о повышении активности растительных пероксидаз под влиянием ионов кальция (Bakardjieva et al., 1987; Часов, 2002; Penel, Dun, 2009). Имеются сведения об участии кальция в сохранении структурной конформации белка, связывании пероксидаз с клеточными структурами и поддержании термостабильности молекул (Кутузова, Угарова, 1981). В то же время не ясно относятся ли упомянутые эффекты к регуляции АФК-генерирующей функции пероксидазы и возможному участию фермента в передаче клеточных сигналов.

В экспериментах с изолированными корнями пшеницы показана связь между индуцированным кальцием повышением активности экстраклеточной пероксидазы и усилением генерации супероксидного анион-радикала корнями (Часов и др., 2002). Установлено повышение активности ионносвязанной пероксидазы колеоптилей (Колупаев и др., 2005) и общей активности пероксидазы каллусов (Максимов и др., 2010) пшеницы под действием ионов кальция. Такие эффекты сопровождались усилением генерации супероксида и накоплением H_2O_2 . В целом пероксидазы класса III, участвующие в генерации АФК, являются кальций-зависимыми ферментами (Penel, Dun, 2009).

Немало работ посвящено выяснению значения СК в регуляции активности пероксидаз. Например, сообщается о роли СК в качестве индуктора участвующей в генерации АФК внеклеточной пероксидазы, а также других форм фермента (Martinez et al., 2000; Minibaeva et al., 2001; Ananieva, Popova, 2002; Mika et al., 2010). В литературе на основании данных, полученных на различных растительных объектах, обсуждается вклад ряда ферментов в усиление генерации АФК, наблюдавшееся под влиянием СК. Как отмечалось выше, на культуре клеток проса показан значительный вклад НАДФН-оксидазы в генерацию супероксида и пероксида водорода и меньшая роль пероксидаз (Geetha, Shetty, 2002). В то же время на изолированных корнях пшеницы (Minibaeva et al., 2001) получены данные о преимущественном вкладе супероксид-генерирующих форм пероксидазы в реализацию эффектов СК. Нами в экспериментах с изолированными колеоптилями пшеницы показано частичное снятие вызываемого СК усиления генерации АФК ингибитором пероксидазы салицилгидроксамовой кислотой (Колупаев та ін., 2011). В то же время, как уже отмечалось, данный эффект частично угнетался и

ингибиторами НАДФН-оксидазы. Вероятно, в усилении образования $O_2^{\cdot-}$ в колеоптилях, обработанных СК, задействованы как минимум два ферментативных источника и вклад каждого из них в этот эффект вполне сопоставим (Колупаев та ін., 2011). Влияние СК на активность АФК-генерирующих ферментов колеоптилей пшеницы, по всей вероятности, опосредовано кальцием, поскольку существенно угнеталось блокатором кальциевых каналов верапамиллом (Колупаев, Карпец, 2010).

Активность пероксидазы может изменяться под влиянием оксида азота, хотя эффекты неоднозначны даже в пределах одного вида растений. Так, введение доноров NO в апопласт листьев пшеницы приводило к повышению активности внеклеточной пероксидазы и накоплению АФК (Викторова и др., 2010). В то же время при обработке колеоптилей пшеницы нитропруссидом натрия активации внеклеточных форм пероксидазы не отмечалось, а наблюдаемое усиление генерации супероксидного анион-радикала не подавлялось ингибитором пероксидазы салицилгидроксамовой кислотой (Карпец и др., 2011). Таким образом, усиление образования $O_2^{\cdot-}$ в колеоптилях пшеницы, обработанных донором NO, происходит, по-видимому, преимущественно за счет активации НАДФН-оксидазы.

Повышение активности АФК-генерирующих пероксидаз зарегистрировано и под влиянием АБК. Этот стрессовый фитогормон активировал НАДФН-зависимую пероксидазу клеточных стенок корней проростков риса (Lin, Kao, 2001).

В регуляции активности пероксидазы может принимать участие и пероксид водорода, выступающий в данном случае и в качестве сигнальной молекулы, и в качестве субстрата. Примечательно, что под его влиянием может происходить не только повышение активности АФК-генерирующих форм пероксидазы (Часов и др., 2002), но и ее снижение. Так, в наших экспериментах под действием экзогенного пероксида водорода отмечалось ингибирование ионносвязанной и растворимой форм пероксидазы колеоптилей пшеницы (Колупаев, Карпец, 2008). Подобное явление зарегистрировано и на колеоптилях кукурузы (Шарова, 1999). Эффект угнетения пероксидазы в присутствии пероксида водорода *in situ* и *in vitro* показан на примере гипокотилей *Lupinus albus* (Hernandez-Ruiz et al., 2000). Одной из причин угнетения пероксидазной активности под действием пероксида

водорода может быть ее переключение на каталазную. Такое явление, в частности, зарегистрировано для нескольких форм апопластных пероксидаз, которые при высоких концентрациях пероксида водорода проявляли каталазную активность (Mika et al., 2004). Возможно, что оно имеет защитное значение, направленное на предотвращение образования избытка АФК.

Изменение активности пероксидазы в растениях в ответ на действие стрессоров.

Пероксидаза, без сомнения, относится к наиболее изученным «стрессовым» ферментам (Mika et al., 2004). При этом, однако, во многих случаях бывает сложно разграничить АФК-генерирующую и другие функции пероксидазы (связанные с обезвреживанием пероксида водорода, модификацией клеточных стенок и пр.). В связи с этим ограничимся отдельными примерами, в которых показана связь повышения активности пероксидаз с усилением генерации АФК. При раневом стрессе зарегистрирован быстрый выход пероксидаз из цитоплазмы в апопласт корней пшеницы. Этот эффект сопровождался усилением генерации супероксидного анион-радикала, чувствительным к ингибиторам пероксидаз (Minibayeva et al., 2009). Авторы полагают, что экстраклеточные пероксидазы выполняют как оксидазные, так и собственно пероксидазные функции.

Увеличение активности пероксидазы при одновременном снижении активности супероксиддисмутазы и каталазы показано у растений *Carthamus tinctorius* L. в условиях засухи (Mostafa et al., 2011). Повышение активности экстраклеточных пероксидаз с одновременным усилением генерации супероксида наблюдалось в ответ на обезвоживание и последующую регидратацию у печеночника (*Dumortiera hirsute*) (Jackson et al., 2010). При этом также увеличивалась активность тирозиназы (КФ 1.10.3.1). Предполагается, что одновременное повышение активности двух этих ферментов способствует лигнификации клеточных стенок и образованию меланина, что важно для защиты от патогенов и некоторых абиотических стрессоров (Jackson et al., 2010).

Повышение активности апопластной пероксидазы и усиление образования пероксида водорода в ответ на кратковременное действие высоких закалывающих температур, чувствительное к ингибитору этого фермента салицилгидроксамовой кислоте, наблюдалось в корнях пшеницы (Колупаев и др., 2011). Правда, как

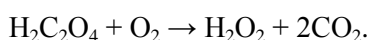
ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ

отмечалось выше, повышение содержания H_2O_2 частично нивелировалось и ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом, что позволяет предполагать участие обоих названных ферментов в генерации АФК. Примечательно, что эффект закаливания проростков пшеницы угнетался также как ингибитором НАДФН-оксидазы, так и ингибитором пероксидазы, а при одновременном их применении эффекты усиливались.

Во многих работах показано участие свободных и связанных апопластных пероксидаз в генерации АФК растениями в ответ на действие патогенов и их элиситоров (Beswick et al., 1997; Bolwell et al., 1999; Minibayeva et al., 2009). Роль активации пероксидаз в устойчивости растений к биотическим стрессорам исследуется давно и периодически становится предметом анализа в обзорных работах (Миннибаева, Гордон, 2003; Minibayeva et al., 2009).

Оксалатоксидаза

Оксалатоксидаза (КФ 1.2.3.4) катализирует окисление щавелевой кислоты молекулярным кислородом с образованием пероксида водорода (Berna et al., 1999):



Этот фермент до сих пор остается малоизученным. На примере оксалатоксидазы ячменя показано, что фермент содержит марганец, однако в нем отсутствуют флаavin, железо или медь, что характерно для большинства других ферментов, участвующих в восстановлении молекулярного кислорода (Requena, Bornemann, 1999). Имеются сведения о локализации оксалатоксидазы в цитоплазме, клеточных стенках и плазматической мембране (Viletic, Sukalovic, 2000; Трошина и др., 2007).

Считается, что функциональная роль этого фермента состоит с одной стороны в утилизации щавелевой кислоты в растительных тканях, с другой – в генерации АФК, прежде всего необходимых для защиты растений от патогенов (Berna, Bernier, 1999).

Данных о регуляции активности оксалатоксидазы сигнальными посредниками пока очень мало. Показано существенное повышение активности фермента в каллусах пшеницы при инкубировании на среде с добавлением хлорида кальция в концентрации 4-8 мМ (Максимов и др., 2010). Однако механизмы этого эффекта пока не ясны.

Имеются сведения о повышении активности оксалатоксидазы в coleoptilyax и интактных проростках пшеницы под влиянием СК (Трошина и др., 2007; Ястреб, Колупаев, 2011). При этом сделано заключение о том, что вклад оксалатоксидазы в индуцируемое СК накопление пероксида водорода в coleoptilyax пшеницы значительно меньше по сравнению с другими АФК-генерирующими ферментами – НАДФН-оксидазой и пероксидазой (Колупаев та ін., 2011; Ястреб, Колупаев, 2011). В то же время показано существенное усиление под влиянием СК экспрессии гена оксалатоксидазы в листьях пшеницы, инфицированных *Septoria nodorum* Berk. Похожий эффект вызывала и жасмоновая кислота (Заикина и др., 2011).

Показано повышение активности оксалатоксидазы и пероксида водорода в каллусах пшеницы под влиянием фитогормонов – АБК и кинетина (Яруллина и др., 2008).

Роль оксалатоксидазы как АФК-генерирующего фермента в устойчивости растений к действию стрессоров исследована пока недостаточно. Имеются сведения о повышении активности фермента у растений пшеницы в ответ на заражение патогенными грибами – возбудителями корневой гнили *Bipolaris sorokiniana*, септориоза *Septoria nodorum* и твердой головни *Tilletia caries*, причем отмечается связь между устойчивостью сортов к указанным патогенам и степенью повышения активности оксалатоксидазы (Яруллина и др., 2003; Трошина и др., 2007).

Увеличение активности оксалатоксидазы у растений пшеницы зарегистрировано и в ответ на действие засоления, низких и высоких температур (Яруллина и др., 2003).

Трансформация растений табака геном оксалатоксидазы пшеницы вызывала усиление продуцирования пероксида водорода, которое сопровождалось повышением активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, аскорбатпероксидазы и глутатионредуктазы. Трансгенные растения были устойчивы к агенту окислительного стресса метилвиологену. При этом обработка трансформированных растений ингибиторами оксалатоксидазы или скавенжерами пероксида водорода снижала их устойчивость к окислительному стрессу (Wan et al., 2009). Эти результаты достаточно убедительно свидетельствуют о роли оксалатоксидазы как АФК-генерирующего фермента в индуцировании устойчивости растений. В то же время обработка листьев перца щавелевой

кислотой повышала их теплоустойчивость, но не влияла на активность оксалаатоксидазы, хотя индуцировала пероксидазу (Zhang et al., 2001). В наших экспериментах под действием щавелевой кислоты происходило относительно небольшое повышение активности оксалаатоксидазы в колеоптилях пшеницы, но почти не увеличивалось содержание в них пероксида водорода. Также экзогенная щавелевая кислота слабо влияла на теплоустойчивость колеоптилей пшеницы (Ястреб, Колупаев, 2011). Возможно, реакция на щавелевую кислоту и вклад оксалаатоксидазы в формирование защитных реакций существенно зависит от видовых особенностей растений, в частности, от базовой активности оксалаатоксидазы и содержания щавелевой кислоты. Пшеница как растение с высокой конститутивной активностью оксалаатоксидазы может слабо реагировать на действие экзогенной щавелевой кислоты.

Заключение

В настоящем обзоре акцентируется внимание на ферментативных источниках АФК, локализованных преимущественно в плазматической мембране и клеточных стенках. Остается не ясным, могут ли ферменты, генерирующие АФК, например, НАДФН-оксидаза, быть непосредственными мишенями действия стрессоров. Пока что аргументов в пользу такого предположения почти нет. Более популярна точка зрения, согласно которой вследствие различных воздействий (температурных, осмотических) могут изменяться характеристики мембран, что прямо либо опосредованно (например, через активацию кальциевых каналов и увеличение концентрации цитозольного кальция) приводит к повышению активности ферментов – генераторов АФК, в первую очередь, НАДФН-оксидазы и пероксидаз.

С другой стороны, не исключено, что при действии стрессоров активация ферментов – генераторов апопластных АФК – может происходить с помощью сигналов, поступающих из других компартментов клетки. В фотосинтезирующих организмах основным источником АФК считается хлоропласт и прежде всего его электрон-транспортная цепь (Shao et al., 2007; Креславский и др., 2012). Существенным является также вклад митохондрий и пероксисом в образование АФК (Mittler, 2002). Вероятность акцептирования электронов от переносчиков электрон-транспортных цепей молекулярным кислородом с образованием АФК возрастает, если нарушается координация мембраноассо-

цированных процессов и процессов, происходящих в строме хлоропластов и матриксе митохондрий (Пиотровский и др., 2011). В связи с этим вполне закономерным представляется усиление стохастического образования АФК в хлоропластах и митохондриях в условиях действия стрессоров. Вероятно, что часть образующихся при этом АФК выходит за пределы указанных компартментов, что вызывает модификацию многих белков и других редокс-чувствительных компонентов. Возможно, что такие эффекты являются важными составляющими АФК-сигналинга. Тем не менее, пока не известно, каким образом происходит превращение сигнала, вызываемого АФК, образующимися при стрессах вследствие стохастических процессов, в более мощный и управляемый растительным организмом сигнал, формируемый ферментативными источниками АФК.

К настоящему времени получены данные о том, что одни и те же регуляторные молекулы (например, брассиностероиды) могут индуцировать генерацию АФК как в апопласте, так и в хлоропластах. Предполагается, что таким образом могут регулироваться различные сигнальные пути в фотосинтезирующих органах (Zhang et al., 2010). С другой стороны, как уже отмечалось, в последнее время появились данные, свидетельствующие о возможной активации НАДФН-оксидазы плазмалеммы с помощью АФК-сигналов, исходящих из хлоропластов. Такие эффекты могут иметь место при активации реакции сверхчувствительности у растений, устойчивых к патогенам (Zubriggen et al., 2010).

Актуальным представляется и взаимодействие ферментативных путей образования АФК в апопласте. Изложенный выше материал свидетельствует о существовании как минимум нескольких ферментативных источников АФК, локализованных в клеточных стенках, плазмалемме и, возможно, в цитоплазме. Кроме НАДФН-оксидазы, пероксидаз, оксалаатоксидазы, АФК могут генерировать полиаминоксидаза, флавин-содержащие оксидазы и другие ферменты (Mittler, 2002; Swanson, Gilroy, 2010). В то же время, как свидетельствуют данные литературы, наиболее существенный вклад в генерацию АФК вносят НАДФН-оксидаза и пероксидаза. Специальных исследований, посвященных взаимодействию этих ферментов, пока мало. Имеются сведения о возможности активации НАДФН-оксидазы пероксидом водорода, который могут генерировать пероксидазы клеточных стенок (Mehdy, 1994).

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ

На основании ингибиторного анализа в некоторых работах показано одновременное участие НАДФН-оксидазы и пероксидазы в реакциях растений на стрессоры и действие экзогенных биорегуляторов, например, салициловой или янтарной кислот (Geetha, Shetty, 2002; Колупаев и др., 2011; Колупаев та ін., 2011).

Наряду с АФК-генерирующими ферментами в клеточном сигналинге, по-видимому, задействованы и те, которые обычно относят к системе антиоксидантов. Таким ферментом, в частности, является супероксиддисмутаза, превращающая супероксидный радикал в более стабильный пероксид водорода, который рассматривается как классическая сигнальная молекула. Сведения о наличии СОД в апопласте (Ogawa et al., 1997; Miller et al., 2010) дают основание рассматривать эту структуру как производящую самодостаточный АФК-сигнал.

Активность одних и тех же АФК-генерирующих ферментов может изменяться под влиянием различных сигнальных молекул и ионов, фитогормонов, метаболитов. Отдельные мессенджеры, например, ионы кальция, могут оказывать прямое влияние на молекулы энзимов, либо активировать протеинкиназы, фосфорилирующие каталитические субъединицы, или усиливать синтез данных ферментов, влияя на состояние транскрипт-факторов через протеинкиназы/протеинфосфатазы (Wong et al., 2007; Ogasawara et al., 2008). Кроме того, влияние сигнальных мессенджеров на активность ферментов в системе *in vivo* часто может быть опосредовано их эффектами на содержание других интермедиатов в клетке. Как упоминалось выше, оксид азота, индуцирующий АФК-генерирующие ферменты, оказывает влияние на содержание кальция, притом несколькими различными путями (Lamotte et al., 2004; Neill et al., 2008). Естественно, такая множественность путей регуляции активности АФК-генерирующих систем усложняет их исследование, в то же время, по-видимому, она свидетельствует о важности этих систем для функционирования клетки. Существование множественных механизмов регуляции АФК-генерирующих ферментов, вероятно, расширяет возможности клетки для управления их активностью.

Повышение активности ферментов, генерирующих АФК, относится к малоспецифическим реакциям растений на стрессоры, как, собственно, и само увеличение содержания АФК. В последние годы получено немало экс-

периментальных данных, свидетельствующих в пользу физиологической целесообразности таких реакций, прежде всего как сигналов, посредством которых активируются адаптивные процессы. Более того, АФК задействованы в трансдукции эффектов многих других сигнальных молекул, фитогормонов и их аналогов. По-видимому, АФК можно рассматривать как посредников клеточного сигналинга, сопоставимых по универсальности с ионами кальция (Дмитрієв, Кравчук, 2005).

В то же время вопрос о специфичности сигналов АФК предметно обсуждается сравнительно недавно (Moller, Sweetlove, 2010; Mittler et al., 2011). Одна из концепций предполагает, что АФК используются главным образом в качестве общего сигнала, предшествующего активации всей сигнальной сети. При этом специфика достигается за счет появления других сигнальных молекул. Согласно альтернативной гипотезе сигнал самих АФК является достаточно информативным и расшифровывается с помощью набора рецепторов АФК, имеющихся в клеточных компартментах (Mittler et al., 2011). По-видимому, результат эффектов АФК как сигнальных посредников определяется не только их количеством, но и клеточной локализацией, взаимодействием с антиоксидантами, различными регуляторными молекулами и пр. Исследования таких взаимодействий, особенно методами неразрушающего контроля в реальном времени, только начались.

ЛИТЕРАТУРА

- Викторова Л.В., Максютова Н.Н., Трифонова Т.В., Андрианов В.В. Образование пероксида водорода и оксида азота при введении нитрата и нитрита в апопласт листьев пшеницы // Биохимия. – 2010. – Т. 75, № 1. – С. 117-124.
- Глянько А.К., Васильева Г.Г., Ищенко А.А., Митанова Н.Б., Алексеенко А.Л. Активность НАДФН-оксидазы в корнях проростков гороха при ризобийной инфекции в зависимости от действия абиотических и биотических факторов // Прикл. биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46, № 4. – С. 479-485.
- Глянько А.К., Ищенко А.А., Митанова Н.Б., Васильева Г.Г. НАДФН-оксидаза растений // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2009. – Вип. 2 (17). – С. 6-18.
- Дмитрієв О.П., Кравчук Ж.М. Активні форми кисню та імунітет рослин // Цитологія і генетика. – 2005. – Т. 39, № 4. – С. 64-75.

- Заикина Е.А., Трошина Н.Б., Бурханова Г.Ф., Яруллина Л.Г.* Влияние салициловой и жасмоновой кислот на экспрессионную активность гена оксалактоксидазы и развитие защитного ответа в листьях пшеницы при инфицировании различными по агрессивности штаммами *Septoria nodorum* Berk. // Биомика. – 2011. – Т. 1, № 2. – С. 38-40.
- Иевиньш Г.В.* Peroксидазы растений: строение, свойства, биохимический полифункционализм // Изв. АН Латв. ССР. – 1987. – № 7 (480). – С. 90-97.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О.* Влияние нитропруссиды натрия на теплоустойчивость coleoptилей пшеницы: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 6. – С.883-890.
- Колупаев Ю.Е., Акинина Г.Е., Мокроусов А.В.* Индукция теплоустойчивости coleoptилей пшеницы ионами кальция и ее связь с окислительным стрессом // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 2. – С. 227-232.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В.* Активные формы кислорода при адаптации растений к стрессовым температурам // Физиология и биохимия культур. растений. – 2009. – Т. 41, № 2. – С. 95-108.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В.* Окислительный стресс и состояние антиоксидантной системы в coleoptилях пшеницы при действии пероксида водорода и нагрева // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2008. – Вип. 2 (14). – С. 42-52.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В.* Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. – Киев: Основа, 2010. – 351 с.
- Колупаев Ю.Е., Обозный А.И., Карпец Ю.В.* Супрессия эффекта теплового закаливания растений антиоксидантами и ингибиторами прооксидантных ферментов // Клеточная сигнализация у растений: III-й междунар. симпоз. – Казань, 2011. – С. 81-82.
- Колупаев Ю.С., Ястреб Т.О., Швиденко М.В., Карпец Ю.В.* Вплив салицилової і янтарної кислот на утворення активних форм кисню в coleoptилях пшениці // Укр. біохім. журн. – 2011. – Т. 83, № 5. – С.82-88.
- Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В.* Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 163-178.
- Кутузова Г.Д., Угарова Н.Н.* Стабилизация пероксидазы хрена при ацетилировании фермента в присутствии ионов кальция // Биоорганическая химия. – 1981. – Т. 7, № 1. – С. 75-85.
- Лебедева О.В., Угарова Н.Н.* Стационарная кинетика реакции окисления NADH пероксидом водорода в присутствии пероксидазы хрена // Биохимия. – 1997. – Т. 62, № 2. – С. 249-253.
- Максимов И.В., Трошина Н.Б., Сурина О.Б., Черепанова Е.А., Яруллина Л.Г.* Влияние ионов Ca^{2+} на метаболизм активных форм кислорода в совместных культурах каллусов пшеницы с грибом *Tilletia caries* // Прикл. биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46, № 5. – С. 577-582.
- Медведев С.С., Танкелюн О.В., Батов А.Ю., Воронина О.В., Мартинец Я., Махачкова И.* Ионофорные функции фосфатидной кислоты в растительной клетке // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 1. – С. 45-53.
- Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К.* Свойства и функции НАДФН-оксидаз клеток млекопитающих // Успехи соврем. биологии. – 2006. – Т. 126, № 1. – С. 97-112.
- Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х.* Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 3. – С. 459-464.
- Пиотровский М.С., Шевырева Т.А., Жесткова И.М., Трофимова М.С.* Активация НАДФН-оксидазы плазмалеммы при действии низких положительных температур на этиолированные проростки кукурузы // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 234-242.
- Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
- Трошина Н.Б., Яруллина Л.Г., Валеев А.Ш., Максимов И.В.* Индукция салициловой кислотой устойчивости пшеницы к *Septoria nodorum* Berk. // Известия Российской АН. Сер. биологическая. – 2007. – № 5. – С.545-550.
- Часов А.В., Гордон Л.Х., Колесников О.П., Минибаева Ф.В.* Peroксидаза клеточной поверхности – генератор супероксид-аниона в корневых клетках пшеницы при раневом стрессе // Цитология. – 2002. – Т. 44, № 7. – С. 691-696.
- Шарова Е.Н.* Роль пероксида водорода в регуляции растяжимости первичных клеточных стенок // 4-й Съезд О-ва физиологов раст. России. Междунар. конф. «Физиология растений – наука 3-го тысячелетия»: Тез. докл. – М, 1999. – Т. 2. – С. 738-739.
- Яруллина Л.Г., Трошина Н.Б., Максимов И.В., Хайруллин Р.М.* Участие оксалактоксидазы в специфической защитной активации окисления ортофенилендиамина в проростках пшеницы при стрессе // Агрохимия. – 2003. – № 12. – С. 55-59.
- Яруллина Л.Г., Трошина Н.Б., Юсупова З.Р., Сурина О.Б., Максимов И.В.* Фитогормоны в защит-

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ

- ном ответе каллусов пшеницы на инфицирование возбудителем твердой головни // *Агрохимия*. – 2008. – № 5. – С. 28-34.
- Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е.* Действие ароматических и дикарбоновых алифатических кислот на активность пероксидазы и оксалактоксидазы в изолированных coleoptilyах пшеницы // *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*. – 2011. – Вип. 3 (24). – С. 35-42.
- Airaki M., Letierrier M., Mateos R.M., Valderrama R., Chaki M., Barroso J.B., Del Rio L.A., Palma J.M., Corpas F.J.* Metabolism of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under low temperature stress // *Plant Cell Environ.* – 2012. – V. 35. – P. 281–295.
- Ananieva E.A., Popova L.P.* Regulatory role of salicylic acid in paraquat-induced oxidative damage in barley plants // *Докл. Българ. АН*. – 2002. – V. 55, № 7. – P. 65-68.
- Apel K., Hirt H.* Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2004. – V. 55. – P. 373-399.
- Bailey-Serres J., Chahg R.* Sensing and signalling in response to oxygen deprivation in plants and other organisms // *Ann. Bot.* – 2005. – V. 96. – P. 507-518.
- Berna A., Bernier F.* Regulation by biotic and abiotic stress of a wheat germin gene encoding oxalate oxidase, a H₂O₂-producing enzyme // *Plant Mol. Biol.* – 1999. – V. 39. – P. 539-549.
- Besson-Bard A., Pugin A., Wendehenne D.* New insights into nitric oxide signaling in plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2008. – V. 59. – P. 21-39.
- Bestwick C.S., Brown I.R., Bennett M.H.R., Mansfield J.W.* Localization of hydrogen peroxide accumulation during the hypersensitive reaction of lettuce cells to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* // *Plant Cell*. – 1997. – V. 9. – P. 209-221.
- Bolwell G.P., Blee K.A., Butt V.S., Davies D.R., Gardner S.L., Gerrish C., Minibayeva F., Rowntree E.G., Wojtaszek P.* Recent advances in understanding the origin of the apoplastic oxidative burst in plant cells // *Free Radic. Res.* – 1999. – V. 31. – P. S137- S145.
- Bolwell G.P., Davies D.R., Gerrish C., Auh C.-K., Murphy T.M.* Comparative biochemistry of the oxidative burst produced by rose and French bean cell reveals two distinct mechanisms // *Plant Physiol.* – 1998. – V. 116. – P. 1379-1385.
- Bolwell G.P., Woftastek P.* Mechanism for the generation of reactive oxygen species in plant defense-broad perspective // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 1997. – V. 51. – P. 347-349.
- Cho D., Shin D., Jeon B.W., Kwak J.M.* ROS-mediated ABA signaling // *J. Plant Biol.* – 2009. – V. 52. – P. 102-113.
- Demidchik V., Shang Z., Shin R., Thompson E., Rubio L., Laohavisit A., Mortimer J.C., Chivasa S., Slabas A.R., Glover B.J., Schachtman D.P., Shabala S.N., Davies J.M.* Plant extracellular ATP signalling by plasma membrane NADPH oxidase and Ca²⁺ channels // *Plant J.* – 2009. – V. 58. – P. 903–913.
- Desikan R., Cheung M.-K., Bright J., Henson D., Hancock J.T., Neill S.J.* ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells // *J. Exp. Bot.* – 2004. – V. 55. – P. 205-212.
- Frahry G., Schopfer P.* NADH-stimulated, cyanide-resistant superoxide production in maize coleoptiles analyzed with a tetrazolium-based assay // *Planta*. – 2001. – V. 212. – P.175-183.
- Gaspar Th., Penel C., Hagege D., Greppin H.* Peroxidases in plant growth, differentiation, and development processes // *Biochemical, molecular, and physiological aspects of plant peroxidases* /Eds Lobazzewski G. et al. – Lublin, Geneva: Univ. M. Curie-Sklodowska, 1991. – P. 249-280.
- Geetha H.M., Shetty H.S.* Expression of oxidative burst in cultured cells of pearl millet cultivars against *Sclerospora graminicola* inoculation and elicitor treatment // *Plant Sci.* – 2002. – V. 163. – P. 653-660.
- Hernández-Ruiz J., Rodríguez-López J.N., García-Cánovas F., Acosta M., Arnao M.B.* Characterization of isoperoxidase-B2 inactivation in etiolated *Lupinus albus* hypocotyls // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – V. 1478. – P. 78-88.
- Ito H., Nishitani K., Shibuya N.* Characterization of NADPH oxidase and its role in elicitor-induced oxidative burst // *Plant Cell Physiol.* – 1999. – V. 40. – P. 85.
- Jackson L., Li Y., Sulaiman M., Beckett R.P., Minibayeva F.V.* Cell wall peroxidases in the liverwort *Dumortiera hirsuta* are responsible for extracellular superoxide production, and can display tyrosinase activity // *Physiol. Plant.* – 2010. – V. 138. – P.474–484.
- Jaspers P., Kangasjarvi J.* Reactive oxygen species in abiotic stress signaling // *Physiol. Plant.* – 2010. – V. 138. – P. 405-413.
- Jiang M., Zhang J.* Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in abscisic acid- and water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings // *Planta*. – 2002. – V. 215. – P. 1022-1030.
- Kaye Y., Golani Y., Singer Y., Leshem Y., Cohen G., Ercetin M., Gillaspay G., Levine A.* Inositol polyphosphate 5-phosphatase7 regulates the production of re-

- active oxygen species and salt tolerance in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 157. – P. 229–241.
- Klausner R.D., Rouault T.A., Harford J.B.* Regulating the fate of mRNA: the control of cellular iron metabolism // *Cell.* – 1993. – V. 72. – P. 19-28.
- Kobayashi M., Kawakita K., Maeshima M., Doke N., Yoshioka H.* Subcellular localization of Strboh proteins and NADPH-dependent O₂⁻-generating activity in potato tuber tissues // *J. Exp. Bot.* – 2006. – V. 57. – P. 1373–1379.
- Kwak J.M., Mori I.C., Zhen M. P., Leonhardt N., Torres M.A., Dangl J.L., Bloom R.E., Bodde S., Jones J.D.G., Schroeder J.* NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF genes function in ROS-dependent ABA signaling in *Arabidopsis* // *EMBO J.* – 2003. – V. 22. – P. 2623–2633.
- Kwak J.M., Nguyen V., Schroeder J.I.* The role of reactive oxygen species in hormonal responses // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 323-329.
- Lamotte O., Guold K., Lecourieux D., Sequeira-Legrand A., Lebrun-Garcia A., Durner J., Pugin A., Wendehenne D.* Analysis of nitric oxide signaling functions in tobacco cells challenged by the elicitor cryptogein // *Plant Physiol.* – 2004. – V. 135. – P. 516-529.
- Lanteri M.L., Laxalt A.M., Lamattina L.* Nitric oxide triggers phosphatidic acid accumulation via phospholipase D during auxin-induced adventitious root formation in *Cucumber* // *Plant Physiol.* – 2008. – V. 147. – P. 188-198.
- Laxalt A.M., Raho N., Ten Have A., Lamattina L.* Nitric oxide is critical for inducing phosphatidic acid accumulation in xylanase-elicited tomato cells // *J. Biol. Chem.* – 2007. – V. 282. – P. 21160-21168.
- Leon J., Lawton M.A., Raskin I.* Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in *Tobacco* // *Plant Physiol.* – 1995a. – V. 108. – P. 1673-1678.
- Leon J., Shulaev V., Yalpani N., Lawton M.A., Raskin I.* Benzoic acid 2-hydroxylase, a soluble oxygenase from tobacco, catalyzes salicylic acid biosynthesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995b. – V. 92. – P. 10413-10417.
- Leshem Y., Seri L., Levine A.* Induction of phosphatidylinositol 3-kinase-mediated endocytosis by salt stress leads to intracellular production of reactive oxygen species and salt tolerance // *Plant J.* – 2007. – V. 51. – P. 185–197.
- Lherminier J., Elmayan T., Fromentin J., Elaraqui K.T., Vesa S., Morel J., Verrier J.L., Cailleteau B., Blein J.P., Simon-Plas F.* NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species production: subcellular localization and reassessment of its role in plant defense // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 2009. – V. 22. – P. 868–881.
- Lin C.C., Kao C.H.* Abscisic acid induced changes in cell wall peroxidase activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings // *Plant Sci.* – 2001. – V. 160. – P. 323-329.
- Lin F., Ding H., Wang J., Zhang H., Zhang A., Zhang Y., Tan M., Dong W., Jiang M.* Positive feedback regulation of maize NADPH oxidase by mitogen-activated protein kinase cascade in abscisic acid signaling // *J. Exp. Bot.* – 2009. – V. 60. – P. 3221–3238.
- Martinez C., Baccou J.-C., Bresson E., Baissa Y., Daniel J.-F., Jalloul A., Montillet J.-L., Geiger J.-P., Assigbetsé K., Nicole M.* Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race of *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum* // *Plant Physiol.* – 2000. – V. 122. – P. 757-766.
- Mazel A., Leshem Y., Tiwari B.S., Levine A.* Induction of salt and osmotic stress tolerance by overexpression of an intracellular vesicle trafficking protein AtRab7 (AtRabG3e) // *Plant Physiol.* – 2004. – V. 134. – P. 118–128.
- Mehdy M.C.* Active oxygen species in plant defense against pathogens // *Plant Physiol.* – 1994. – V. 105. – P. 467-472.
- Mika A., Boenisch M.J., Hopff D., Lühje S.* Membrane-bound guaiacol peroxidases from maize (*Zea mays* L.) roots are regulated by methyl jasmonate, salicylic acid, and pathogen elicitors // *J. Exp. Bot.* – 2010. – V. 61. – P. 831–841.
- Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lühje S.* Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species // *Phytochem. Rev.* – 2004. – V. 3. – P. 173–193.
- Miller R., Suzuki N., Ciftci-Yilmaz S., Mittler R.* Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses // *Plant Cell Environ.* – 2010. – V. 33. – P. 453-467.
- Minibayeva F., Kolesnikov O., Chasov A., Beckett R.P., Lühje S., Vylegzhanina N., Buck F., Böttger M.* Wound-induced apoplastic peroxidase activities: their roles in the production and detoxification of reactive oxygen species // *Plant Cell Environ.* – 2009. – V. 32. – P. 497-508.
- Minibayeva F.V., Gordon L.K., Kolesnikov O.P., Chasov A.V.* Role of extracellular peroxidase in the superoxide production by wheat root cells // *Protoplasma.* – 2001. – V. 217. – P. 125-128.
- Mittler R.* Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends Plant Sci.* – 2002. – V. 7. – P. 405-410.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ

- Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Van Breusegem F. ROS signaling: the new wave? // *Trends Plant Sci.* – 2011. – V. 16. – P. 300-309.
- Moller I.M., Sweetlove L.J. ROS signaling-specificity is required // *Trends Plant Sci.* – 2010. – V. 15. – P. 370-374.
- Mostafa H., Mohammad M.S.A., Mojtaba K.; Faezeh G. Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress // *Acta Physiol. Plant.* – 2011. – V. 33. – P. 105-112.
- Neill S., Bright J., Desikan R., Hancock J., Harrison J., Wilson I. Nitric oxide evolution and perception // *J. Exp. Bot.* – 2008. – V. 59. – P. 25-35.
- Ogasawara Y., Kaya H., Hiraoka G., Yumoto F., Kimura S., Kadota Y., Hishinuma H., Senzaki E., Yamagoe S., Nagata K., Nara M., Suzuki K., Tanokura M., Kuchitsu K. Synergistic Activation of the *Arabidopsis* NADPH Oxidase AtrbohD by Ca²⁺ and Phosphorylation // *J. Biol. Chem.* – 2008. – V. 283. – P. 8885-8892.
- Ogawa K., Kanematsu S., Asada K. Generation of superoxide anion and localisation of Cu/Zn-superoxide dismutase in vascular tissue of spinach hypocotyls: their association with lignification // *Plant Cell Physiol.* – 1997. – V. 38. – P. 1118-1126.
- Park H.J., Miura Y., Kawakita K., Yoshioka H., Doke N. Physiological mechanisms of a sub-systemic oxidative burst triggered by elicitor-induced local oxidative burst in potato tuber slices // *Plant Cell Physiol.* – 1998. – V. 39. – P. 1218-1225.
- Pinontoan R., Yoshioka H., Kawasaki T., Shimamoto K. Direct interaction of OsRac with NADPH oxidase regulates ROS production in defense signaling of rice // *Plant Cell Physiol.* – 2003. – V. 44. – P. 178.
- Requena L., Bornemann S. Barley (*Hordeum vulgare*) oxalate oxidase is a manganese-containing enzyme // *Biochem. J.* – 1999. – V. 343. – P. 185-190.
- Rodriguez-Serrano M., Romero-Puertas M. C., Zabalza A., Corpas F.J., Gomez M., Del Rio L.A.M., Sandalio L.A. Cadmium effect on oxidative metabolism of pea (*Pisum sativum* L.) roots imaging of reactive oxygen species and nitric oxide accumulation *in vivo* // *Plant Cell Environ.* – 2006. – V. 29. – P. 1532-1544.
- Sagi M., Fluhr R. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 336-340.
- Sagi M., Fluhr R. Superoxide production by plant homologues of the gp91^{phox} NADPH oxidase: modulation of activity by calcium and by tobacco mosaic virus infection // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 126. – P. 1281-1290.
- Sang Y., Cui D., Wang X. Phospholipase D and phosphatidic acid-mediated generation of superoxide in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 126. – P. 1449-1458.
- Scandalios J.G. The rise of ROS // *Trends Biochem. Sci.* – 2002. – V. 27. – P. 483-486.
- Shao N., Krieger-Liszkay A., Schroda M., Beck C.F. A reporter system for the individual detection of hydrogen peroxide and singlet oxygen: its use for the assay of reactive oxygen species produced *in vivo* // *Plant J.* – 2007. – V. 50. – P. 475-487.
- Shen W., Nada K., Tachibana S. Involvement of polyamines in the chilling tolerance of cucumber cultivars // *Plant Physiol.* – 2000. – V. 124. – P. 431-439.
- Straus M.R., Rietz S., Themaat E.V.L., Bartsch M., Parker J.E. Salicylic acid antagonism of EDS1-driven cell death is important for immune and oxidative stress responses in *Arabidopsis* // *Plant J.* – 2010. – V. 62. – P. 628-640.
- Suzuki N., Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction // *Physiol. Plant.* – 2006. – V. 126. – P. 45-51.
- Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R., Miller G. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress // *Plant Cell Environ.* – 2012. – V. 35. – P. 259-270.
- Swanson S., Gilroy S. ROS and plant development // *Physiol. Plant.* – 2010. – V. 138. – P. 384-392.
- Tenhaken R., Levine A., Brisson L., Dixon R., Lamb C. Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1995. V. 92. P. 4158-4163.
- Tewari R.K., Hahn E.J., Paek K.Y. Function of nitric oxide and superoxide anion in the adventitious root development and antioxidant defence in *Panax ginseng* // *Plant Cell Rep.* – 2008. – V. 27. – P. 563-573.
- Tognolli M., Penel C., Greppin H., Simon P. Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana* // *Gene.* – 2003. – V. 288. – P. 129-138.
- Torres M.A., Dangl J.L., Jones J.D.G. *Arabidopsis* gp91^{phox} homologues AtrbohD and AtrbohF are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – V. 99. – P. 517-522.
- Torres M.A., Jones J.D., Dangl J.L. Pathogen-induced, NADPH oxidase-deprived reactive oxygen intermediates suppress spread of cell death in *Arabidopsis thaliana* // *Nat. Genet.* – 2005. – V. 37. – P. 1130-1134.

- Tsuruhara A., Suzuki H., Tezuka T.* Inhibition of the activity of NAD(P)H-dependent oxidase in pistils of *Lilium longiflorum* by cAMP // *Plant Cell Physiol.* – 1999. – V. 40. – P. 1093-1098.
- Viletic M., Sukalovich V.H.* Characterization of cell wall oxalate oxidase from maize roots // *Plant Sci.* – 2000. – V. 157. – P. 257-263.
- Wan X., Tan J., Lu S., Lin C., Hu Y., Guo Z.* Increased tolerance to oxidative stress in transgenic tobacco expressing a wheat oxalate oxidase gene via induction of antioxidant enzymes is mediated by H₂O₂ // *Physiol. Plant.* – 2009. – V. 136 – P. 30-44.
- Wang L.J., Li S.H.* Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca²⁺ homeostasis and antioxidant systems in young grape plants // *Plant Sci.* – 2006. – V. 170. – P. 685-694.
- Wang X.* The role of phospholipase D in signaling cascades // *Plant Physiol.* – 1999. – V. 120. – P. 645-652.
- Wong H.L., Pinontoan R., Hayashi K., Tabata R., Yaeno T., Hasegawa K., Kojima C., Yoshioka H., Iba K., Kawasaki T., Shimamoto K.* Regulation of rice NADPH-oxidase by Rac GTPase to its N-terminal extension // *Plant Cell.* – 2007. – V. 19. – P. 4022-4034.
- Xia X.J., Chen Z., Yu J.Q.* ROS mediate brassinosteroids-induced plant stress responses // *Plant Signal. Behav.* – 2010. – V. 5. – P. 532-534.
- Xia X.J., Wang Y.J., Zhou Y.H., Tao Y., Mao W.H., Shi K., Asami T., Chen Z., Yu J.Q.* Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber // *Plant Physiol.* – 2009. – V. 150. – P. 801-814.
- Yoshioka H., Sugie K., Park H.J., Maeda H., Tsuda N., Kawakita K., Doke N.* Induction of plant gp91 *phox* homolog by fungal cell wall, arachidonic acid, and salicylic acid in potato // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 2001. – V. 14. – P. 725-736.
- Zhang A., Zhang J., Ye N., Cao J., Tan M., Zhang J., Jiang M.* ZmMPK5 is required for the NADPH oxidase-mediated selfpropagation of apoplastic H₂O₂ in brassinosteroid-induced antioxidant defence in leaves of maize // *J. Exp. Bot.* – 2010. – V. 61. – P. 4399-4411.
- Zhang Z., Li R., Wang J., Yan C., He Z.* Effects of oxalate pretreatment on the thermotolerance of pepper leaves // *J. Wuhan Univ. Natur. Sci. Ed.* – 2001. V. 47, № 2. – P. 238-242.
- Zurbriggen M.D., Carrillo N., Hajirezaei M.-R.* ROS signaling in the hypersensitive response. When, where and what for? // *Plant Signal. Behav.* – 2010. – V. 5. – P. 393-396.

Поступила в редакцию
23.01.2012 г.

ENZYMATIC SOURCES OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN PLANT CELLS: REGULATION OF ACTIVITY AND PARTICIPATION IN STRESS REACTIONS

Yu. Ye. Kolupaev, Yu. V. Karpets, T. O. Yastreb

*V. V. Dokuchayev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)*

The short characteristic of the basic enzyme systems participating in generation of reactive oxygen species (ROS) in plant cells – NADPH oxidases, peroxidases, oxalate oxidase – is adduced. Influence of signal messengers (calcium ions, a ROS, nitrogen oxide, salicylic acid, etc.), and also separate phytohormones on activity of the named enzymes is reviewed. Participation of ROS-generating enzyme systems in plants stress reactions is analyzed.

Key words: *NADPH oxidase, peroxidase, oxalate oxidase, reactive oxygen species, calcium, nitrogen oxide (NO), phytohormones, stress reactions*

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ

ФЕРМЕНТАТИВНІ ДЖЕРЕЛА АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ У РОСЛИННИХ КЛІТИНАХ: РЕГУЛЯЦІЯ АКТИВНОСТІ Й УЧАСТЬ У СТРЕСОВИХ РЕАКЦІЯХ

Ю. Є. Колупаєв, Ю. В. Карпець, Т. О. Ястреб

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

Наведена коротка характеристика основних ферментних систем, що беруть участь у генерації активних форм кисню (АФК) в рослинних клітинах – НАДФН-оксидази, пероксидаз, оксалатоксидази. Розглянуто вплив сигнальних посередників (іонів кальцію, АФК, оксиду азоту, саліцилової кислоти та ін.), а також окремих фітогормонів на активність названих ферментів. Аналізується участь ферментних систем, що генерують АФК, у стресових реакціях рослин.

Ключові слова: *НАДФН-оксидаза, пероксидаза, оксалатоксидаза, активні форми кисню, кальцій, оксид азоту (NO), фітогормони, стресові реакції*