

КЛІТИННІ МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ АДАПТИВНИХ РЕАКЦІЙ РОСЛИН НА ДІЮ ВИСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

Ю.Є. КОЛУПАЄВ^{1,2,*}, Т.О. ЯСТРЕБ¹, Н.І. РЯБЧУН¹,
А.І. ЄМЕЦЬ³, О.П. ДМИТРИЄВ^{4,**}, Я.Б. БЛЮМ³

¹ Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України, пр-т Героїв Харкова, 142, Харків, 61060, Україна

² Державний біотехнологічний університет, вул. Алчевських, 44, Харків, 61022, Україна

³ Державна установа Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, вул. Осиповського 2А, Київ, 04123, Україна

⁴ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, вул. Академіка Заболотного, 148, Київ, 03143, Україна

E-mail: *plant_biology@ukr.net, **dmitriev.ap@gmail.com

Екстремальні температури належать до найбільш небезпечних стресових абіотичних чинників, вплив яких на рослини особливо посилюється останніми десятиліттями. В огляді проаналізовано новітні відомості про механізми реценції сигналу гіпертермії рослинними клітинами. Розглянуто роль флюїдизації мембран, зміни стану кальцієвих каналів та посилення генерації активних форм кисню в сприйнятті сигналів гіпертермії. Окремо узагальнено значення газотрансмітерів (NO, H₂S) та їх взаємодії з іншими посередниками в трансдукції сигналів теплового стресу до ядра клітини. Проаналізовано роль ключових транскрипційних факторів (HSF, MBF, NAC та WRKY) в адаптації рослин до високих температур. Узагальнено сучасні уявлення про механізми активації і функціонування основних протекторних систем, що забезпечують стійкість рослин до гіпертермії (синтез білків теплового шоку, антиоксидантна і осмопротекторна системи). Наведено приклади генетичного поліпшення теплостійкості рослин шляхом трансформації генів, причетних до контролю вказаних систем.

Ключові слова: гіпертермія, теплостійкість рослин, сенсори теплового стресу, кальцій, АФК, газотрансмітери, фактори теплового шоку (HSF), білки теплового шоку (HSP), антиоксидантна система.

Вступ

Екстремальні температури належать до факторів, які найбільш різко і сильно впливають на рослини без обмежень внутрішньоклітинними бар'єрами. За умов гіпертермії ушкод-

ження або загибель клітин можуть статися впродовж кількох хвилин, що може призвести до колапсу клітинної організації (Wahid et al, 2007). Висока стресова температура порушує стабільність мембран, білків, структуру цитоскелету і модулює перебіг ферментативних реакцій, перешкоджаючи основним фізіологічним процесам, і створює метаболічний дисбаланс (Suzuki et al, 2012; Xalxo et al, 2020). На фізіологічному рівні вплив надмірно високих температур пригнічує проростання насіння, інгібує ріст рослин, знижує ефективність використання води. Негативний вплив гіпертермії зумовлений також порушенням функціонування фотосинтетичного апарату, окиснювальними пошкодженнями хлоропластів, прискореним старінням листків. У кінцевому підсумку високо-температурний стрес порушує репродуктивні функції і спричиняє зниження врожайності культурних рослин (Datir, 2020).

Частота виникнення теплового стресу в останні десятиліття істотно зросла через глобальні зміни клімату (Verma et al, 2020). Згідно з різними прогностичними моделями, вже до середини нинішнього століття середня температура на планеті може зрости на 3–6 °С, що значно збільшує ймовірність теплових ушкоджень рослин (Mohapatra, 2019). Вже нині тепловий стрес вважається одним з основних обмежень, що впливають на глобальне поширення рослин та врожайність сільськогосподарських культур на світовому рівні (Ali et al, 2020). Тому розуміння

механізмів розвитку адаптивних реакцій рослин на гіпертермію та внесок окремих стрес-протекторних систем в їх теплостійкість необхідні для виявлення маркерів стійкості, котрі можуть бути використані в селекції, для цілеспрямованої розробки фізіологічних прийомів з індукування їх резистентності та при генно-інженерному поліпшенні сільськогосподарських культур.

Адаптація і стійкість рослин до високих температур – складне біологічне явище, пов’язане зі сприйняттям гіпертермії, трансдукцією стресових сигналів, змінами експресії генів та формуванням фізіолого-біохімічних відповідей (Li, 2020). Останніми роками накопичено чимало даних стосовно процесів, критично важливих для виживання рослин за умов гіпертермії, зокрема, змін кальцієвого статусу клітин, редокс-гомеостазу, участі газотрансмітерів у передачі стресових сигналів, синтезу стресових білків тощо (Li, 2020; Singh et al, 2020; Verma et al, 2020; Yadav et al, 2020; Devireddy et al, 2021). Проте, незважаючи на регулярний вихід оглядових робіт, присвячених різним аспектам адаптації рослин до екстремальних температур (Li et al, 2018; Li, 2020; Yadav et al, 2022), питання причинно-наслідкових зв’язків між переліченими процесами, функціональної взаємодії між окремими стрес-протекторними системами багато в чому залишаються відкритими. На їх аналіз і спрямований даний огляд.

Рецепція і трансдукція в генетичний апарат сигналу теплового стресу

Сенсори теплового стресу. Рослини сприймають зовнішні і внутрішньоклітинні сигнали за допомогою структурних (таких як клітинна стінка, плазматична мембрана, цитоскелет і органели) та молекулярних (білки, фосфоліпіди та інші макромолекули) сенсорів (Dickinson et al, 2018; Sajid et al, 2018). Загалом плазматична мембрана вважається основним сенсором гіпертермії, від функціонування якої залежить прояв конститутивної і формування індукованої теплостійкості рослин (Li, 2020). Зміна фізичних властивостей мембран (насамперед, плинності) може запускати передачу сигналів Ca^{2+} у цитоплазмі та індукувати експресію генів, безпосередньо пов’язаних зі стійкістю до високих температур, таких як фактори

теплового шоку (HSF, від heat shock factors) та білки теплового шоку (heat shock proteins – HSP) (Yadav et al, 2022).

Зміни кальцієвого гомеостазу, зумовлені впливом високих температур на мембрани, пов’язують передусім з відкриванням специфічних термочутливих кальцієвих каналів CNGC (cyclic-nucleotide-gated ion channels) (Saidi et al, 2009; Finka, Goloubinoff, 2014) (рис. 1). Воно відбувається внаслідок флюїдизації ліпідної частини мембран (Li et al, 2018). Є відомості, що через такі канали іони кальцію можуть проникати в цитозоль зі швидкістю 10 мкмоль/(канал с) (Li, 2020). Геном *Arabidopsis thaliana* містить 20 генів CNGC. Припускають, що різні CNGC можуть бути «налаштовані» на різні температури (Li et al, 2018). Водночас немає однозначних доказів, що активація каналів CNGC є безпосереднім наслідком зміни плинності мембран під впливом високої температури. При цьому відомо, що активність CNGC-каналів може регулюватися й іншими чинниками, зокрема, кальмодуліном і цАМФ (Gao et al, 2012; Li et al, 2018). Примітно, що зростання вмісту цАМФ в цитозолі також є дуже ранньою реакцією на тепловий стрес. Так, в клітинах *Arabidopsis* воно зафіксовано вже через 60 с після дії високої температури (Gao et al, 2012). Таким чином, питання про те, чи є CNGC первинними сенсорами високої температури, залишається відкритим (Li et al, 2018).

Поряд з кальцієвими каналами у сприйнятті сигналу теплового стресу можуть брати участь системи, що генерують активні форми кисню (АФК). До АФК належить сукупність форм кисню, що взаємно перетворюються і відрізняються високою реакційною здатністю та коротким часом існування (Gill, Tuteja, 2010). Найбільшим сигнальним потенціалом вирізняється пероксид водню, молекули якого мають відносно тривалий час життя в біологічному середовищі і здатні проникати через мембрани за допомогою аквапоринів (Tian et al, 2016) (рис. 1).

У роботі Choudhury та співавт. (2017) виділено дві групи джерел АФК: (1) утворені внаслідок порушень метаболічної активності при стресі і (2) генеровані для забезпечення сигнальних процесів (рис. 1). Однак, ці групи АФК різного походження можуть впливати на вміст

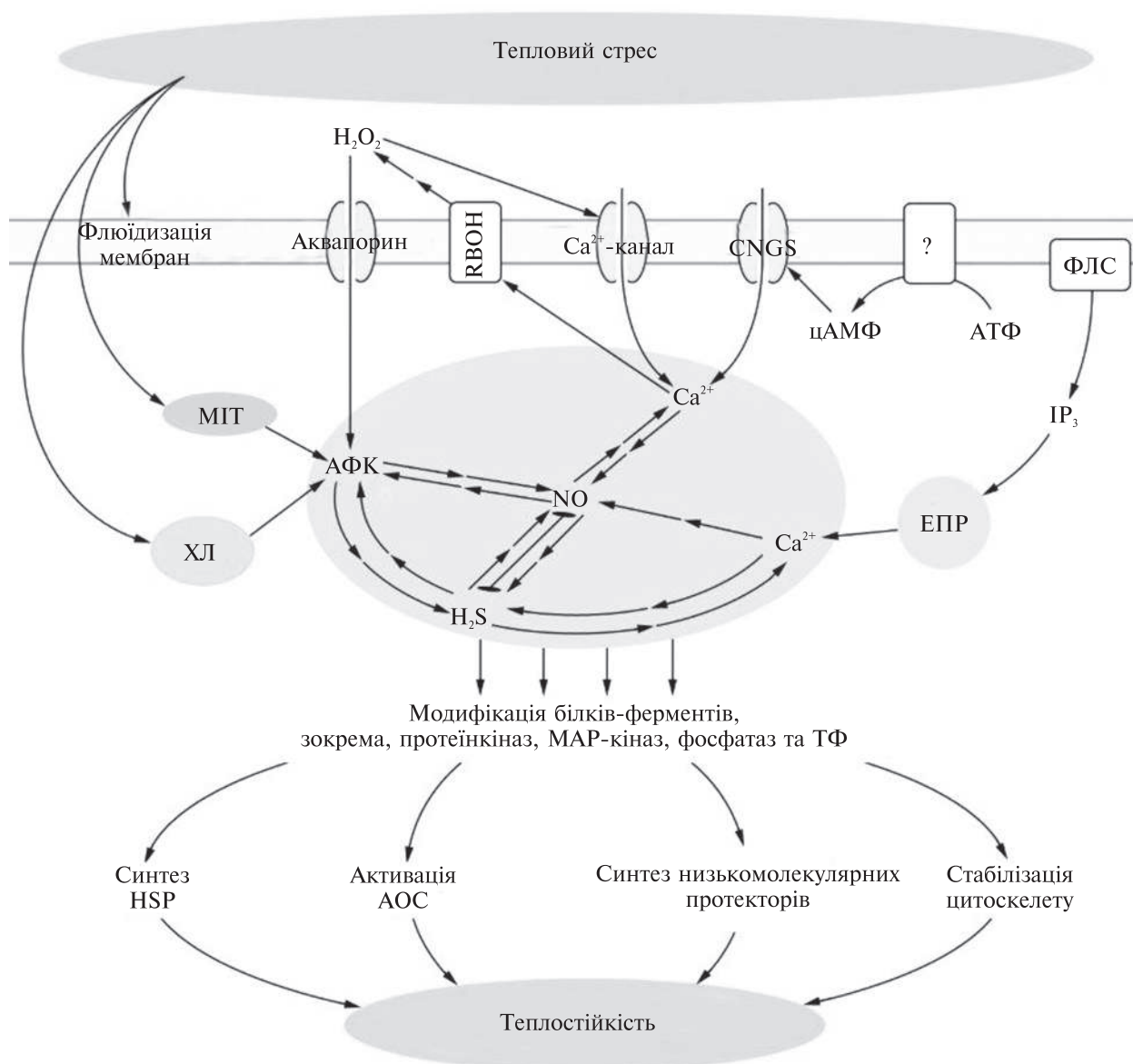


Рис. 1. Трансдукція сигналу теплового стресу і формування адаптивної відповіді рослинних клітин. RBOH – каталітична субодиниця НАДФН-оксидази; CNGC – кальцієві канали, чутливі до циклічних нуклеотидів і змін температури; ФЛ С – фосфоліпаза С; IP₃ – інозитол-1,4,5-фосфат; ЕПР – ендоплазматичний ретикулум; МІТ – мітохондрія; ХЛ – хлоропласт, MAP-кінази – мітоген-активовані протеїнкінази; ТФ – транскрипційні фактори, HSP – білки теплового шоку; АОС – антиоксидантна система

одне одного і навіть переміщуватися між компартментами.

За умов гіпертермії підвищується плинність тилакоїдних мембран, відбувається розпад окремих білків у коровому комплексі мембран і порушується робота фотосистем (ФС), особливо ФС II (Bernfur et al, 2017). Її найбільш

чутливою до нагрівання ланкою є Mn-вмісний комплекс виділення кисню (Kreslavski et al, 2012). ФС I стійкіша до дії шкідливих температур та інших несприятливих факторів середовища порівняно з ФС II (Moustaka et al, 2018). Більше того, хоча потік електронів від ФС II до ФС I за помірно високих температур зни-

жується, водночас активується циклічний транспорт електронів у ФС I (Agrawal et al, 2016). За дії високих температур електрон-транспортний ланцюг хлоропластів може роз'єднуватися, що вважається однією з основних причин посилення генерації АФК при гіпертермії (Asthir, 2015) (рис. 1).

Однак утворення АФК за теплового стресу посилюється не лише у хлоропластах. Також можливе посилення стохастичного утворення АФК у мітохондріях та пероксисомах (Choudhury et al, 2017). З іншого боку, помірний тепловий стрес може індукувати утворення АФК за допомогою НАДФН-оксидази, локалізованої у плазматичній мембрані (рис. 1). Це відбувається протягом перших хвилин після теплового впливу як у зелених, так і в етіологованих рослинах (Kolupaev et al, 2013; Yao et al, 2017). Проте НАДФН-оксидаза, принаймні поки що, не розглядається як безпосередній сенсор теплового стресу, хоча отримано достатньо доказів її участі в індукванні процесів, важливих для розвитку теплостійкості рослинних клітин (див. нижче).

Обговорюється і роль інших можливих сенсорів у сприйнятті сигналу теплового стресу. Для арабідопсису описана термосенсорна роль фітохромів (рецепторів червоного світла) у нічний час (Jung et al, 2016). Виявлено, що фітохром В (phyB) безпосередньо зв'язується з промоторами ключових генів-мішеней залежно від температури. Швидкість інактивації phyB пропорційна температурі в темряві, що дозволяє фітохромам функціонувати як теплові таймери, які інтегрують інформацію про температуру впродовж ночі (Jung et al, 2016). Роль такого механізму в реакції рослин на стресову високу температуру і формуванні адаптивних відповідей залишається недослідженою, хоча відомості про зміни теплостійкості рослин впродовж дня вказують на зв'язки між процесами сприйняття рослинами змін світла і температури (Li et al, 2018). Отже, сприйняття рослинами дії високої температури відбувається за допомогою комплексу структур і макромолекул, що перебувають між собою у складній функціональній взаємодії, відомості про яку інтенсивно накопичуються останніми роками (Li et al, 2018; Li, 2020).

Кальцієвий гомеостаз за гіпертермії. Кальцій як універсальний внутрішньоклітинний ме-

сенджер відіграє надзвичайно важливу роль в передачі сигналу теплового стресу. В рослинних клітинах Ca^{2+} зберігається переважно у внутрішньоклітинному і позаклітинному пулах. Перший міститься у вакуолях, ендоплазматичному ретикулумі, мітохондріях, хлоропластах та апараті Гольджі. Позаклітинний пул кальцію локалізується у клітинній стінці. Концентрація Ca^{2+} в цитозолі зазвичай підтримується на рівні, нижчому на 4–5 порядків від його вмісту в зовнішніх і внутрішньоклітинних компартментах, за рахунок чого створюється значний градієнт його концентрації (Costa et al, 2018; Konrad et al, 2018). Як уже зазначалося, вважається, що за дії високих температур кальцій надходить в клітини в першу чергу через CNGC-канали. Проте є відомості, що тепловий стрес може підвищувати рівень іонів кальцію шляхом активації фосфоліпази С і фосфоліпази D та фосфатидилінозитолфосфаткінази, що може викликати підвищення вмісту фосфатидної кислоти та інозитол-1,4,5-фосфату (IP_3) і, як наслідок, активацію кальцій-залежних сигнальних процесів, пов'язаних з відкриттям кальцієвих каналів, чутливих до IP_3 (Mishkind et al, 2009; Verma et al, 2020) (рис. 1). Наприклад, показано, що короточасний вплив температури 37 °C на рослини арабідопсису спричиняв збільшення вмісту в цитозолі IP_3 в 2,5 раза (Zheng et al, 2012). У рослин, дефектних за генами фосфоліпаз, порушувалося спричинюване гіпертермією накопичення цитозольного Ca^{2+} і знижувалася теплостійкість. При цьому, однак, варто відзначити, що, на відміну від клітин тварин, рецептор IP_3 у рослин дотепер не ідентифікований (Li et al, 2018).

Водночас експериментальні дані вказують на критично важливу роль надходження кальцію в цитозоль з внутрішніх і зовнішніх компартментів для розвитку теплостійкості. Так, показано, що спричинюваний короточасним загартуванням розвиток теплостійкості проростків пшениці пригнічувався у присутності інгібітору фосфатидилінозитолзалежної фосфоліпази С неоміцину (Karpets et al, 2015b). Такий же ефект спричиняла і обробка проростків хелатором кальцію ЕГТА, що вказує на роль у формуванні індукованої теплостійкості надходження Ca^{2+} із позаклітинного пулу. В результаті надходження кальцію в цитозоль

формуються Ca^{2+} -сигнали різної інтенсивності, тривалості та амплітуди залежно від координації функціонування кальцієвих каналів з Ca^{2+} -АТФазами та $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -іонообмінниками (Li, 2020). Надалі ці сигнали декодуються сенсорами Ca^{2+} , насамперед кальмодуліном (CaM), кальмодулін-подібними білками і кальцій-залежними протеїнкіназами (Konrad et al, 2018; Sajid et al, 2018; Devireddy et al, 2021). Так, показано, що $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -протеїнкіназа AtCBK3 бере участь у фосфорилуванні фактору теплового шоку AtHSFA1a (Liu et al, 2008).

Як один із сенсорів кальцію розглядається і пероксидаза, у тому числі її позаклітинні форми (Plieth, Vollbehr, 2012). Вважають, що підвищення кальцієм активності і термостабільності пероксидази може бути важливою реакцією, пов'язаною з генерацією сигнального пулу АФК, антиоксидантним захистом і зміцненням клітинних стінок. Як своєрідний сенсор кальцію може розглядатися і НАДФН-оксидаза – ключовий фермент генерації сигнальних АФК. В цілому через кальцієвий сигнал можлива активація інших сигнальних шляхів, зокрема, АФК- і NO-залежних (Kolupaev et al, 2015b).

Генерація сигнального пулу АФК за дії високих температур. Накопичення АФК поряд зі змінами кальцієвого гомеостазу є ще однією швидкою і важливою клітинною відповіддю рослин на гіпертермію. Встановлено, що після дії 1-хвилинного загартувального прогріву ($42\text{ }^{\circ}\text{C}$) на етіюльовані проростки пшениці через 5–10 хв в їхніх органах зростає вміст супероксидного аніон-радикала і пероксиду водню, після чого він знижувався до рівня контролю (Kolupaev et al, 2013). Подібний ефект виявлено і в протопластах листків арабідопису: у відповідь на дію температури $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ в них відбувалося накопичення АФК з піком через 3 хв і подальшим зниженням до рівня контролю через 10 хв (Yao et al, 2017). В обох дослідженнях показана залежність утворення АФК за дії помірно високої температури від активності НАДФН-оксидази.

Посилення генерації АФК НАДФН-оксидазою та активація надходження кальцію в цитозоль є найбільш ранніми і взаємозалежними реакціями на дію стресорів, у тому числі гіпертермії. Проте досі неясно, який з цих сиг-

налів є первинним (Li et al, 2018). Деякі автори розглядають НАДФН-оксидазу як можливий сенсор теплового стресу, що запускає зміни кальцієвого гомеостазу (Li, 2020) (рис. 1). Відомо, що екзогенний пероксид водню може різко збільшувати концентрацію кальцію у цитозолі (Liao et al, 2017). Водночас вже через 60 с після обробки рослинних клітин кальцієвим іонофором іономіцином зареєстровано посилення генерації АФК (Kimura et al, 2012). Отже, зміни кальцієвого гомеостазу так само спричиняють формування АФК-сигналу.

Активація НАДФН-оксидази за участю кальцію може відбуватися за допомогою кількох механізмів. Згідно з однією з моделей, кальцій активує Ca^{2+} -залежну протеїнкіназу, яка фосфорилує N-кінцеву ділянку мембранозв'язаної субодиниці НАДФН-оксидази (RВОН) та спричиняє її конформаційні зміни, що сприяють зв'язуванню з нею цитозольного компонента – Рор-білка (ГТФази). В результаті утворюється активний димер, що призводить до посилення генерації АФК (Wong et al, 2007). Пізніше на прикладі однієї з форм мембранозв'язаної субодиниці НАДФН-оксидази рису (OsRВОНВ) було встановлено наявність у N-термінальній ділянці EF-рук, що вказує на формування димеру за участю кальцію (Oda et al, 2010). Таким чином, підвищення активності НАДФН-оксидази під впливом кальцію, ймовірно, пов'язане не тільки з активацією ним протеїнкінази, а й з прямою взаємодією іонів Ca^{2+} з каталітичною субодиницею. У роботі Kimura і співавт. (2012) запропонована модель, згідно з якою фосфорилування RВОНD і RВОНF передуює процесу зв'язування кальцію. При цьому фосфорилування RВОН саме собою спричиняє активацію ферменту, що призводить до посилення генерації АФК, задіяних у відкриванні кальцієвих каналів. Надходження кальцію в цитозоль викликає додаткову активацію НАДФН-оксидази.

Залежне від активності НАДФН-оксидази посилення генерації АФК за дії теплового стресу необхідне для формування адаптивної відповіді рослин. Показано, що спричинюване загартувальним прогрівом зростання теплоустійкості проростків пшениці усувалося скавенджером пероксиду водню диметилтіосечовиною та інгібітором НАДФН-оксидази іміда-

золом (Kolupaev et al, 2013). Рослини арабідопсису, мутантні за генами ключових форм НАДФН-оксидази (*atrbohB* і *atrbohD*), через знижений вміст АФК мали низьку теплостійкість (Devireddy et al, 2021). Варто відзначити, що активації лише НАДФН-оксидази недостатньо для формування сигнального пулу пероксиду водню. Для утворення H_2O_2 необхідна спільна дія НАДФН-оксидази і супероксиддисмутази (СОД) (Kumar, Rai, 2014). Інгибування активності СОД діетилдитіокарбаматом натрію перешкоджало розвитку теплостійкості й активації інших антиоксидантних ферментів проростків пшениці після теплового загартування (Kolupaev et al, 2013).

Вважається, що специфічність дії АФК як сигнальних посередників реалізується шляхом регуляції їхнього рівня у різних клітинних компартментах та завдяки часовій динаміці (Choudhury et al, 2017). Іншими словами, їх вміст змінюється у часі та клітинному просторі. Однак ці зміни багато в чому пов'язані зі зміною вмісту антиоксидантів, які також розглядаються як учасники редокс-сигналіngu (Kolupaev et al, 2019). Зокрема, вважають, що пероксид водню, який утворюється при відповіді рослин на помірну гіпертермію, може активувати щонайменше три різних шляхи передачі сигналу одночасно (Kumar, Rai, 2014): (1) транспорт через аквапорини забезпечує швидке проникнення H_2O_2 у відповідний компартмент, де він може індукувати сигнальні процеси; (2) H_2O_2 модифікує потік кальцію в клітині і, відповідно, змінює кальцій-індуковані сигнальні шляхи; (3) сигнальний шлях, до якого залучається аскорбат. Для регенерації окисненої форми апопластного пулу аскорбату він повинен надходити в цитозоль, оскільки апопласт має незначну відновну здатність. Відновлені та окиснені форми аскорбату можуть самі діяти як сигнальні молекули. Більше того, взаємодіючи з пулом глутатіону в клітині, дегідроаскорбат може запускати інші сигнальні події, оскільки відновлена (GSH) та окиснена (GSSG) форми глутатіону впливають на експресію генів (Kumar, Rai, 2014).

Оборотної модифікації за допомогою АФК і глутатіону можуть зазнавати залишки цистеїну та метіоніну у регуляторних білках (Kemp et al, 2008). Припускають, що ферменти на ос-

нові тіолів можуть брати участь у сигнальних процесах шляхом зміни окиснювально-відновних потенціалів глутатіону або тіоредоксинів з наслідками для чутливих білків-мішеней (Tripathi et al, 2009; Noctor et al, 2014). Передача сигналу модулюється за допомогою змін у сульфгідрильному гомеостазі (RSH, RSSR та RSOH) та режимі глутатіонування специфічних білків (Conte, Carroll, 2013; Pradedova et al, 2017). Доведено, що мішенями дії АФК та тіольних посередників у клітині може бути багато білків, зокрема, MAP-кінази (mitogen-activated protein kinase), рецепторні кінази, фосфатази і транскрипційні фактори (Conte, Carroll, 2013). Показано, наприклад, що S-глутатіонування окремих транскрипційних факторів може пригнічувати їх зв'язування з ДНК (Pulido et al, 2009).

Отримано експериментальні докази ролі сенсорів АФК у регуляції адаптивних реакцій рослин на дію теплового стресу. Так, Сус-багаті рецептороподібні кінази (CRK), Ser/Thr-протеїнкіназа (OXI1), транскрипційні фактори відповіді на тепловий стрес, зокрема, такі як HsfA4a, беруть участь у формуванні специфічних сигналів, необхідних для експресії генів і синтезу стресових білків (König et al, 2012; Devireddy et al, 2021).

Участь NO в трансдукції сигналу теплового стресу. Поряд з АФК у сигнальних процесах рослинних клітин задіяні активні форми азоту (рис. 1). До них, крім ключового сигнального посередника-газотрансмітера монооксида азоту (NO), належать пероксинітрил (ONOO⁻), NO₂ і S-нітрозоглутатіон (GSNO) (Corpas, Barroso, 2013). NO у рослин може утворюватися шляхом відновлення або окислювання (Corpas, Barroso, 2017). Відновний шлях передбачає використання як субстратів нітриту або нітрату в реакціях, що каталізуються нітратредуктазою, зв'язаною з плазматичною мембраною нітрил-NO-редуктазою і локалізованою в пероксисомах ксантиноксидоредуктазою (Gupta, Kaiser, 2010).

У рослин механізм утворення оксиду азоту окиснювальним шляхом з L-аргініну досі залишається предметом дискусії, оскільки гомологи NO-синтази (NOS) тварин виявлені лише у зелених водоростей, але не у вищих рослин (Li, Lancaster, 2013). Нині вважається, що на-

земні рослини не мають типової NOS тварин. Припускають, що під час еволюції цей ген був втрачений (Jeandroz et al, 2016). У зв'язку з цим питання щодо механізмів L-аргінін-залежного синтезу NO у вищих рослин залишається відкритим (Kolbert et al, 2019; Krasylenko et al, 2019). Не виключено, що у вищих рослин у пероксисомах є білки, відмінні від NOS, але здатні генерувати NO, використовуючи L-аргінін як субстрат (Corpas, Barroso, 2017; Gupta et al., 2020). Як важливі субстрати для утворення NO в окиснювальному шляху останнім часом розглядають не тільки L-аргінін, а й поліаміни та гідроксиламін (Hancock, Whiteman, 2014; Liu et al, 2019). Припускають, що ці перетворення можуть каталізуватися ди- та поліаміноксидазами, локалізованими переважно у клітинних стінках (Saha et al, 2015).

Збільшення вмісту ендогенного оксиду азоту у відповідь на гіпертермію показано у різних рослин. Наприклад, під впливом температури 30 °C зростає залежно від активності NOS вмісту оксиду азоту у *Pisum sativum* (Corpas et al, 2008), за дії температури 42 °C збільшення кількості NO зафіксовано у *Citrus aurantium* (Ziogas et al., 2013) та *Fragaria ananassa* (Christou et al, 2014). У роботі Song і співавт. (2013) показано підвищення вмісту оксиду азоту в листках рису за двогодинного впливу загартовувальної температури 38 °C. Після загартовувального прогріву проростків пшениці впродовж 1 хв в коренях підвищується вміст оксиду азоту з максимумом через 30–60 хв (Karpets et al, 2015a). Такий ефект майже повністю усувається інгібітором NOS тварин L-NAME і частково інгібітором нітратредуктази вольфраматом натрію, що вказує на ймовірну участь як окиснювального, так і відновного шляхів синтезу NO за дії високої температури.

Індукована тепловим стресом флуоресценція NO спостерігалася у різних типах клітин *Nicotiana tabacum*, у тому числі палісадних клітинах мезофілу та всіх типах епідермальних клітин. Однак найбільш раннє зростання вмісту NO відзначали у пластидах з подальшим ефектом у ядрі і цитозолі (Gould et al, 2003). Водночас у деяких дослідженнях зафіксовано зниження кількості оксиду азоту в рослинних клітинах через певний час після дії стресових чинників (Parankusam et al., 2017). Це може

бути пов'язано з транзиторним ефектом зростання вмісту NO, що характерно саме для сигнальних ефектів. На роль оксиду азоту у розвитку теплостійкості рослин вказує усунення ефектів теплового загартування проростків пшениці скавенджером NO РТІО (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide), а також інгібіторами ферментів синтезу NO (Karpets et al, 2015b). З використанням різних рослинних об'єктів зареєстроване підвищення теплостійкості під впливом екзогенних донорів оксиду азоту, найбільш відомим з яких є нітропрусид натрію (Yemets et al, 2019).

Вплив NO як сигнальної сполуки, задіяної в активації стрес-протекторних систем рослин, асоціюють насамперед зі здатністю спричиняти посттрансляційні модифікації (ПТМ) багатьох білків. Одним з найважливіших для регуляції клітинних процесів механізмів NO-модифікації білків є S-нітרוзування – ковалентне приєднання групи NO до -SH-залишків цистеїну з утворенням S-нітрозотіолу (SNO) (Mishra et al, 2021). S-нітרוзування – оборотний процес, який є клітинним перемикачем, що дозволяє регулювати функціональну активність цільових білків.

Іншим механізмом ПТМ білків під впливом NO є реакція нітрування залишків тирозину. Цей процес здійснюється в основному пероксинітридом (ONOO⁻) та радикалом діоксиду азоту (NO₂) (Sachez-Vicete et al, 2019). Пероксинітрид утворюється в результаті реакції NO з супероксидним радикалом. Висловлюється припущення, що нітрування білків за тирозином є одним з маркерів нітрозативного стресу (Ischiropoulos, 2003), у тому числі і у рослин (Lipka, Müller, 2014). Вважається, що нітрування білків є незворотним процесом, проте у тварин виявлено ферменти денітрази (Sachez-Vicete et al, 2019), зважаючи на що, припускають можливість процесу денітрування і у рослин. Є також всі підстави вважати, що і у рослин ця модифікація є зворотною (Blume et al, 2011).

Ще одна NO-модифікація білків – нітרוзування металовмісних білків – відбувається при взаємодії NO з іонами перехідних металів, що входять до складу металопротейнів, та призводить до утворення метало-нітрозильних комплексів. NO може зв'язуватися з різними

металовмісними центрами (Fe, Cu, Zn) металопротеїнів (Aroga et al, 2015). Формування метало-нітрозильних комплексів спричиняє оборотні зміни конформації білків та їх функціональної активності (Aroga et al, 2016). Для багатьох білків, у тому числі антиоксидантних ферментів, встановлені ефекти цієї ПТМ, що можуть призводити як до підвищення, так і до зниження активності (Vegara-Morales et al, 2014; Yang et al, 2015). В цілому, ключовими стрес-протекторними реакціями, що ініціюються у відповідь на гіпертермію з участю NO, є активація компонентів антиоксидантної системи, накопичення низькомолекулярних протекторних сполук та посилення синтезу стресових білків (рис. 1).

Крім того, оксид азоту залучається до регуляції стану компонентів цитоскелету за умов теплового стресу. Наприклад, встановлено, що експозиція проростків арабідопсису за температури 41 °C призводить до деполімеризації та фрагментації мікротрубочок клітин коренів. Водночас обробка коренів нітропрусидом натрію за умов теплового стресу сприяє збереженню структурної цілісності мікротрубочок, тоді як використання скавенджера оксиду азоту cPTIO зумовлює зворотні ефекти, спричиняючи розбирання мікротрубочок, їх фрагментацію та повну деполімеризацію в окремих клітинах (Plokhovska et al, 2020). Ймовірно, що білкові елементи цитоскелету виступають у ролі одного із чисельних сенсорів оксиду азоту, і взаємодія NO з ними може виступати одним із механізмів стабілізації росту і поділу рослинних клітин за умов температурних стресів (Blume et al 2011; Plokhovska et al, 2016).

Сірководень і адаптація рослин до гіпертермії. Поряд з оксидом азоту важливу роль в сигнальних процесах, що активуються у рослин за умов гіпертермії, відіграє ще один газотрансмітер – сірководень (H₂S) (рис. 1). Одним з основних шляхів синтезу H₂S у рослин вважається перетворення L-цистеїну на піруват з вивільненням сірководню та амонію (Romero et al, 2013). Ця реакція каталізується L-цистеїндесульфгідразою, яка може бути локалізована в цитоплазмі, пластидах та мітохондріях. Внесок низки інших ферментів, що можуть брати участь в синтезі H₂S (D-цистеїндесульфгідрази, сульфїтрeredуктази, β-ці-

аноаланінсинтази, цистеїнсинтази та карбоангідрази (Li, 2013; Guo et al, 2016; Zhang et al, 2016), у стрес-індукованому утворенні сірководню у рослин, залишається майже не дослідженим.

Показано підвищення вмісту сірководню в клітинах за тривалої дії помірно високих температур на рослини полуниці (Christou et al, 2014) і тютюну (Chen et al, 2016). У коренях проростків пшениці транзиторне зростання вмісту сірководню відзначалося після однохвилинного прогріву при загартовувальній температурі 42 °C (Navva et al, 2022). Такий ефект не проявлявся за обробки проростків скавенджером сірководню гіпотаурином та інгібітором L-цистеїндесульфгідрази піруватом натрію.

Вважається, що первинні молекулярні ефекти H₂S пов'язані з персульфидуванням – перетворенням цистеїнтіольної групи (-SH) на відповідний персульфід (-SSH) (Filipovic et al, 2018). Ця ПТМ є оборотною (Mishra et al, 2021; Aroca et al, 2018). Існує припущення, що персульфидування широко розповсюджене, і H₂S модифікує навіть більше білків, ніж більш досліджені у цьому плані АФК та NO (Ida et al, 2014). Нині персульфідні групи вважаються важливими компонентами клітинного сигналіngu: цистеїн-персульфід (CysSSH) та персульфід глутатіону (GSSH) визнані ключовими редокс-регуляторами (Aroca et al, 2018). Найбільш поширеними білками, стан яких регулюється шляхом персульфидування, є пероксиредоксини (Gruhlke, 2019), які також належать до ключових учасників клітинної редокс-регуляції (Kolupaev et al, 2019). У той же час дані, отримані методами біоінформатики, вказують на те, що персульфидуванню може піддаватися до 5 % протеому рослинної клітини (Cuevasanata et al, 2015).

Персульфидування, ймовірно, є однією зі складових інструментарію регуляції експресії генів. Результати транскриптомного аналізу, свідчать про те, що обробка екзогенним H₂S спричиняла значні зміни в експресії багатьох генів у арабідопсису. Зокрема, при обробці H₂S посилюється експресія генів, що кодують активовані стресовими чинниками фактори транскрипції (Sen et al, 2012, Aroca et al, 2017). Вивчення експресії генів рослин томату під час обробки коренів NaHS показало, що

5349 генів було активовано, а 5536 генів пригнічено (Guo et al, 2018). У ряді досліджень показано роль сірководню в модифікації гістонів та зміні структури хроматину, що є складовою епігенетичної регуляції (Shivaraj et al, 2020). Персульфидування вважається ефективним способом захисту білків від окиснювальних пошкоджень. У компартментах з інтенсивним утворенням АФК, наприклад, у хлоропластах, присутня велика кількість персульфидованих білків (Thakur et al, 2021).

Ряд механізмів стрес-протекторної дії сірководню на рослини при гіпертермії проаналізовано в оглядовій публікації Ali і співавт. (2021). Йдеться про посилення експресії генів каталази, аскорбатпероксидази, глутатіонредуктази, окремих форм СОД, а також різних білків теплового шоку у присутності донорів сірководню. В експериментах із рослинами полуниці показано індукування при обробці гідросульфідом натрію експресії генів HSP 90, HSP 80, HSP 70 та аквапоринів у коренях (Christou et al, 2014). Такий ефект супроводжувався підвищенням теплостійкості рослин. У роботі Cheng (2017) показано підвищення активності ферментів аскорбат-глутатіонового циклу та пом'якшення окиснювальних пошкоджень рослин тополі в умовах гіпертермії під впливом донорів сірководню.

Сигнальні ефекти сірководню за умов теплового та інших стресів реалізуються у тісній взаємодії з іншими сигнальними посередниками. Зокрема, кальцій причетний як до регуляції синтезу сірководню, так і трансдукції його сигналів. Встановлено, що екзогенний кальцій у концентраціях, зданих підвищувати теплостійкість клітин суспензійної культури тютюну, спричиняв збільшення вмісту сірководню, пов'язане зі зростанням активності L-цистеїндесульфгідрази (Li et al, 2015). Підвищення теплостійкості культури клітин тютюну дією донора H_2S NaHS нівелювалося антагоністами кальцію і кальмодуліну (Li et al, 2012). У той же час, стрес-протекторна дія донора H_2S посилювалася при одночасному застосуванні кальцієвого іонофору A23187 або екзогенного Ca^{2+} . Вплив сірководню на теплостійкість клітин колеоптилів пшениці та активність в них антиоксидантних ферментів практично не проявлявся при обробці ЕГТА

та інгібітором фосфоліпази С неоміцином, що бере участь у регуляції кальцієвого гомеостазу (Kolupaev et al, 2017). Іншими словами, прямі і зворотні функціональні зв'язки між сірководнем і кальцієм важливі для формування адаптивних реакцій на гіпертермію (рис. 1).

Ймовірно, у багатьох випадках у ролі посередників у реалізації сигнальних процесів, у яких задіяний сірководень, виступають АФК. Зокрема, пероксид водню може бути посередником у реалізації сигнальних ефектів екзогенного сірководню. Так, спричинюване донором сірководню гідросульфідом натрію підвищення теплостійкості клітин колеоптилів пшениці, якому передувало транзиторне посилення генерації АФК, усувалося під дією антиоксидантів бутилгідрокситолуолу та диметилтіосечовини (Kolupaev et al, 2017). При цьому показано, що екзогенний сірководень в клітинах колеоптилів пшениці спричиняв залежне від НАДФН-оксидази утворення супероксидного аніон-радикала і пероксиду водню.

Сірководень перебуває у дуже тісній функціональній взаємодії з оксидом азоту. Сірководень може безпосередньо реагувати з NO та пероксинітридом ($ONOO^-$) (Lisjak et al, 2013). Наслідком такої взаємодії буде їх взаємна нейтралізація та ослаблення сигналів, а також поява нової сполуки, нітрозотіолу, яка сама може мати сигнальні властивості (Whiteman et al, 2006). Взаємодія між H_2S і NO може бути зумовлена і наявністю у них спільних сайтів зв'язування з білковими мішенями. Перш за все, оксид азоту здатний змінювати стан тіолових груп шляхом S-нітрузування, а сірководень — персульфидування (Hancock, 2019). Прикладами білків, стан яких регулюється таким чином, можуть бути аскорбатпероксидаза (Corpas et al, 2019) та гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (Aroca et al, 2017).

Ще одним механізмом взаємодії між сірководнем і оксидом азоту є їх вплив на синтез один одного. Повідомляється, що фізіологічні ефекти сірководню можуть бути опосередковані оксидом азоту та навпаки (Singh et al, 2015). Індукування гідросульфідом натрію теплостійкості проростків пшениці супроводжувалося транзиторним збільшенням вмісту пероксиду водню та оксиду азоту. При цьому скавенджер пероксиду водню диметилтіосечовини

на та інгібітор НАДФН-оксидази імідазол повністю усували вплив сірководню на вміст NO, а антагоністи оксиду азоту слабо впливали на вміст H₂O₂ (Karpets et al, 2020). Очевидно, у сигнальному шляху сірководню, що індукує розвиток теплостійкості, оксид азоту міститься нижче від пероксиду водню. В цілому ж, сірководень і оксид азоту, ймовірно, можуть індукувати синтез одне одного і відповідно розташовуватись у сигнальних ланцюгах у різній послідовності (Corpas et al, 2019).

Транскрипційні фактори контролю адаптивних реакцій рослин на дію гіпертермії

Найбільша увага в контексті адаптації рослин до високих температур приділяється змінам експресії генів і функціонального стану факторів теплового шоку (HSF), які є активаторами транскрипції генів HSP (Banti et al, 2010). Експресія HSP регулюється з участю промоторних елементів теплового шоку (HSEs) (Yadav et al, 2020). HSE мають паліндромну послідовність нуклеотидів (5'-AGAANNТТСТ-3'), що є сайтом зв'язування для HSF (рис. 2). Зазвичай у більшості видів рослин HSF містяться у мономерній формі в цитоплазмі. Коли рослини зазнають впливу підвищеної температури, мономер HSF переходить з цитоплазми в ядро і утворює тример, здатний зв'язуватися з HSE та рекрутувати інші транскрипційні компоненти, що спричиняє експресію HSP (Lee et al, 1995) (рис. 2).

Різні молекулярні форми HSF кодуються різними генами. Наприклад, у *A. thaliana* міститься 21 ген HSF, у рису – 23, а у томатів – не менше 25 генів (Kumar, Rai, 2014). HSF мають модульну структуру, що включає ДНК-зв'язувальний домен, домен олігомеризації та С-кінцевий активаційний домен (Peteranderl et al, 1999). Загальна базова структура HSF та їхній консенсусний сайт зв'язування ДНК (тобто елемент теплового шоку) у різних білків зберігаються. Але на основі варіацій у цих трьох областях HSF рослин розділяють на три класи (А, В і С) (Kumar, Rai, 2014). Найбільші відмінності полягають у вставці додаткових амінокислотних залишків у домен олігомеризації HSF класу А та класу С і відсутність мотивів активатора транскрипції у С-кінцевому домені HSF класу В (Bharti et al, 2004).

Група HsfA1 вважається головним регулятором реакції рослин на тепловий стрес (Fragkostefanakis et al, 2015). Генетичні дані свідчать, що HsfA1a і HsfA1b беруть участь в індукції експресії ряду генів HSP на ранній стадії впливу теплового стресу у арабідопсису (Lohmann et al, 2004). Ген *HsfA2* експресується виключно за умов теплового стресу і відповідний білок стає домінуючим HSF при тривалому стресовому впливі (Fragkostefanakis et al, 2015). Встановлено, що експресія *HsfA2 Arabidopsis* підвищує теплостійкість мутантів *hsfA1a,b,d,e* (Liu, Charng, 2013).

Спектр досліджених генів HSF у рослин постійно розширюється. Так, порівняно недавно був клонований і охарактеризований ген *BcHsfA1* з *Brassica campestris* (Zhu et al, 2018). Біоінформаційний аналіз показав, що він належить до сімейства генів *HsfA* та найбільш тісно пов'язаний з *HsfA1* інших рослин. Експресія цього гена у *B. campestris* максимально посилювалась через 0,5–1 год після дії температури 42 °С. Трансформація тютюну геном *BcHsfA1* значно підвищувала теплостійкість проростків, за умов теплового стресу у них порівняно з диким типом відзначалася вища активність антиоксидантних ферментів СОД та пероксидази, а також підвищений вміст розчинних вуглеводів (Zhu et al, 2018). Дослідження ролі *TaHsfA6f*, члена підкласу А6 HSF, в регуляції захисних генів у *Triticum aestivum* за умов теплового стресу показало, що цей ген конститутивно експресувався у зелених органах, але через 1,5 год експозиції за температури 36 °С його експресія зростала на порядок (Xue et al, 2015). Трансгенні рослини пшениці з надекспресією *TaHsfA6f* відрізнялися підвищеною теплостійкістю. Встановлено, що *TaHsfA6f* активує експресію кількох генів HSP (*TaHSP16.8*, *TaHSP17*, *TaHSP17.3* і *TaHSP90.1-A1*) за відсутності стресового впливу.

Мережа HSF у рослин контролюється на рівні транскрипції (Kumar, Rai, 2014) різноманітними компонентами сигнальної мережі, у тому числі АФК. У рослин арабідопсису синтез HSF і ряду білків теплового шоку (Hsp17.6, Hsp18.2) індукувався дією як високої температури, так і екзогенного пероксиду водню; водночас такі ефекти усувалися антиоксидантом аскорбатом та інгібітором НАДФН-окси-

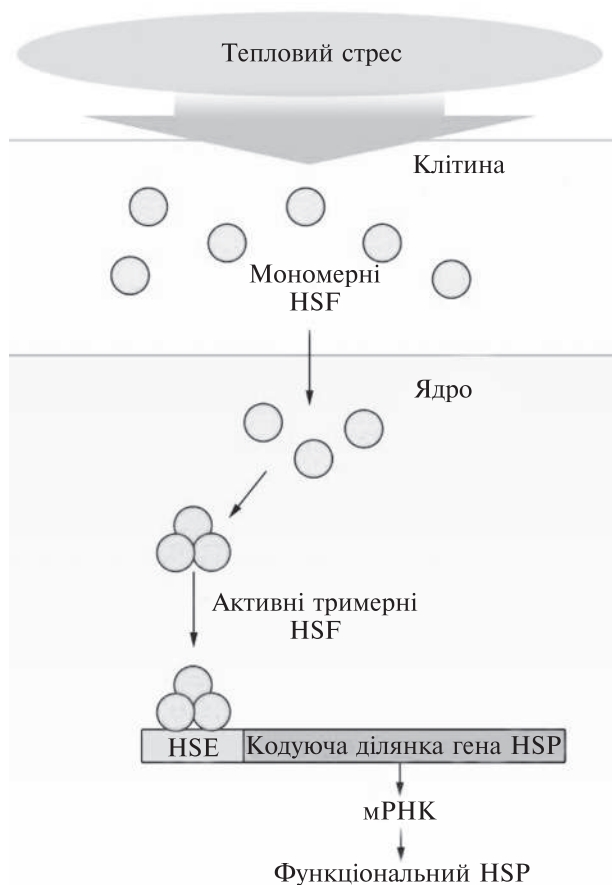


Рис. 2. Індукція синтезу білків теплового шоку у рослинній клітині. HSF – фактори теплового шоку; HSE – промотори (елементи) теплового шоку; HSP – білки теплового шоку

дази дифеніленіодоніумом (Volkov et al, 2006). Добре відомо також про участь кальцію в регуляції експресії HSP: показано, що транскрипційний фактор AtHSFA1a є мішенню дії Ca^{2+} /CaM-залежної протеїнкінази AtCBK3, яка активує його (Liu et al, 2008).

Участь інших транскрипційних факторів у відповіді рослин на дію теплового стресу досліджена значно меншою мірою. Проте є підстави припускати, що такі відомі транскрипційні фактори відповіді на різні абіотичні стреси, як MBF, NAC та WRKY, задіяні і у формуванні адаптивних реакцій рослин на гіпертермію. Такі результати отримані зокрема шляхом дослідження впливу трансформації рослин відповідними генами на теплостійкість. Наприклад, надекспресія гена *TaMBF1c*

спричиняла підвищення теплостійкості трансформованих рослин рису на різних фазах онтогенезу (Qin et al, 2015). Трансформація арабідопсису геном *TaNAC2L* пшениці посилювала теплостійкість рослин та активувала експресію генів, пов'язаних з тепловим стресом: *LEA*, *AtHsfA3* і *RD29A* (Guo et al, 2015). Трансгенні лінії арабідопсису з геном пшениці *TaWRKY33* також проявляли підвищену теплостійкість, що свідчить про залучення транскрипційних факторів сімейства WRKY в регуляцію адаптації не лише до посухи, а й до гіпертермії (He et al, 2016). Водночас трансформація пшениці геном арабідопсису *AtWRKY30* призводила до підвищення активності антиоксидантних ферментів (СОД, каталази, аскорбатпероксидази) і вмісту цукрів та зменшувала окиснювальні пошкодження за умов як посухи, так і дії високих температур (El-Esawi et al, 2019).

Клітинні адаптивні реакції рослин на гіпертермію та їх регуляція

Синтез HSP. Масове утворення HSP є важливою характеристикою, пов'язаною з набуттям термотолерантності рослин (Yadav et al, 2020). Як правило, за нормальних умов експресія більшості генів HSP або відключена або значно ослаблена, але швидко індукується високотемпературним шоком. Рослини пшениці починають синтезувати HSP, коли температура тканин перевищує 32–33 °С (Kumar, Rai, 2014). Реакція синтезу HSP є тимчасовою, зазвичай вона досягає піку через 1–2 год після початку впливу гіпертермії, забезпечуючи захист на «гострій» стадії стресу (Kumar, Rai, 2014).

Білки теплового шоку рослин поділяють на п'ять сімейств: HSP 100, HSP 90, HSP 70, HSP 60 та малі HSP (з молекулярною масою ≤ 40 кДа). Білки сімейства HSP 100 належить до суперсімейства AAA-АТФаз та діють як молекулярні шаперони (Bukau et al, 2006). Вони експресуються в умовах не лише теплового стресу, а й осмотичного, сольового, холодого стресів і дії абсцизової кислоти (Yadav et al, 2020). Білок ClpA (казеїнолітична протеаза) був першим представником класу HSP 100, виявленим як компонент АТФ-залежної протеази, здатної реактивувати різні білки, що агрегуються після сильного стресу. Роль HSP

100 у стійкості до стресорів вивчена на кількох видах рослин: *A. thaliana*, *N. tabacum*, *Glycine max*, *Phaseolus lunatus*, *Zea mays*, *T. astivum*, *Oryza sativa* (Yadav et al, 2020). Вони здійснюють деагрегацію денатурованих білків, використовуючи енергію АТФ.

Білок HSP 90 – молекулярний шаперон, виявлений у бактерій та еукаріотів, у тому числі рослин (Yadav et al, 2020). Як і білок HSP 100, для свого функціонування він потребує АТФ (Hasanuzzaman et al, 2013). Активація експресії генів HSP 90 виявлена як відповідь рослин на дію не лише високих температур, а й гіпотермії, посухи, УФ-В та інших стресових чинників (Bae et al, 2003; Swindell et al, 2007; Ambrosone et al, 2013; Kozeko, 2019). Молекулярні форми HSP 90 локалізовані в цитоплазмі, ядрі, пластидах, мітохондріях та ендоплазматичному ретикуліумі (Krishna, Gloor, 2001). Крім власне шаперонних функцій, HSP 90 відіграє важливу роль в регуляції експресії генів стресової відповіді, вважаючись одним із регуляторів передачі сигналу теплового стресу до ядра (Hasanuzzaman et al, 2013). Неактивний стан фактора теплового шоку HSF1 за нормальних умов забезпечується зв'язуванням його мономерів з цитозольними HSP 90 (у кооперації з HSP 70). Як уже зазначалося, за умов стресу переключення шаперонів на зв'язування ненативних білків призводить до вивільнення HSF1, їх тримеризації, транспорту в ядро, зв'язування з HSE та ініціації транскрипції різних HSP, у тому числі HSP 90. Відновлення білкового гомеостазу призводить до вивільнення молекул HSP 90 та їх реасоціації з HSF1. При цьому основним сигналом, що регулює синтез HSP, є накопичення денатурованих білків вище певного порогового рівня (Kozeko, 2019). Оскільки специфічне інгібування активності HSP 90 гелданаміцином або радикалолом індукує транскрипцію не лише HSP, а й інших генів, що регулюються HSF (Yamada et al, 2007), цитозольні HSP 90 можна розглядати у ролі регуляторів значної частини реакцій на стрес (Kozeko, 2019).

Білки сімейства HSP 70, як і HSP 90, діють як молекулярні шаперони майже в усіх видів рослин і тварин. Вони містять два основні домен: N-термінальний домен АТФази і домен зв'язування субстрату. Головними функціями

HSP 70 є стабілізація новоутворених білків і попередження неправильного фолдингу та агрегації, імпорту білків у клітинні компартменти, зокрема, в мітохондрії та ендоплазматичний ретикуліум. За стресових умов роль HSP 70 полягає насамперед у захисті структур ядра і рефолдингу денатурованих білків (Sung et al, 2001). Отримані дані свідчать про прямий зв'язок між здатністю рослин синтезувати HSP 70 і теплостійкістю. При порівняльному дослідженні теплостійкості двох видів мальви *Malva silvestris* і *M. pulchella* було встановлено, що стійкіший вид *M. silvestris* після 2-годинної експозиції за +37 °C накопичував в 1,3–1,5 рази більшу кількість індукцйбельної форми HSP 70 порівняно з менш стійким *M. pulchella* (Kozeko, Rakhmetov, 2016). Для доказу захисної ролі HSP 70 у роботі Cho і Hong (2006) були отримані трансгенні рослини тютюну, які конститутивно експресували підвищені рівні HSP 70, *NtHSP70-1*. Ці рослини виявляли стійкість до водного стресу. За умов прогресуючої посухи кількість *NtHSP70-1* у листках корелювала з підтриманням оптимального вмісту води. Конститутивна надекспресія гена HSP 70 *BcHSP70*, трансформованого з *B. campestris* у рослини тютюну, підвищувала їх теплостійкість (Wang et al, 2016). Пізніше ефекти підвищення тепло- і посухостійкості рослин шляхом перенесення генів HSP були отримані на рослинах різних видів (Zhu et al, 2018; Yadav et al, 2020).

HSP 60 є АТФ-залежним шапероном, що сприяє правильному фолдингу білків, які імпортуються в мітохондрії і хлоропласти. За стресових умов він попереджає неправильне згортання білків і сприяє рефолдингу поліпептидів у цих органелах (Yadav et al, 2020). HSP 60 поділяється на дві групи (I і II), що мають структурну схожість, але відрізняються послідовностями. Група I HSP 60 зустрічається у прокариотів та ендосимбіотичних органел (мітохондрії, хлоропласти). Ця група складається з двох окремих білків підсімейства шапероніну 60 (Cpn60) і шапероніну 10 (Cpn10) (кошаперону), що функціонують разом АТФ-залежним чином. Група II шаперонінів існує в цитозолі архей та еукаріот (Lund, 2001). У рослин ці шапероніни локалізовані переважно у хлоропластах (Yadav et al, 2020).

Малі білки теплового шоку (15–42 кДа, sHSP) є давнім і великим сімейством. Вони виявлені у бактерій, архей та еукаріот (Waters, 2012). За стресових умов вони працюють як перша лінія захисту. sHSP не можуть рефолдувати ненативні білки, але можуть зв'язуватися з частково денатурованими білками, запобігаючи їх необоротному розгортанню або неправильній агрегації (Mogk et al, 2003). Також вони виступають у ролі кошаперонів для інших вищих HSP, насамперед, HSP 70/HSP 100. Особливістю sHSP є відсутність потреби в АТФ для зв'язування білків-субстратів, при цьому вони мають дуже високу спорідненість до денатурованих білків. Кількість молекулярних форм sHSP у різних видів рослин варіює. Так, у арабідопсису їх виявлено 19, у рису – 23, у тополі – 36 (Waters et al, 2008). Ці білки локалізовані в цитоплазмі або ядрі, а також в хлоропластах, мітохондріях та ендоплазматичному ретикулумі (Sun et al, 2002). Рослини синтезують sHSP під впливом гіпертермії, окиснювального стресу, посухи, солей тощо (Yadav et al, 2020).

Активация антиоксидантної системи. Як уже зазначалося, тепловий стрес спричиняє посилення утворення АФК у різних компартментах і структурах рослинних клітин. Цей ефект виконує роль принаймні одного із сигналів, що викликає активацію захисних систем. Водночас порушення окиснювально-відновної рівноваги і процесів редокс-регуляції є однією з причин ушкодження і загибелі клітин. Зважаючи на це, активація роботи антиоксидантної системи розглядається як одна з ключових клітинних реакцій рослин на гіпертермію (Kolupaev et al, 2019). За сучасними уявленнями, антиоксидантами вважаються будь-які речовини, що запобігають, затримують або усувають окиснювальні пошкодження молекули-мішені (Halliwell, Gutteridge, 2015). Загальноприйнятої класифікації антиоксидантів немає. Антиоксидантна система представлена ферментативними та низькомолекулярними антиоксидантами. Серед ферментів цієї системи виділяють каталізатори, що знешкоджують АФК (СОД, каталаза, різні пероксидази); ферменти детоксикації ліпідів (глутатіон S-трансфераза, глутатіонпероксидаза та ін.) та регенератори активних (відновлених) форм антиоксидантів (моноде-

гідроаскорбатредуктаза, дегідроаскорбатредуктаза, глутатіонредуктаза). Останні разом з аскорбатпероксидазою складають аскорбат-глутатіоновий цикл, вони координовано регулюють окиснювально-відновний статус клітин (Manna et al, 2021). Також у цьому процесі задіяні пероксиредоксини, що зменшують вміст H_2O_2 та органічних гідропероксидів (Dietz, 2011).

Низькомолекулярні антиоксиданти у рослинних клітинах представлені широким набором хімічно різнорідних сполук. Основними серед них вважаються аскорбінова кислота та глутатіон (Das, Roychoudhury, 2014). Останнім часом до низькомолекулярних антиоксидантів відносять і деякі сполуки, для яких антиоксидантна функція не є основною, але котрі мають виражені антиоксидантні властивості і накопичуються у відповідь на дію стресових чинників, зокрема, пролін, поліаміни та розчинні вуглеводи (Liang et al, 2013; Das, Roychoudhury 2014; Kolupaev et al, 2022).

Характеристика основних антиоксидантів досить детально описана в ряді оглядів (Das, Roychoudhury, 2014; Kolupaev et al, 2019; Hasanuzzaman et al, 2020; Garsna-Capartys et al, 2020). Зважаючи на це, ми зосередимось лише на прикладах конкретної участі антиоксидантної системи в адаптації рослин до гіпертермії.

Ключовим ферментом антиоксидантного захисту вважається СОД, яка виконує роль первинного рубежу проти АФК (Alscher et al, 2002). Елімінуючи супероксидні радикали, цей фермент опосередковано зменшує ймовірність утворення гідроксильних радикалів, синглетного кисню, пероксинітриду та інших АФК, які через високу реакційну здатність не можуть бути видалені білковими каталізаторами. СОД представлена значною кількістю молекулярних форм, в активних центрах яких можуть бути такі метали як Cu, Zn, Mn, Fe. Найбільш поширеною формою цього ферменту у клітинах рослин є Cu/Zn-СОД (Mg 30–33 кДа), локалізована в цитозолі, хлоропластах, мітохондріях, пероксисомах та апопласті. Менш поширеними є Mn-СОД та Fe-СОД (Alscher et al, 2002; Gill, Tuteja, 2010).

Підвищення активності СОД за помірної дії високих температур зареєстровані на багатьох об'єктах. Так, 20-годинний вплив температури 45 °C на молоді рослини пшениці спричиняв

підвищення активності СОД (Nameed et al, 2012). При вивченні 2–4-годинного впливу температур 40–45 °С на 35-денні рослини пшениці активність ферменту у жаростійкого сорту виявилася вищою, ніж у нестійкого (Ramani, Mandavia, 2015). Посилення експресії генів Cu/Zn-СОД і Mn-СОД і активності ферменту за умов теплового стресу відзначалося у рослин, які раніше зазнали акліматизаційного впливу помірно високих температур (Kumar, Rai, 2014). У проростків кукурудзи при тепловому стресі та посуші, а також їх поєднанні відзначалося підвищення активності СОД у листках та коренях (Hu et al, 2010). Примітно, що цей ефект усувався за допомогою інгібіторів HSP 70, що дозволяє припустити участь HSP 70 у регулюванні активності антиоксидантних ферментів. Однак не ясно, чи пов'язані такі ефекти з його шаперонною дією на молекули ферменту. Рослини пшениці, трансформовані геном транскрипційного фактора *AtWRKY30* арабідопсису, виявляли вищу теплостійкість, резистентність до окиснювального стресу і підвищену активність СОД (El-Esawi et al, 2019).

Досить типовою реакцією на помірну дію високих температур є підвищення активності ферментів, що знешкоджують пероксид водню. Так, показано зростання активності каталази у теплостійких сортів пшениці при гіпертермії у факторостатних умовах (Sairam et al, 2000; Gupta et al, 2013). Водночас повідомляється і про зниження активності каталази у рослин пшениці за умов сильного теплового стресу. Незважаючи на це, у теплостійких генотипів абсолютні величини активності ферменту були вищими, ніж у нестійких (Nameed et al, 2012). За умов впливу теплового стресу в період після цвітіння у жаростійких сортів пшениці також активність каталази була вищою порівняно з менш стійкими (Gao et al, 2021). Подібна картина відзначена і у рослин пшениці різних генотипів, що піддавалися дії теплового стресу на стадії колосіння (Iqbal et al, 2015). Підвищення активності каталази за дії температури 45 °С показано у молодих рослин кукурудзи (Yüzbaşıoğlu et al, 2017).

Генно-інженерні маніпуляції, що підвищують активність каталази, позитивно позначалися на теплостійкості рослин. Так, рослини арабідопсису, трансформовані генами каталази

броколі (*BoCAT1* і *BoCAT2*), мали в кілька разів вищу активність ферменту, ніж рослини дико-го типу, а виживаність трансформантів після потенційно летального теплового стресу також була значно вищою (Chiang et al, 2014). Рослини пшениці, трансформовані геном арабідопсису *AtWRKY30*, що кодує транскрипційний фактор WRKY30, вирізнялися вищою активністю каталази та інших антиоксидантних ферментів і водночас підвищеною теплостійкістю (El-Esawi et al, 2019).

Вплив температури 42 °С на 7-денні рослини *Vigna aconitifolia* різних сортів спричиняв підвищення активності гваяколпероксидази, яке вірогідно корелювало з теплостійкістю сортів (Harsh et al, 2016). Підвищення активності гваяколпероксидази у відповідь на тепловий стрес зареєстровано і у теплостійких сортів пшениці, хоча такий ефект був характерним не для всіх досліджуваних стійких генотипів (Gupta et al, 2013; Ramani et al, 2015). Також повідомляється про компенсацію зниженої активності каталази підвищеною активністю гваяколпероксидази у сортів пшениці за умов теплового стресу (Nameed et al, 2012). У роботі Plieth і Vollbehr (2012) описано зв'язок між термостабільністю пероксидази і жаростійкістю рослин.

Зміна ізоферментного спектра аскорбатпероксидази зафіксована у відповідь на тепловий стрес у стійкого сорту пшениці (Kumar, Rai, 2014). Жаростійкий сорт *B. campestris* відрізнявся від нестійкого посиленою експресією гена і вищою активністю аскорбатпероксидази (APX1) (Chiang et al, 2015). Трансформація арабідопсису генами APX від *B. campestris* зменшувала окиснювальні пошкодження, спричинювані тепловим стресом. Водночас трансформація рослин генами транскрипційних факторів, задіяних в регуляції теплостійкості, зазвичай викликає і зростання активності різних форм пероксидаз. Так, трансформація пшениці геном транскрипційного фактора арабідопсису WRKY30 спричиняла підвищення активності основних антиоксидантних ферментів, особливо аскорбатпероксидази (El-Esawi et al, 2019). Схожі ефекти спостерігалися і у рослин тютюну, трансформованих геном *B. campestris* *BcHsfA1* і підданих тепловому стресу (Zhu et al, 2018). Примітно, що ген APX1 арабідопсису містить функціональний елемент теплового

шоку (HSE) у своїй 5'-промоторній ділянці (Hasanuzzaman et al, 2013). Таким чином, APX1 поряд з «канонічними» HSP належить до білків, утворення яких безпосередньо регулюється факторами теплового шоку (HSF).

Ферменти, причетні до регуляції вмісту відновленого глутатіону, також залучені до адаптації рослин до гіпертермії. Так, жаростійкий сорт пшениці за умов теплового стресу відрізнявся від нестійкого вищою активністю глутатіонредуктази (Ramani, Mandavia, 2015). Показаний зв'язок між експресією генів, задіяних в метаболізмі глутатіону, і теплостійкістю різних генотипів перцю (Wang et al, 2019). Виявлено позитивний зв'язок між теплостійкістю сортів пшениці та вмістом відновленого глутатіону (Sairam et al, 2000; Dash, Mohanty, 2002). У рослин огірка тепловий стрес знижував вміст GSH, водночас їхня обробка екзогенним відновленим глутатіоном сприяла підвищенню теплостійкості, стабілізації фотосинтетичного апарату, зростанню активності антиоксидантних ферментів та вмісту проліну (Ding et al, 2016). Більше того, при цьому посилювалася транскрипція генів аскорбатпероксидази, неспецифічної пероксидази та глутатіонредуктази. У той же час, сама по собі дія високої температури посилювала тільки експресію гена глутатіонредуктази (Ding et al, 2016). Залишається незрозумілим, чи пов'язані ці ефекти з впливом глутатіону на метаболізм загалом чи є наслідком його ефектів як учасника клітинного сигналіngu.

До мультифункціональних протекторних метаболітів з яскраво вираженими антиоксидантними властивостями належить пролін (Liang et al, 2013). Показано підвищення вмісту проліну у молодих рослин пшениці різних генотипів у відповідь на дію температури 35 °С. При цьому у теплостійких сортів вміст проліну підвищувався після стресу в 2–2,5 рази, а у нестійких був істотно меншим (Ju, Ma, 2011). Схожі закономірності змін вмісту проліну на іншому наборі сортів пшениці виявлені після короткочасного прогріву проростків за температури 42 °С (Gupta et al, 2013). Проте на більш пізніх фазах розвитку зафіксовані ефекти зниження вмісту проліну в листках пшениці після теплового стресу (Kumar et al, 2012). У жаростійких сортів салату у відповідь на дію гіпер-

термії зростання вмісту проліну було більш істотним порівняно з нестійкими (Han et al, 2013). У різних сортів рослин *Vigna aconitifolia* вміст проліну після теплового стресу також підвищувався, проте вірогідної кореляції між цим ефектом і теплостійкістю сортів не виявлено (Harsh et al, 2016).

Генетична трансформація, що спричиняє зростання теплостійкості рослин, зазвичай супроводжуються посиленням накопичення проліну трансформантами за умов теплового стресу. Так, для рослин *Nicotiana benthamiana*, трансформованих геном білка теплового шоку *AsHSP70* з *Agave sisalana*, було характерне більш істотне підвищення вмісту проліну порівняно з таким ефектом у звичайних рослин (Batcho et al, 2022). Рослини тютюну, трансформовані геном білка теплового шоку *BcHSP70* з *B. campestris*, відрізнялися підвищеною теплостійкістю і більшим накопиченням проліну порівняно з лініями дикого типу (Wang et al, 2016). У рослин арабідопсису, теплостійкість яких була підвищена трансформацією гена транскрипційного фактора WRKY пшениці (*AtWRKY30*), вміст проліну за стресових умов також був вищим, ніж у рослин дикого типу (El-Esawi et al, 2019). Водночас трансформація рослин сої геном ключового ферменту синтезу проліну піролін-5-карбоксилатредуктази арабідопсису (*AtP5CR*) спричиняла зростання теплостійкості (Iqbal et al, 2019).

Інші метаболіти, зокрема, розчинні вуглеводи, ймовірно, також можуть брати участь в антиоксидантному захисті при тепловому стресі та/або залучатися до регуляції стану антиоксидантної системи. Так, обробка рослин огірка 30 мМ глюкозою спричиняла підвищення їхньої теплостійкості та зниження вмісту АФК (Huang et al, 2015). При цьому відзначалося збільшення кількості транскриптів та підвищення активності Cu/Zn-СОД, Mn-СОД, каталази, глутатіонредуктази, а також вмісту проліну. Ці ефекти глюкози не пов'язані з її осмотичною активністю, оскільки обробка рослин метаболічно неактивним манітолом у такій же концентрації майже не впливала на зазначені показники (Huang et al, 2015). Теплостійкий сорт нуту за умов стресу накопичував більшу кількість цукрів порівняно з нестійким (Yadav et al, 2022). Вважається-

ся, що сахароза може безпосередньо захищати мембрани, утворюючи зв'язки з фосфатними «голівками» ліпідів, що важливо за дії на рослини різних стресових чинників (Tarkowski, Vanden, 2015).

Останніми роками до важливих осмолітів і регуляторів адаптивних реакцій рослин на гіпертермію відносять трегалозу (Xalxo et al, 2020). Захисна дія трегалози на рослинні клітини за стресових умов, у тому числі гіпертермії, може бути зумовлена її здатністю зв'язувати гідроксильні радикали (Yatsyshyn et al, 2017). Відомо також про здатність трегалози попереджати теплову інактивацію СОД *in vitro*, що, як припускають, може сприяти захисту рослинних клітин від вільнорадикальних ушкоджень поряд з прямою антиоксидатною дією цього вуглеводу (Yatsyshyn et al, 2017). У ряді досліджень встановлено збільшення вмісту трегалози в органах рослин у відповідь на дію абіотичних стресорів (Xalxo et al, 2020). Так, нещодавно було показано значне підвищення вмісту трегалози у стеблах і коренях *Rosa chinensis* та активацію експресії восьми генів трегалозо-6-фосфатсинтази за умов гіпертермії (Wei et al, 2022).

Показано, що обробка рослин пшениці трегалозою підвищувала активність ФС II та вміст одного із захисних білків (D1) при тепловому стресі. За обробки екзогенною трегалозою зменшувалися спричинювані гіпертермією окиснювальні пошкодження рослин, зростали вміст відновленого аскорбату, активність та експресія генів антиоксидантних ферментів (Luo et al, 2018), а отримання трансгенних рослин з дріжджовими генами синтезу трегалози призводить до підвищення їх посухостійкості (Kvasko et al, 2019; 2020). За допомогою секвенування РНК та методів метаболоміки показано, що попередня обробка рослин пшениці трегалозою за умов теплового стресу посилювала активність циклу трикарбонових кислот, впливала на пуриновий метаболізм, накопичення фенілпропанонів та експресію генів, що контролюють їх біосинтез (Luo et al, 2022).

Підсумки і перспективи. За останнє десятиліття досягнуто значного прогресу у розумінні клітинних і молекулярно-генетичних механізмів адаптації рослин до гіпертермії, проте пи-

тання про сприйняття рослиною дії високих температур досі багато в чому залишається відкритим. Оскільки вплив температури на рослинні клітини не обмежується фізичними бар'єрами, вважається, що сприйняття високих температур відбувається за допомогою множинних сенсорів, в ролі яких виступають як макромолекули, так і мембранні структури. Ключовим механізмом терморцепції вважається флюїдизація клітинних мембран. Отримано докази причинно-наслідкового зв'язку між цим ефектом і відкриванням певних кальцієвих каналів, насамперед CNGC (Li et al, 2018).

Внесок інших механізмів терморцепції рослин залишається малодослідженим. Через швидкий розвиток подій, пов'язаних з передачею сигналу високих температур до ядра, і залучення до цього процесу багатьох компонентів сигнальної мережі рослинних клітин поки що важко скласти уявлення про послідовність взаємодії посередників у ланцюгах передачі сигналів гіпертермії. Набір посередників, задіяних в передачі сигналів теплового стресу, постійно розширюється. На даний час підтверджено участь АФК у формуванні реакцій рослин на тепловий стрес. При цьому неясною залишається ймовірність взаємодії сигналів, які виникають за рахунок термомодифікації мембран хлоропластів і мітохондрій, що містять електрон-транспортні ланцюги, та сигналів, що формуються внаслідок підвищення активності НАДФН-оксидази й інших АФК-генеруючих ферментів.

На даний час важливими учасниками процесу формування теплостійкості рослин вважаються і ключові газотрансмітери – NO і H₂S. Ці посередники регулюють ПТМ білків, проте питання функціональної взаємодії NO і H₂S між собою, а також з АФК (зокрема, на рівні впливу на спільні мішені) в контексті передачі сигналів високої температури потребує майбутніх досліджень. Цілком ймовірно, що процеси ПТМ білків важливі не лише для передачі сигналів, а й для формування захисних реакцій як таких, оскільки мішенями для таких модифікацій можуть бути антиоксидантні ферменти і структурні білки. Важливим феноменом, що супроводжує адаптацію рослин до гіпертермії, є модифікація цитоскелету за до-

помогою NO, проте молекулярні механізми цього явища відомі далеко не повністю.

За останнє десятиліття встановлені ключові транскрипційні фактори (HSF, MBF, NAC, WRKY та ін), під контролем яких перебувають гени, що забезпечують основні захисні реакції рослин. Однак набір конкретних генів, контрольованих даними факторами (за винятком, власне, HSF), відомий не повністю. Також мало вивчені опосередковані механізми впливу цих факторів на захисні процеси, хоча й накопичуються дані про посилену роботу ключових стрес-протекторних систем у рослин, що надекспресують гени ТФ MBF, NAC, WRKY (Zaikina et al, 2022).

Рослини реагують на дію високих температур цілим комплексом адаптивних процесів. Серед них найбільш вивченими є синтез HSP, активація антиоксидантної системи, істотні зміни метаболізму (накопичення низькомолекулярних протекторів, зокрема, проліну, цукрів, у тому числі трегалози, а також вторинних метаболітів). Для деяких із цих сполук характерні не тільки протекторні, а й регуляторні ефекти – залучення до сигнальних процесів, проте вивчення таких функцій стресових метаболітів перебуває поки що на початковому етапі.

Примітно, що події, пов'язані з передачею сигналу високої температури, можуть індукуватися зовсім короткочасним (від кількох секунд) впливом на рослини таких температур (Aleksandrov, Kislyuk, 1994). При цьому сигнальні процеси і формування адаптивної відповіді можуть відбуватися вже після припинення дії високих температур (Kolupaev et al, 2013; Karpets et al, 2015c). Питання про те, чи існують відмінності у сприйнятті рослинами короткочасного (секунди, хвилини) і довготривалого (години, дні) впливу гіпертермії, поки що досліджено зовсім недостатньо. Проте не викликає сумнівів існування ефекту розвитку теплостійкості (загартування) після припинення дії на рослини високої температури. Таким чином, актуальним залишається і вивчення сигнальних процесів, які відбуваються вже після припинення дії на рослини екстремальних температур.

Є підстави сподіватися, що поєднання методів клітинної біології, молекулярної біології, біохімії, а також геноміки та метаболоміки як

системних складових сучасної функціональної біології рослин, дозволить у найближчі роки скласти більш цілісну картину про послідовність подій, що відбуваються у рослин при «зустрічі» з високими температурами. Ці фундаментальні знання матимуть і пряме практичне застосування, оскільки дозволять перейти від емпіричних до більш обґрунтованих і системних підходів у пошуку ознак стійкості рослин для потреб селекції.

Дотримання етичних норм. Відповідність етичним стандартам. Ця стаття не містить будь-яких досліджень з використанням людей і тварин як об'єктів.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Робота виконувалась за програмою наукових досліджень НААН «Формування та використання банку генетичних ресурсів рослин», завдання «Розроблення та оптимізація методологічних підходів до ідентифікації генофонду озимих зернових культур за рівнем адаптивності до абіотичних чинників в онтогенезі», номер держреєстрації 0121U100564).

CELLULAR MECHANISMS FOR THE FORMATION OF PLANT ADAPTIVE RESPONSES TO HIGH TEMPERATURES

Yu. E. Kolupaev, T. O. Yastreba, N. I. Ryabchun, A. I. Yemets, A. P. Dmitriev, Ya. B. Blume

Yur'ev Plant Production Institute, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova str., 142, Kharkiv, 61060, Ukraine

State Biotechnological University Alcheshkikh str., 44, Kharkiv, 61002, Ukraine

Institute of Food Biotechnology and Genomics, National Academy of Sciences of Ukraine, Oshpovskoho str., 2a, Kyiv, 04123, Ukraine

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, Akademika Zabolotnogo str., 148, Kyiv, 03143 Ukraine

E-mail: plant_biology@ukr.net, dmitriev.ap@gmail.com

Extreme temperatures are among the most dangerous environmental factors, the impact of which on plants has been increasing significantly in last few decades. The review analyses the latest information about the perception mechanisms of hyperthermia signal by plant cells. The emphasis is placed on the role of membrane fluidization, changes in calcium channels, and increased generation of reactive oxygen species in the perception

of heat stress signal. The significance of gasotransmitters (NO and H₂S) and their interaction with other mediators in the transduction of hyperthermia signal into the genetic apparatus is discussed separately. The role of key transcription factors (HSF, MBF, NAC, and WRKY) in formation of plant adaptive responses to high temperatures is analysed. The present-day concepts on the mechanisms of activation and functioning of main stress-protective systems that provide plant resistance to hyperthermia (synthesis of heat shock proteins, antioxidant and osmoprotective systems) are summarized. Examples of genetic improvement of plants heat resistance by transformation of genes involved in the control of these systems are presented.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Agrawal D, Allakhverdiev SI, Jajoo A (2016) Cyclic electron flow plays an important role in protection of spinach leaves under high temperature stress. *Russ J Plant Physiol* 63(2):210–215. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443716020023>.
- Aleksandrov VYa, Kislyuk IM (1994) Cell response to heat shock, Physiological aspect. *Tsitologiya* 36 (1):5–59.
- Ali S, Anjum MA, Nawaz A et al (2021) Hydrogen sulfide regulates temperature stress in plants. Singh S, Singh VP, Tripathi DK (eds) *Hydrogen Sulfide in Plant Biolog Elsevier*, pp. 1–24. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85862-5.00003-8>.
- Ali S, Rizwan M, Arif MS et al (2020) Approaches in enhancing thermotolerance in plants: An updated review. *J Plant Growth Regul* 39:456–480. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09994-x>.
- Alscher RG, Erturk N, Heath LS (2002) Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J Exp Bot* 53(372):1331–1341. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1331>.
- Ambrosone A, Giacomo M, Leone A et al (2013) Identification of early induced genes upon water deficit in potato cell culture by cDNA-AFLP. *J Plant Res* 126: 169–178. <https://doi.org/10.1007/s10265-012-0505-7>.
- Arora D, Bhatla SC (2015) Nitric oxide triggers a concentration-dependent differential modulation of superoxide dismutase (FeSOD and Cu/ZnSOD) activity in sunflower seedling roots and cotyledons as an early and long. *Plant Signal Behav* 10(10):e1071753. <https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1071753>.
- Arora D, Jain P, Singh N et al (2016) Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants. *Free Radical Res* 50(3):291–303. <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1118473>.
- Asthir B (2015) Mechanisms of heat tolerance in crop plants. *Biol Plant*. 59(4):620–628. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0539-5>.
- Bae MS, Cho EJ, Choi E-Y, Park OK (2003) Analysis of the Arabidopsis nuclear proteome and its response to cold stress. *Plant J* 36(5):652–663. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2003.01907.x>.
- Banti V, Maffessoni F, Loreti E et al (2010) Heat inducible transcription factor HsfA2 enhances anoxia tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiol* 152:1471–1483. <https://doi.org/10.1104/pp.109.149815>.
- Batcho AA, Jabbar B, Sarwar MB et al (2022) Transient expression analysis of *Agave sisalana* heat shock protein gene (AsHSP70) in model species (*Nicotiana benthamiana*) under heat stress. *Biol Bull* 49(3):160–168. <https://doi.org/10.1134/S1062359022030037>.
- Begara-Morales JC, Sánchez-Calvo B, Chaki M et al (2014) Dual regulation of cytosolic ascorbate peroxidase (APX) by tyrosine nitration and S-nitrosylation. *J Exp Bot* 65(2):527–538. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert396>.
- Bernfur K, Rutsdottir G, Emanuelsson C (2017) The chloroplast-localized small heat shock protein Hsp21 associates with the thylakoid membranes in heat-stressed plants. *Protein Sci* 26:1773–1784. <https://doi.org/10.1002/pro.3213>.
- Bharti K, Koskull-Doring VP, Bharti S et al (2004) Tomato heat stress transcription factor HsfB1 represents a novel type of general transcription coactivator with a histone-like motif interacting with the plant CREB binding protein ortholog HAC1. *Plant Cell* 16(6):1521–1535. <https://doi.org/10.1105/tpc.019927>.
- Blume YaB, Lytvyn DI, Krasnylenko YuA et al (2011) Nitrotyrosination as a posttranslational modification of plant α -tubulin. *Reports Natl Acad Sci Ukraine*, N 7:161–166.
- Bukau B, Weissman J, Horwich A (2006) Molecular chaperones and protein quality control. *Cell* 125:443–451. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.04.014>.
- Chen X, Chen Q, Zhang X et al (2016) Hydrogen sulfide mediates nicotine biosynthesis in tobacco (*Nicotiana tabacum*) under high temperature conditions. *Plant Physiol Biochem* 104:174–179. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.033>.
- Cheng T, Shi J, Dong Y et al (2018) Hydrogen sulfide enhances poplar tolerance to high-temperature stress by increasing S-nitrosoglutathione reductase (GSNOR) activity and reducing reactive oxygen/nitrogen damage. *Plant Growth Regul* 84:11–23. <https://doi.org/10.1007/s10725-017-0316-x>.
- Chiang CM, Chen SP, Chen LFO et al (2014) Expression of the broccoli catalase gene (*BoCAT*) enhances heat tolerance in transgenic Arabidopsis. *J Plant Biochem Biotechnol* 23:266–277. <https://doi.org/10.1007/s13562-013-0210-1>.
- Chiang CM, Chien HL, Chen LFO et al (2015) Overexpression of the genes coding ascorbate per-

- oxidase from *Brassica campestris* enhances heat tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Biol Plant* 59(2):305–315. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0489-y>.
- Cho EK, Hong CB (2006) Over-expression of tobacco NtHSP70-1 contributes to drought-stress tolerance in plants. *Plant Cell Rep* 25:349–358. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0093-2>.
- Choudhury FK, Rivero RM, Blumwald E, Mittler R (2017) Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant J* 90:856–867. <https://doi.org/10.1111/tpj.13299>.
- Christou A, Filippou P, Manganaris G, Fotopoulos V (2014) Sodium hydrosulfide induces systemic thermotolerance to strawberry plants through transcriptional regulation of heat shock proteins and aquaporin. *BMC Plant Biol* 14:42. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-42>.
- Conte ML, Carroll KS (2013) The redox biochemistry of protein sulfenylation and sulfinylation. *J Biol Chem* 288(37):26480–26488. <https://doi.org/10.1074/jbc.R113.467738>.
- Corpas FJ, Palma JM, Sandalio LM et al (2008) Peroxisomal xanthine oxidoreductase: characterization of the enzyme from pea (*Pisum sativum* L.) leaves. *J Plant Physiol* 165(13):1319–1330. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.04.004>.
- Corpas FJ, González-Gordo S, Canas A, Palma JM (2019) Nitric oxide (NO) and hydrogen sulfide (H₂S) in plants: Which is first? *J Exp Bot* 70(17):4391–4404. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz031>.
- Corpas FJ, Barroso JB (2013) Nitro-oxidative stress vs oxidative or nitrosative stress in higher plants. *New Phytol* 199:633–635. <https://doi.org/10.1111/nph.12380>.
- Corpas FJ, Barroso JB (2017) Nitric oxide synthase-like activity in higher plants. *Nitric Oxide* 68:5–6. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.10.009>.
- Costa A, Navazio L, Szabo I (2018) The contribution of organelles to plant intracellular calcium signalling. *J Exp Bot* 69(17):4175–4193. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery185>.
- Cuevasanata E, Lange M, Bonanata J et al (2015) Reaction of hydrogen sulphide with disulfide and sulfenic acid to form the strongly nucleophilic persulfide. *J Biol Chem* 290(45):26866–26880. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.672816>.
- Das K, Roychoudhury A (2014) Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front Environ Sci*, 2:53. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>.
- Dash S, Mohanty N (2002) Response of seedlings to heat-stress in cultivars of wheat: growth temperature-dependent differential modulation of photosystem I and 2 activity and foliar antioxidant defense capacity. *J Plant Physiol* 159(1):49–59. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00594>.
- Datir SS (2020) Transcriptomics to dissect plant responses to heat stress. In: Wani SH, Kumar V (eds) *Heat Stress Tolerance in Plants: Physiological, Mol Genet Perspect* John Wiley & Sons Ltd, pp. 117–140. <https://doi.org/10.1002/9781119432401.ch6>.
- Devireddy AR, Tschaplinski TJ, Tuskan GA et al (2021) Role of reactive oxygen species and hormones in plant responses to temperature changes. *Int J Mol Sci* 22:8843. <https://doi.org/10.3390/ijms22168843>.
- Dickinson PJ, Kumar M, Martinho C et al (2018) Chloroplast signaling gates thermotolerance in *Arabidopsis*. *Cell Rep* 22:1657–1665. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.01.054>.
- Dietz KJ (2011) Peroxiredoxins in plants and cyanobacteria. *Antioxidants Redox Signal* 15(4):1129–1159. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3657>.
- Ding X, Jiang Y, He L et al (2016) Exogenous glutathione improves high root-zone temperature tolerance by modulating photosynthesis, antioxidant and osmolyte systems in cucumber seedlings. *Sci Rep* 18(6):35424. <https://doi.org/10.1038/srep35424>.
- El-Esawi MA, Al-Ghamdi AA et al (2019) Over-expression of AtWRKY30 transcription factor enhances heat and drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genes* 10(2):163. <https://doi.org/10.3390/genes10020163>.
- Finka A, Goloubinoff P (2014) The CNGCb and CNGCd genes from *Physcomitrella patens* moss encode for thermosensory calcium channels responding to fluidity changes in the plasma membrane. *Cell Stress Chaperones* 19(1):83–90. doi: <https://doi.org/10.1007/s12192-013-0436-9>.
- Fragkostefanakis S, Röth S, Schleiff E, Klaus-Dieter S (2015) Prospects of engineering thermotolerance in crops through modulation of heat stress transcription factor and heat shock protein networks. *Plant Cell Environ* 38:1881–1895. <https://doi.org/10.1111/pce.12396>.
- Gao CH, Sun M, Anwar S et al (2021) Response of physiological characteristics and grain yield of winter wheat varieties to long-term heat stress at anthesis. *Photosynthetica* 59(4):640–651. <https://doi.org/10.32615/ps.2021.060>.
- Gao F, Han X, Wu J et al (2012) A heat activated calcium permeable channel – *Arabidopsis* cyclic nucleotide gated ion channel6 – is involved in heat shock responses. *Plant J* 70(6):1056–1069. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.04969.x>.
- García-Caparrys P, De Filippis L, Gul A et al (2021) Oxidative stress and antioxidant metabolism under

- adverse environmental conditions: a review. *Bot Rev* 87(4):421–466. <https://doi.org/10.1007/s12229-020-09231-1>.
- Gill SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem* 48(12):909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
- Gould KS, Lamotte O, Klinguer A et al (2003) Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response? *Plant Cell Environ* 26:1851–1862. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.01101.x>.
- Gruhlke MC (2019) Reactive sulfur species a new player in plant physiology? In: Hasanuzzaman M, Fotopoulos V, Nahar K, Fujita M (eds) *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms*, vol 2. John Wiley & Sons Ltd, pp. 715–728. <https://doi.org/10.1002/9781119468677.ch31>.
- Guo W, Zhang J, Zhang N et al (2015) The wheat NAC transcription factor TaNAC2L is regulated at the transcriptional and post-translational levels and promotes heat stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *PLoS ONE* 10(8):e0135667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135667>.
- Guo H, Xiao T, Zhou H et al (2016) Hydrogen sulfide: a versatile regulator of environmental stress in plants. *Acta Physiol Plant* 38:16. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-2038-x>.
- Guo Z, Liang Y, Yan J et al (2018) Physiological response and transcription profiling analysis reveals the role of H₂S in alleviating excess nitrate stress tolerance in tomato roots. *Plant Physiol Biochem* 124:59–69. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.01.006>.
- Gupta NK, Agarwal S, Agarwal VP et al (2013) Effect of short-term heat stress on growth, physiology and antioxidative defence system in wheat seedlings. *Acta Physiol Plant* 35:1837–1842. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1221-1>.
- Gupta KJ, Kolbert Z, Durner J et al (2020) Regulating the regulator: nitric oxide control of post-translational modifications. *New Phytol* 227:1319–1325. <https://doi.org/10.1111/nph.16622>.
- Gupta KJ, Kaiser WM (2010) Production and scavenging of nitric oxide by barley root mitochondria. *Plant Cell Physiol* 51(4):576–584. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq022>.
- Halliwell B, Gutteridge JM (2015) *Free radicals in biology and medicine*. USA: Oxford University Press.
- Hameed A, Goher M, Iqbal N (2012) Heat stress-induced cell death, changes in antioxidants, lipid peroxidation, and protease activity in wheat leaves. *J Plant Growth Regul* 31:283–291. <https://doi.org/10.1007/s00344-011-9238-4>.
- Han Y, Fan S, Zhang Q, Wang Y (2013) Effect of heat stress on the MDA, proline and soluble sugar content in leaf lettuce seedlings. *Agricult Sci* 4(5B):112–115. <https://doi.org/10.4236/as.2013.45B021>.
- Hancock JT (2019) Hydrogen sulfide and environmental stresses. *Environ Exp Bot* 61(9):50–56. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.08.034>.
- Hancock JT, Whiteman M (2014) Hydrogen sulfide and cell signaling: Team player or referee? *Plant Physiol Biochem* 78: 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.02.012>.
- Harsh A, Sharma YK, Joshi U et al (2016) Effect of short-term heat stress on total sugars, proline and some antioxidant enzymes in moth bean (*Vigna aconitifolia*). *Ann Agricult Sci* 61(1):57–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aos.2016.02.001>.
- Hasanuzzaman M, Bhuyan MHM, Zulfiqar F et al (2020) Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants* 9(8):681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>.
- Hasanuzzaman M, Nahar K, Alam MM et al (2013) Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *Int J Mol Sci* 14:9643–9684. <https://doi.org/10.3390/ijms14059643>.
- Havva EN, Kolupaev YE, Shkliarevskiy MA et al (2022) Hydrogen sulfide participation in the formation of wheat seedlings' heat resistance under the action of hardening temperature. *Cytol Genet* 56(3):218–225. <https://doi.org/10.3103/S0095452722030045>.
- He GH, Xu JY, Wang YX et al (2016) Drought-responsive WRKY transcription factor genes *TaWRKY1* and *TaWRKY33* from wheat confer drought and/or heat resistance in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol* 16:116. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0806-4>.
- Hu X, Liu R, Li Y et al (2010) Heat shock protein 70 regulates the abscisic acid-induced antioxidant response of maize to combined drought and heat stress. *Plant Growth Regul* 60:225–235. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9436-2>.
- Huang YW, Zhou ZQ, Yang HX et al (2015) Glucose application protects chloroplast ultrastructure in heat-stressed cucumber leaves through modifying antioxidant enzyme activity. *Biol Plant* 59:131–138. <https://doi.org/10.1007/s10535-014-0470-1>.
- Ida T, Sawa T, Ihara H et al (2014) Reactive cysteine persulfides and S-polythiolation regulate oxidative stress and redox signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 111(21): 7606–7611. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321232111>.
- Iqbal M, Hussain I, Liaqat H et al (2015) Exogenously applied selenium reduces oxidative stress and induces heat tolerance in spring wheat. *Plant Physiol Biochem* 94:95–103. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.05.012>.

- Iqbal N, Fatma M, Khan NA, Umar S (2019) Regulatory role of proline in heat stress tolerance: modulation by salicylic acid. In: Khan MIR, Reddy PS, Ferrante A, Khan NA (eds) *Plant Signaling Molecules*. Elsevier, pp. 437–448. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816451-8.00027-7>.
- Ischiropoulos H (2003) Biological selectivity and functional aspects of protein tyrosine nitration. *Biochem Biophys Res Commun* 305:776–783. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(03\)00814-3](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(03)00814-3).
- Jeandroz S, Wipf D, Stuehr DJ et al (2016) Occurrence, structure, and evolution of nitric oxide synthase-like proteins in the plant kingdom. *Sci. Signal* 9(417):re2. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aad4403>.
- Ju A, Ma H (2011) Evaluation of seedling proline content of wheat genotypes in relation to heat tolerance. *Bangladesh J Bot* 40(1):17–22.
- Jung J, Domijan M, Klose C et al (2016) Phytochromes function as thermosensors in *Arabidopsis*. *Sci-ence* 354(6314):886–889. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6005>
- Karpets YuV, Kolupaev YuE, Vayner AA (2015a) Functional interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide during formation of wheat seedling induced heat resistance. *Russ J Plant Physiol* 62(1):65–70. <https://doi.org/10.1134/S1021443714060090>.
- Karpets YuV, Kolupaev YuE, Yastreba TO (2015b) Signal mediators at induction of heat resistance of wheat plantlets by short-term heating. *Ukr Biochem J* 88(6): 104–112. <https://doi.org/10.15407/ubj87.06.104>.
- Karpets YuV, Kolupaev YuE, Yastreba TO, Oboznyi AI (2015c) Effects of NO-Status modification, heat hardening, and hydrogen peroxide on the activity of antioxidant enzymes in wheat seedlings. *Russ J Plant Physiol* 62(3):292–298. <https://doi.org/10.1134/S1021443715030097>.
- Karpets YuV, Kolupaev YuE, Lugovaya AA et al (2020) Functional interaction of ROS and nitric oxide during induction of heat resistance of wheat seedlings by hydrogen sulfide donor. *Russ J Plant Physiol* 67(4):653–660. <https://doi.org/10.1134/S1021443720030140>.
- Kemp M, Go, YM, Jones DP (2008) Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide redox systems: a perspective on redox systems biology. *Free Radical Biol Med* 44(6):921–937. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.11.008>.
- Kimura S, Kaya H, Kawarazaki T et al (2012) Protein phosphorylation is a prerequisite for the Ca²⁺-dependent activation of *Arabidopsis* NADPH oxidases and may function as a trigger for the positive feedback regulation of Ca²⁺ and reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta* 1823:398–405. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.09.011>.
- Kolbert Z, Barroso JB, Brouquisse R et al (2019) A forty year journey: The generation and roles of NO in plants. *Nitric Oxide* 93:53–70. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.09.006>.
- Kolupaev YuE, Firsova EN, Yastreba TO, Lugovaya AA (2017) The participation of calcium ions and reactive oxygen species in the induction of antioxidant enzymes and heat resistance in plant cells by hydrogen sulfide donor. *Appl Biochem Microbiol* 53(5):573–579. <https://doi.org/10.1134/S0003683817050088>.
- Kolupaev YuE, Karpets YuV, Kabashnikova LF (2019) Antioxidative system of plants: Cellular compartmentalization, protective and signaling functions, mechanisms of regulation (Review). *Appl Biochem Microbiol* 55(5):441–459. <https://doi.org/10.1134/S0003683819050089>.
- Kolupaev YuE, Kokorev AI, Dmitriev AP (2022) Polyamines: Involvement in cellular signaling and plant adaptation to the effect of abiotic stressors. *Cytol Genet* 56(2):148–163. <https://doi.org/10.3103/S0095452722020062>.
- Kolupaev YuE, Oboznyi AI, Shvidenko NV (2013) Role of hydrogen peroxide in generation of a signal inducing heat tolerance of wheat seedlings. *Russ J Plant Physiol* 60(2):227–234. <https://doi.org/10.1134/S102144371302012X>.
- König J, Muthuramalingam M, Dietz KJ (2012) Mechanisms and dynamics in the thiol/disulfide redox regulatory network: Transmitters, sensors and targets. *Curr Opin Plant Biol* 15(3):261–268. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.12.002>.
- Konrad KR, Maierhofer T, Hedrich R (2018) Spatiotemporal aspects of Ca²⁺-signalling: lessons from guard cells and pollen tubes. *J Exp Bot* 69(17):4195–4214. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery154>.
- Kozeko LY (2019) The role of HSP90 chaperones in stability and plasticity of ontogenesis of plants under normal and stressful conditions (*Arabidopsis thaliana*). *Cytol Genet* 53(2):143–161. <https://doi.org/10.3103/S0095452719020063>.
- Kozeko LY, Rakhmetov DB (2016) Variation in dynamics of the heat shock proteins HSP70 synthesis in *Malva sylvestris* and *M. pulchella* (Malvaceae) in connection with tolerance to high temperature, flooding and drought. *Ukr Bot J* 73(2):194–203. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj73.02.194>.
- Krasylenko YA, Yemets AI, Blume YB (2019) Nitric oxide synthase inhibitor L-NAME affects *Arabidopsis* root growth, morphology, and microtubule organization. *Cell Biol Int* 43(9):1049–1055. <https://doi.org/10.1002/cbin.10880>.
- Kreslavski VD, Los DA, Allakhverdiev SI, Kuznetsov VIV (2012) Signaling role of reactive oxygen species in plants under stress. *Russ J Plant Physiol* 59(2):141–

154. <https://doi.org/10.1134/S1021443712020057>.
- Krishna P, Gloor G (2001) The Hsp90 family of proteins in *Arabidopsis thaliana*. Cell Stress Chaperones 6(3): 238–246. [https://doi.org/10.1379/1466-1268\(2001\)006<0238:thfopi>2.0.co;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(2001)006<0238:thfopi>2.0.co;2)
- Kumar RR, Goswami S, Sharma SK et al (2012) Protection against heat stress in wheat involves change in cell membrane stability, antioxidant enzymes, osmolyte, H₂O₂ and transcript of heat shock protein. Int J Plant Physiol Biochem 4(4):83–91. <https://doi.org/https://doi.org/10.5897/IJPPB12.008>.
- Kumar RR, Rai RD (2014) Can wheat beat the heat: understanding the mechanism of thermotolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). A Review. Cereal Res Commun 42(1):1–18. <https://doi.org/10.1556/CRC.42.2014.1.1>.
- Kvasko AY, Isayenkov SV, Dmytruk KV et al (2020) Obtaining wheat (*Triticum aestivum* L.) lines with yeast genes for trehalose biosynthesis. Cytol Genet 54(4):283–292. <https://doi.org/10.3103/S0095452720040088>.
- Kvasko AY, Isayenkov SV, Krasnoperova EE et al (2019) Genetic transformation of *Nicotiana tabacum* with yeast genes of trehalose biosynthesis TPS1 and TPS2. Visnyk Ukr Tovarystva Genet Seleksioneriv 18(2):8–16. <https://doi.org/10.7124/visnyk.utgis.17.2.1215>.
- Lee JH, Hubel A, Schoffl F (1995) Derepression of the activity of genetically engineered heat shock factor causes constitutive synthesis of heat shock proteins and increased thermotolerance in transgenic *Arabidopsis*. Plant J 8:603–612. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1995.8040603.x>.
- Li B, Gao K, Ren H, Tang W (2018) Molecular mechanisms governing plant responses to high temperatures. J Integr Plant Biol. 60(9):757–779. <https://doi.org/10.1111/jipb.12701>.
- Li Q, Lancaster JR (2013) Chemical foundations of hydrogen sulfide biology. Nitric Oxide 35:21–34. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2013.07.001>.
- Li ZG (2013) Hydrogen sulfide: A multifunctional gaseous molecule in plants. Russ J Plant Physiol 60(6):733–740. <https://doi.org/10.1134/S1021443713060058>.
- Li ZG (2020) Mechanisms of plant adaptation and tolerance to heat stress. In: Hasanuzzaman M. (ed) Plant Ecophysiology and Adaptation under Climate Change: Mechanisms and Perspectives II. Singapore: Springer Nature Pte, pp. 39–60. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2172-0_3.
- Li ZG, Gong M, Xie H et al (2012) Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-induced heat tolerance in tobacco (*Nicotiana tabacum* L) suspension cultured cells and involvement of Ca²⁺ and calmodulin. Plant Sci 185/186:185–189. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.10.006>.
- Li ZG, Long WB, Yang SZ et al (2015) Endogenous hydrogen sulfide regulated by calcium is involved in thermotolerance in tobacco *Nicotiana tabacum* L. suspension cell cultures. Acta Physiol Plant 37:219. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1971-z>.
- Liang X, Zhang L, Natarajan SK, Becker DF (2013) Proline mechanisms of stress survival. Antioxidants Redox Signal 19(9):998–1011. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5074>.
- Liao C, Zheng Y, Guo Y (2017) MYB30 transcription factor regulates oxidative and heat stress responses through ANNEXIN-mediated cytosolic calcium signaling in *Arabidopsis*. New Phytol 216:163–177. <https://doi.org/10.1111/nph.14679>.
- Lisjak M, Teklic T, Wilson ID et al (2013) Hydrogen sulfide: environmental factor or signalling molecule? Plant Cell Environ 36(9):1607–1616. <https://doi.org/10.1111/pce.12073>.
- Lipka E, Müller S (2014) Nitrosative stress triggers microtubule reorganization in *Arabidopsis thaliana*. J Exp Bot. 65(15):4177–4189. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru194>.
- Liu HC, Charng YY (2013) Common and distinct functions of *Arabidopsis* Class A1 and A2 heat shock factors in diverse abiotic stress responses and development. Plant Physiol 163:276–290. <https://doi.org/10.1104/pp.113.221168>.
- Liu HT, Gao F, Li GL et al (2008) The calmodulin-binding protein kinase 3 is part of heat-shock signal transduction in *Arabidopsis thaliana*. Plant J 55(5):760–773. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03544.x>.
- Lohmann C, Eggers-Schumacher G, Wunderlich M, Schoffl F (2004) Two different heat shock transcription factors regulate immediate early expression of stress genes in *Arabidopsis*. Mol Genet Genom 271:11–21. <https://doi.org/10.1007/s00438-003-0954-8>.
- Lund PA (2001) Molecular Chaperons in the Cell. Oxford: Oxford University Press.
- Luo Y, Wang W, Fan YZ et al (2018) Exogenously-supplied trehalose provides better protection for D1 protein in winter wheat under heat stress. Russ J Plant Physiol 65(1):115–122. <https://doi.org/10.1134/S1021443718010168>.
- Manna M, Thakur T, Chirom O et al (2021) Transcription factors as key molecular target to strengthen the drought stress tolerance in plants. Physiol Plant 172(2):847–868. <https://doi.org/10.1111/ppl.13268>.
- Mishkind M, Vermeer JE, Darwish E, Munnik T (2009) Heat stress activates phospholipase D and triggers PIP accumulation at the plasma membrane and nucleus. Plant J, 60(1):10–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03933.x>.
- Mishra V, Singh P, Tripathi DK et al (2021) Nitric oxide

- and hydrogen sulfide: an indispensable combination for plant functioning. *Trends Plant Sci* 26(12):1270–1285. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.07.016>.
- Mogk A, Schlieker C, Friedrich KL et al (2003) Refolding of substrates bound to small Hsps relies on a disaggregation reaction mediated most efficiently by ClpB/DnaK. *J Biol Chem* 278:31033–31042. <https://doi.org/10.1074/jbc.M303587200>.
- Mohapatra T (2019) Foreword. In: Wani SH, Kumar V. (eds) *Heat Stress Tolerance in Plants Physiological, Molecular and Genetic Perspectives*. Wiley, xix
- Moustaka J, Ouzounidou G, Sperdoui I, Moustakas M (2018) Photosystem II is more sensitive than photosystem I to Al³⁺ induced phytotoxicity. *Materials* 11(9):1772. <https://doi.org/10.3390/ma11091772>.
- Noctor G, Mhamdi A., Foyer CH (2014) The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant Physiol* 164(4):1636–1648. <https://doi.org/10.1104/pp.113.233478>.
- Oda T, Hashimoto H, Kuwabara N et al (2010) Structure of the N-terminal regulatory domain of a plant NADPH oxidase and its functional implications. *J Biol Chem* 285(2):1435–1445. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.058909>.
- Parankusam S, Adimulam SS, Bhatnagar-Mathur P, Sharma KK (2017) Nitric oxide (NO) in plant heat stress tolerance: current knowledge and perspectives. *Front Plant Sci* 8:1582. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01582>.
- Peteranderl R, Rabenstein M, Shin YK et al (1999) Biochemical and biophysical characterization of the trimerization domain from the heat shock transcription factor. *Biochemistry* 38(12):3559–3569. <https://doi.org/10.1021/bi981774j>.
- Plieth C, Vollbehr S (2012) Calcium promotes activity and confers heat stability on plant peroxidases. *Plant Signal Behav* 7(6):650–660. <http://dx.doi.org/10.4161/psb.20065>.
- Plohovska SH, Krasylenko YA, Yemets AI (2019) Nitric oxide modulates actin filament organization in *Arabidopsis thaliana* primary root cells at low temperatures. *Cell Biol Int* 43(9):1020–1030. <https://doi.org/10.1002/cbin.10931>.
- Plokhovska SH, Yemets AI, Blume YaB (2020) Involvement of nitric oxide in the response of plant cells microtubules to the action of high temperature. *Rep Nat Acad Sci Ukraine* 8:66–72. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.08.066>.
- Pradedova EV, Nimaeva OD., Salyaev RK (2017). Redox processes in biological systems. *Russ J Plant Physiol* 64(6):822–832. <https://doi.org/10.1134/S1021443717050107>.
- Pulido P, Domínguez F, Cejudo FJ (2009) A hydrogen peroxide detoxification system in the nucleus of wheat seed cells: protection or signaling role? *Plant Signal Behav* 4(1):23–25. <https://doi.org/10.4161/psb.4.1.7221>.
- Qin D, Wang F, Geng X et al (2015) Overexpression of heat stress-responsive TaMBF1c, a wheat (*Triticum aestivum* L.) Multiprotein Bridging Factor, confers heat tolerance in both yeast and rice. *Plant Mol Biol* 87(1–2):31–45. <https://doi.org/10.1007/s11103-014-0259-9>.
- Ramani HR, Mandavia MK (2015) Effect of heat stress on enzymes and isoenzymes of wheat genotypes at tillering and grain filling stages. *J Cell Tissue Res* 15(1):4861–4866.
- Romero LC, García I, Gotor C (2013) L-cysteine desulfhydrase 1 modulates the generation of the signaling molecule sulfide in plant cytosol. *Plant Signal Behav* 8(5):4621–4634. <https://doi.org/10.4161/psb.24007>.
- Sánchez-Vicente I, Fernández-Espinosa MG, Lorenzo O (2019) Nitric oxide molecular targets: reprogramming plant development upon stress. *J Exp Bot* 70(17):4441–4460. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz339>.
- Saha J, Brauer EK, Sengupta A et al (2015) Polyamines as redox homeostasis regulators during salt stress in plants. *Front Environ Sci* 3:21. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00021>.
- Saidi Y, Finka A, Muriset M et al (2009) The heat shock response in moss plants is regulated by specific calcium-permeable channels in the plasma membrane. *Plant Cell* 21(9):2829–2843. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.065318>.
- Sairam RK, Srivastava GC, Saxena DC (2000) Increased antioxidant activity under elevated temperatures: a mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes. *Biol Plant* 43:245–251. <https://doi.org/10.1023/A:1002756311146>.
- Sajid M, Rashid B, Ali Q, Husnain T (2018) Mechanisms of heat sensing and responses in plants. It is not all about Ca²⁺ ions. *Biol Plant* 62:409–420. <https://doi.org/10.1007/s10535-018-0795-2>.
- Singh S, Kumar V, Kapoor D et al. (2020) Revealing on hydrogen sulfide and nitric oxide signals co-ordination for plant growth under stress conditions. *Physiol Plant* 168(2):301–317. <https://doi.org/10.1111/ppl.13002>.
- Song L, Zhao H, Hou M (2013) Involvement of nitric oxide in acquired thermotolerance of rice seedlings. *Russ J Plant Physiol* 60(6):785–790. <https://doi.org/10.1134/S1021443713060149>.
- Sun W, Van Montagu M, Verbruggen N (2002) Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. *Biochim Biophys Acta* 1577:1–9. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(02\)00417-7](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(02)00417-7).
- Sung DY, Kaplan F, Guy CL (2001) Plant Hsp70 molecular chaperones: protein structure, gene family, expression and function. *Physiol Plant* 113:

- 443–451. <https://doi.org/10.1034/J.1399-3054.2001.1130402.X>.
- Suzuki N, Koussevitzky S, Mittler R, Miller G (2012) ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant Cell Environ* 35(2):259–270. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02336>.
- Swindell WR, Huebner M, Weber AP (2007) Transcriptional profiling of Arabidopsis heat shock proteins and transcription factors reveals extensive overlap between heat and non-heat stress response pathways. *BMC Genomics* 8:125. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-125>.
- Tarkowski ŁP, Vanden EW (2015) Cold tolerance triggered by soluble sugars: a multifaceted countermeasure. *Front Plant Sci* 6:203. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00203>.
- Thakur M, Anand A (2021) Hydrogen sulfide: An emerging signaling molecule regulating drought stress response in plants. *Physiol Plant* 172(2):1227–1243. <https://doi.org/10.1111/pp1.13432>.
- Tian S, Wang X, Li P, Wang H et al (2016) Plant aquaporin AtPIP1;4 links apoplastic H₂O₂ induction to disease immunity pathways. *Plant Physiol* 171:1635–1650. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01237>.
- Verma S, Kumar N, Verma A et al (2020) Novel approaches to mitigate heat stress impacts on crop growth and development. *Plant Physiol Rep* 25:627–644. <https://doi.org/10.1007/s40502-020-00550-4>.
- Volkov RA, Panchuk II, Mullineaux PM, Schoffl F (2006) Heat stress-induced H₂O₂ is required for effective expression of heat shock genes in Arabidopsis. *Plant Mol Biol* 61:733–746. <https://doi.org/10.1007/s11103-006-0045-4>.
- Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad MR (2007) Heat tolerance in plants: an overview. *Environ Exp Bot* 61(3):199–223. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.011>.
- Wang J, Lv J, Liu Z et al. (2019) Integration of transcriptomics and metabolomics for pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to heat stress. *Int J Mol Sci* 20:5042. <https://doi.org/10.3390/ijms20205042>.
- Wang X, Yan B, Shi M et al (2016) Overexpression of a *Brassica campestris* HSP70 in tobacco confers enhanced tolerance to heat stress. *Protoplasma* 253(3):637–645. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0867-5>.
- Waters RE, Nguyen LS, Eskandar R et al (2008) The recent evolution of a pseudogene: diversity and divergence of a mitochondria-localized small heat shock protein in *Arabidopsis thaliana*. *Genome* 51(3):177–186. <https://doi.org/10.1139/G07-114>.
- Waters RE (2012) The evolution, structure and expression of the plant sHSPs. *J Exp Bot* 64(2):391–403. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers355>.
- Wei XR, Ling W, Ma YW et al (2022) Genome-wide analysis of the trehalose-6-phosphate synthase gene family in rose (*Rosa chinensis*) and differential expression under heat stress. *Horticulturae* 8:429. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050429>.
- Whiteman M, Li L, Kostetski I et al (2006) Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide. *Biochem Biophys Res Commun* 343(1):303–310. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.02.154>.
- Wong HL, Pinontoan R, Hayashi K et al (2007) Regulation of rice NADPH-oxidase by Rac GTPase to its N-terminal extension. *Plant Cell* 19(12):4022–4034. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.055624>.
- Xalxo R, Yadu B, Chandra J et al (2020) Alteration in carbohydrate metabolism modulates thermo-tolerance of plant under heat stress. In: Wani SH, Kumar V (eds) *Heat Stress Tolerance in Plants: Physiological, Molecular and Genetic Perspectives* John Wiley & Sons Ltd, pp. 77–115. <https://doi.org/10.1002/9781119432401.ch5>.
- Xue GP, Drenth J, Lynne McIntyre C (2015) TaHsfA6f is a transcriptional activator that regulates a suite of heat stress protection genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) including previously unknown Hsf targets. *J Exp Bot* 66(3):1025–1039. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru462>.
- Yadav A, Singh J, Ranjan K et al (2020) Heat shock proteins: Master players for heat-stress tolerance in plants during climate change. In: Wani SH, Kumar V (eds) *Heat Stress Tolerance in Plants: Physiological, Molecular and Genetic Perspectives* John Wiley & Sons Ltd, pp. 189–211. <https://doi.org/10.1002/9781119432401.ch9>.
- Yadav R, Saini R, Adhikary A, Kumar S (2022) Unravelling cross priming induced heat stress, combinatorial heat and drought stress response in contrasting chickpea varieties. *Plant Physiol Biochem* 180(1):91–105. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.03.030>.
- Yamada K, Fukao Y, Hayashi M et al (2007) Cytosolic HSP90 regulates the heat shock response that is responsible for heat acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* 282(52):37794–37804. <https://doi.org/10.1074/jbc.M707168200>.
- Yang H, Mu J, Chen L et al (2015) S-nitrosylation positively regulates ascorbate peroxidase activity during plant stress responses. *Plant Physiol* 167(4):1604–1615. <https://doi.org/10.1104/pp.114.255216>.
- Yao Y, He RJ, Xie QL et al (2017) ETHYLENE RESPONSE FACTOR 74 (ERF74) plays an essential role in controlling a respiratory burst oxidase homolog D (RbohD) dependent mechanism in response to different stresses in Arabidopsis. *New*

- Phytol 213(4):1667–1681. <https://doi.org/10.1111/nph.14278>.
- Yatsyshyn VYu, Kvasko AYU, Yemets AI (2017) Genetic approaches in research on the role of trehalose in plants. *Cytol Genet* 51(5):371–383. <https://doi.org/10.3103/S0095452717050127>.
- Yemets AI, Karpets YuV, Kolupaev YuE, Blume YaB (2019) Emerging technologies for enhancing ROS/RNS homeostasis. In: Hasanuzzaman M, Fotopoulos V, Nahar K, Fujita M. (eds) *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms*, vol. 2. John Wiley & Sons Ltd, pp. 873–922. <https://doi.org/10.1002/9781119468677.ch39>.
- Yüzbaşıoğlu E, Dalyan E, Akpınar I (2017) Changes in photosynthetic pigments, anthocyanin content and antioxidant enzyme activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings under high temperature stress conditions. *Trakya Univ J Natural Sci* 18(2):97–104. <https://doi.org/10.23902/trkjnat.289527>.
- Zaikina EA, Musin KG, Kuluev AR et al (2022) Change in the activity of genes of transcription factors TaNAC69, TaDREB1, and TabZIP60 in bread wheat plants with water deficiency and hypothermia. *Russ J Plant Physiol* 69(3):56. <https://doi.org/10.1134/S1021443722030189>.
- Zhang H (2016) Hydrogen sulfide in plant biology. In: Lamattina L, Garcia-Mata C. (eds) *Signaling and Communication in Plants*, vol. Gasotransmitters in Plants. The Rise of a New Paradigm in Cell Signaling. Baluška F, Ed. Switzerland: Springer Int Publ, pp. 23–51. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-40713-5>.
- Zheng SZ, Liu YL, Li B et al (2012) Phosphoinositide-specific phospholipase C9 is involved in the thermotolerance of Arabidopsis. *Plant J* 69: 689–700. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04823.x>.
- Zhu X, Wang Y, Liu Y et al (2018) Overexpression of BcHsfA1 transcription factor from Brassica campestris improved heat tolerance of transgenic tobacco. *PLoS ONE* 13(11):e0207277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207277>.
- Ziogas V, Tanou G, Filippou P et al (2013) Nitrosative responses in citrus plants exposed to six abiotic stress conditions. *Plant Physiol Biochem* 68:118–126. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.004>.

Надійшла в редакцію 15.09.22
Після доопрацювання 19.09.22
Прийнята до друку 18.01.23