

<https://doi.org/10.15407/frg2019.01.028>
УДК 581.1

АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НЕДОСТАТКУ ВЛАГИ

Ю.Е. КОЛУПАЕВ^{1,2}, А.И. КОКОРЕВ¹

¹Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
62483 Харьков, п/о Докучаевское-2
e-mail: plant_biology@ukr.net

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина
61022 Харьков, пл. Свободы, 4

Засуха является одним из основных факторов среды, лимитирующих рост и продуктивность растений. В обзоре проанализированы причины усиления генерации активных форм кислорода (АФК) при засухе в хлоропластах, митохондриях, пероксисомах и клеточных стенках. Рассмотрено значение НАДФН-оксидазы, внеклеточной пероксидазы и супероксиддисмутазы в образовании сигнального пула АФК в условиях осмотического стресса и индуцировании защитных реакций растений. Приведены характеристики компонентов антиоксидантной системы. Оценен вклад основных антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных антиоксидантов в поддержание редокс-гомеостаза при засухе. Особое внимание уделено роли пролина и других совместимых осмолитов в антиоксидантной защите растений. Проанализировано функциональное взаимодействие антиоксидантных ферментов, низкомолекулярных антиоксидантов и осмолитов с антиоксидантными свойствами в условиях засухи. Рассмотрена возможность повышения устойчивости растений к недостатку влаги при помощи экзогенных антиоксидантов, праймингом с использованием сигнальных молекул и стрессовых фитогормонов, а также путем трансформации генами антиоксидантных ферментов либо энзимов, задействованных в регуляции содержания низкомолекулярных протекторов. Указано, что прогресс в исследовании антиоксидантной системы станет более динамичным при использовании методов анализа антиоксидантов *in vivo* в определенных клеточных компартментах и реальном времени.

Ключевые слова: засуха, активные формы кислорода, антиоксидантная система, антиоксидантные ферменты, низкомолекулярные антиоксиданты, пролин.

Изменение количества и характера распределения осадков во времени и пространстве является одной из основных современных климатических угроз [1]. Прогнозируется, что к последней трети нынешнего столетия влажность почвы во многих частях земного шара уменьшится по сравнению с началом XXI века на фоне существенного увеличения различий по количеству осадков между отдельными регионами. Засуха считается одним из основных факторов среды, лимитирующих рост и продуктивность растений [2]. Ее воздействию на растения обычно сопутствует влияние высокой температуры, избы-

точной освещенности, засоления почвы и других факторов [3]. В связи с этим считается, что значительный вклад в засухоустойчивость вносят неспецифические механизмы резистентности, среди которых особое значение имеет антиоксидантная система (АОС) [4, 5].

Нарушение пространственно-временного баланса между генерацией и инактивацией АФК может приводить к окислительным повреждениям биомакромолекул и деструктивным клеточным процессам, которые принято называть окислительным стрессом [6]. При засухе, прежде всего в связи с ограничением поступления углекислого газа в фотосинтезирующие ткани, создаются предпосылки для усиления образования АФК, нарушения процессов редокс-регуляции и развития окислительного стресса.

Несмотря на то что активация АОС является универсальной адаптивной реакцией, при засухе она имеет отличительные особенности, связанные, в частности, со значительным вкладом в антиоксидантную защиту большого количества соединений, которые не принято считать классическими антиоксидантами — пролина, сахаров, полиаминов и др. Указанные соединения не только являются скавенджерами АФК, но и находятся в сложном функциональном взаимодействии с другими антиоксидантами [7, 8]. Феноменология и механизмы таких эффектов активно исследуются лишь в последние годы [9, 10]. Целью настоящего обзора был анализ данных о механизмах образования АФК при засухе, функциональном взаимодействии разных типов антиоксидантов и их вкладе в формирование засухоустойчивости растений.

Источники образования АФК у растений при засухе. Как известно, под АФК подразумевают совокупность взаимно превращающихся реакционноспособных форм кислорода, большинство из которых существуют короткое время. Среди них выделяют свободнорадикальные частицы — супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал (OH^{\cdot}), пероксидные радикалы ($RO_2^{\cdot-}$ и др.) и нейтральные молекулы, такие как пероксид водорода (H_2O_2), синглетный кислород (1O_2) и пр. [11].

Генерация АФК у растений происходит в клеточных стенках, плазматической мембране, цитоплазме, хлоропластах, митохондриях, пероксисомах и, возможно, в других компартментах [11, 12].

Хлоропласты. Процесс фотосинтеза — один из основных источников образования АФК в клетках зеленых растений. Супероксидный анион-радикал является главным первичным продуктом восстановления молекулярного кислорода в хлоропластах при функционировании фотосистемы I (ФС I). Фотоиндуцированная генерация АФК в основном зависит от условий внешней среды и от физиологического состояния фотосинтетического аппарата [13]. При ограничении фиксации CO_2 в условиях засухи пул НАДФН расходуется слабо, вследствие чего происходит «утечка» электронов от ферредоксина к молекулярному кислороду в реакции Мелера.

Образующиеся в хлоропластах супероксидные анион-радикалы под влиянием супероксиддисмутазы (СОД) легко превращаются в пероксид водорода. Последний может выполнять сигнальные функции в хлоропластах, и, диффундируя в цитоплазму, участвовать в общем клеточном сигналинге [14].

Пероксид водорода также может образовывать гидроксильный радикал, вступая в реакцию Фентона, для которой в хлоропластах имеются соответствующие условия (наличие ионов металлов с переменной валентностью) [15].

Фотосистема II (ФС II) рассматривается в качестве основного источника синглетного кислорода. Он образуется в результате перехода хлорофилла P_{680} в триплетное состояние в реакционных центрах ФС II и (или) в светособирающем комплексе. Вероятность образования синглетного кислорода увеличивается при перевосстановленности электронтранспортной цепи в условиях действия стресс-факторов [16].

Пероксисомы являются компартментами, в которых происходят интенсивные процессы образования и утилизации АФК. Одна из основных функций этих органелл — фотодыхание. При фотодыхании фосфогликолат, поступающий из хлоропластов, превращается с участием фосфогликолатфосфатазы в гликолат, а затем под влиянием гликолатоксидазы в глиоксилат с образованием пероксида водорода. Пероксид водорода также может образовываться в пероксисомах при β -окислении жирных кислот [16]. Фотодыхание считается важным механизмом предотвращения фотоингибирования, поддержания транспорта электронов через ФС II в условиях засухи. Показано, что у жаро- и засухоустойчивых сортов пшеницы усиление фотодыхания в стрессовых условиях способствует поддержанию активности ФС II [17]. В то же время повышение интенсивности фотодыхания при засухе сопровождается увеличением содержания пероксида водорода в клетках. Рассчитано, что более 70 % общего количества H_2O_2 в условиях засухи образуется за счет фотодыхания [18].

Митохондрии, как и хлоропласты, содержат большое количество переносчиков электронов. Окислительно-восстановительный потенциал тех из них, которые образуют начальные и средние участки цепи, часто оказывается отрицательнее, чем $-0,3$ В (потенциал пары $O_2/O_2^{\cdot-}$). Это означает, что случайное взаимодействие данных переносчиков с молекулярным кислородом может привести к одноэлектронному восстановлению O_2 до $O_2^{\cdot-}$ [11]. Электронтранспортные комплексы I и III рассматриваются как основные сайты утечки электронов [19]. Скорость генерации АФК существенно зависит от степени восстановленности электронтранспортной цепи и мембранного потенциала. Диссипация мембранного потенциала происходит при окислительном фосфорилировании АДФ. Поэтому, если в митохондриях достаточно АДФ и он активно фосфорилируется, диссипация протонного градиента снижает мембранный потенциал и вероятность генерации $O_2^{\cdot-}$ [19].

В целом считается, что дыхательная цепь митохондрий менее мощный источник АФК по сравнению с электронтранспортной цепью хлоропластов. Однако в темноте или в нефотосинтетических тканях митохондрии могут вносить существенный вклад в генерацию АФК [20]. Получены данные, свидетельствующие о значительном вкладе митохондрий в процессы окислительных повреждений растений в условиях засухи. Так, в стрессовых условиях в листьях пшеницы содержание карбонилированных белков в митохондриях было на порядок выше, чем в хлоропластах [21].

Апопласт. Редокс-метаболизм апопласта определяется функционированием АФК-генерирующих и антиоксидантных ферментов, локализованных не только в самих клеточных стенках, но и в плазматической мембране [22].

Особое значение в образовании АФК в апопласте имеет НАДФН-оксидаза (КФ 1.6.3.1). Этот ферментный комплекс восстанавливает молекулярный кислород с образованием супероксидного анион-радикала:



В реакции используется цитоплазматический НАДФН, электроны от которого с участием ФАД и гема переносятся сквозь мембрану на наружную ее сторону к молекулярному кислороду с образованием супероксидного анион-радикала [23, 24].

Растительная мембраносвязанная субъединица НАДФН-оксидазы имеет N-концевой участок, который связывает ионы кальция. Растительные гомологи НАДФН-оксидазы содержат также цитозольный ФАД- и НАДФН-связывающие домены и шесть трансмембранных спиралей с двумя гемами, необходимыми для транспорта электронов к внеклеточному акцептору молекулярного кислорода [23, 24]. Регуляция активности НАДФН-оксидазы происходит с прямым и косвенным участием ионов кальция, фосфатидной кислоты и путем фосфорилирования каталитической субъединицы [25].

НАДФН-оксидаза играет роль в формировании сигнальных АФК, причем не только в ответ на заражение патогенами, но и в реакциях на абиотические стрессоры, в том числе засуху [26]. Показано, что в начальный момент обезвоживания корней проростков пшеницы действием ПЭГ 6000 происходило кратковременное усиление генерации ими супероксидного анион-радикала, которое предотвращалось действием ингибиторов НАДФН-оксидазы [27]. Ранним эффектом действия умеренного обезвоживания было также повышение активности СОД. В более поздний период действия стрессора в корнях проростков повышались активности других антиоксидантных ферментов — аскорбатпероксидазы, гваяколпероксидазы, каталазы. При этом предобработка проростков ингибиторами НАДФН-оксидазы и СОД снимала эффект повышения активности антиоксидантных ферментов и снижала устойчивость проростков к последующему действию жесткого осмотического стресса [27].

Гемовые пероксидазы класса III составляют около половины оксидоредуктаз клеточных стенок [22]. Наряду с антиоксидантной активностью пероксидазы могут проявлять и оксидазную активность, связанную с передачей электронов от восстановителей (например, НАДН) на кислород и образованием АФК [28]. Вполне вероятным представляется их участие в образовании АФК при осмотическом стрессе. Так, показано, что умеренное осмотическое воздействие на корни проростков пшеницы, которое индуцировало последующее развитие их устойчивости к потенциально летальному осмотическому стрессу, вызывало кратковременное повышение активности внеклеточной пероксидазы и содержания пероксида водорода [29]. Обработка проростков ингибитором пероксидазы салицилгидроксамовой кисло-

той снимала эффект повышения активности фермента и частично нивелировала повышение содержания H_2O_2 в корнях. Ингибирование внеклеточной пероксидазы препятствовало также повышению устойчивости проростков к осмотическому стрессу, вызываемому предварительным умеренным его воздействием [29]. Таким образом, есть основания полагать, что пероксидаза наряду с НАДФН-оксидазой может быть источником образования АФК в апопласте, индуцируемым осмотическим стрессом, а также, что АФК, генерируемые двумя этими ферментами, выполняют сигнальные функции и необходимы для активации защитных реакций на осмотический стресс.

Функционирование компонентов антиоксидантной защиты при засухе. Универсальной и общепринятой классификации антиоксидантов до сих пор не существует. Имеется множество попыток систематизации компонентов АОС по различным признакам: молекулярной массе; механизму действия, в том числе каталитической активности; гидрофобности и гидрофильности [30]. Согласно классификации, базирующейся одновременно на механизме действия и молекулярной массе, выделяют следующие группы антиоксидантов: 1) ферменты, обезвреживающие АФК (СОД, каталаза, различные пероксидазы); 2) ферменты детоксикации липидов (глутатион-S-трансфераза, фосфолипид-гидропероксид-глутатионпероксидаза и др.); 3) низкомолекулярные антиоксиданты — глутатион, аскорбиновая кислота, фенольные соединения, токоферолы; 4) регенераторы активных форм антиоксидантов (монодегидроаскорбатредуктаза, дегидроаскорбатредуктаза, глутатионредуктаза) [31—34]. В последнее время к антиоксидантам относят некоторые соединения, для которых антиоксидантная функция не является основной, но обладающие явно выраженными антиоксидантными свойствами и накапливающиеся в ответ на действие стресс-факторов, в том числе засухи, в больших количествах, в первую очередь пролин и некоторые полиолы [7, 33].

Ферментативные антиоксиданты катализируют преимущественно детоксикацию супероксида и пероксидов. Общие сведения о ферментативных антиоксидантах приведены в табл. 1.

Супероксиддисмутаза (СОД, КФ 1.15.1.11) является ключевым ферментом антиоксидантной защиты и выполняет роль первичного рубежа против АФК [35]. Такую функцию СОД связывают с тем, что, элиминируя супероксидные радикалы, этот фермент опосредованно уменьшает вероятность образования гидроксильных радикалов, синглетного кислорода, пероксинитрита и других АФК, которые в силу высокой реакционной способности не могут быть удалены белковыми катализаторами [36, 37].

СОД катализирует реакцию диспропорционирования супероксидных анион-радикалов до молекулярного кислорода и пероксида водорода. Она представлена значительным количеством молекулярных форм. В их активных центрах могут быть такие металлы, как Cu, Zn, Mn, Fe.

Cu/Zn-СОД (M_r 30—33 кД) является наиболее распространенной формой СОД в клетках растений. Она локализована в разных компартментах — хлоропластах, митохондриях, пероксисомах и апопласте [35—37]. Значительное количество Cu/Zn-СОД выявлено в

ТАБЛИЦА 1. Основные антиоксидантные ферменты высших растений

Фермент	Код фермента	Катализируемая реакция	Субклеточная локализация
Супероксиддисмутаза (СОД)	1.15.1.1	$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$	Cu/Zn-СОД – цитозоль, хлоропласты, митохондрии, пероксисомы, апопласт; Mn-СОД – митохондрии, пероксисомы; Fe-СОД – хлоропласты
Каталаза	1.11.1.6	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$	Пероксисомы, гликоксисомы, митохондрии
Аскорбатпероксидаза	1.11.1.11	$H_2O_2 + 2HOAscOH \rightarrow 2HOAscO + 2H_2O$	Хлоропласты, цитозоль, митохондрии, пероксисомы, апопласт
Монодегидроаскорбатредуктазы	1.6.5.4	$HOAscO + NAD(P)H \rightarrow HOAscOH + NAD(P)^+$	Хлоропласты, цитозоль
Дегидроаскорбатредуктаза	1.8.5.1	$OAscO + 2GSH \rightarrow HOAscOH + GSSG$	Цитозоль
Пероксидазы класса III	1.11.1.7	$H_2O_2 + AH_2 \rightarrow 2H_2O + A$	Цитозоль, вакуоли, митохондрии, хлоропласты, апопласт
Глутатионпероксидаза	1.11.1.9	$2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O;$ $2GSH + ROOH \rightarrow GSSG + H_2O + ROH$	Цитоплазма, хлоропласты, митохондрии, пероксисомы, клеточные стенки
Глутатион-S-трансфераза	2.5.1.18	$2GSH + ROOH \rightarrow ROH + GSSG + H_2O;$ $R + GSH \rightarrow HRSG;$ $RX + GSH \rightarrow RSG + HX$	Хлоропласты, митохондрии, пероксисомы
Глутатионредуктаза	1.6.4.2	$GSSG + NAD(P)H \rightarrow 2GSH + NAD(P)^+$	Хлоропласты, пероксисомы, митохондрии, цитозоль

Примечание. GSH, GSSG – восстановленная и окисленная формы глутатиона; HOAscOH – аскорбиновая кислота; HOAscO[•], OAscO – монодегидроаскорбат и дегидроаскорбат; AH₂, A – восстановленная и окисленная формы фенольных соединений.
Использованы данные источников [30–33].

цитозоле. Цитозольная форма фермента обнаружена на тонопласте или возле него, а также в самом ядре [35]. Предполагается, что в ядро СОД попадает через ядерные поры и защищает ДНК-филаменты от окислительных повреждений.

Mn-СОД (M_r 75—94 кД) содержится в матриксе митохондрий [37] и пероксисомах [38]. Отмечена значительная гомология аминокислотных последовательностей фермента в митохондриях с таковой в пероксисомах [38].

Fe-СОД (M_r 36—48 кД) локализована в клетках растений преимущественно в хлоропластах как в строме, так и на мембранах тилакоидов [35].

Во многих работах предпринимались попытки проанализировать связь между общей активностью СОД или активностью ее отдельных форм и засухоустойчивостью. В большинстве исследований отмечена положительная связь между активностью фермента в условиях стресса и устойчивостью растений. Показано, что у засухоустойчивых сортов риса в отличие от неустойчивых в ответ на стресс повышалась активность СОД [39, 40]. При сильном обезвоживании у засухоустойчивого сорта пшеницы активность СОД вдвое превышала контрольные значения, в то время как у неустойчивого была в 2 раза ниже, чем в контроле [41]. В фазе молочно-восковой спелости у интенсивного сорта пшеницы Фаворитка активность СОД в хлоропластах оставалась стабильной и значительно превышала таковую у сорта «старой» селекции Мироновская 808, что предотвращало старение листьев и способствовало сохранению достаточно высокой интенсивности фотосинтеза [42]. Повышенная активность СОД была характерна и для засухоустойчивых гибридов кукурузы [43]. У засухоустойчивого сорта сорго эффект фотоингибирования, вызываемый водным дефицитом, проявлялся в меньшей мере, чем у неустойчивого [39]. Этот феномен авторы связывают с меньшим накоплением АФК у засухоустойчивого сорта, обусловленным большей активностью СОД и других антиоксидантных ферментов в хлоропластах. Для засухоустойчивого сорта индийской горчицы также была характерной высокая активность СОД [44]. У засухоустойчивого сорта мандарина экспрессия генов и активность разных форм СОД при сочетанном действии засухи и теплового шока сохранялась на более высоком уровне по сравнению с таковой у чувствительного [45]. Положительная связь между засухоустойчивостью и активностью СОД также показана на примере сортов вигны [46], люцерны [47], винограда [48] и многих других видов.

Каталаза (КФ 1.11.1.6) представляет собой гемосодержащий фермент с M_r около 250 кД, катализирующий разложение H_2O_2 на воду и молекулярный кислород. Каталаза локализована преимущественно в пероксисомах и глиоксисомах, ее специфическая форма выявлена также в митохондриях (см. табл. 1) [49, 50].

У животных обнаружена только одна изоформа каталазы, кодируемая одним геном. В то же время в растениях содержатся различные изоформы фермента, кодируемые генным семейством. Так, в матриксе пероксисом арабидопсиса обнаружены три молекулярные формы каталазы, которые по-разному экспрессируются на разных стадиях развития [51].

Считается, что каталаза в отличие от пероксидаз эффективно действует при высоких концентрациях H_2O_2 . При этом одна молекула каталазы за 1 минуту может превратить около 6 млн молекул H_2O_2 в H_2O и O_2 [52]. Связь между засухоустойчивостью растений и активностью каталазы не является очевидной. Так, сорта томата, устойчивые к осмотическому стрессу, отличались низкой активностью каталазы, при этом в стрессовых условиях они накапливали пероксида водорода меньше, чем чувствительные [53]. Высокая активность каталазы при засухе была характерной для неустойчивого сорта люцерны [47]. В то же время у засухоустойчивых сортов риса в пероксисомах активность каталазы была выше, чем у неустойчивых [54]. У засухоустойчивого сорта пшеницы в течение 12-суточной почвенной засухи активность каталазы заметно повышалась относительно контроля, а у неустойчивого снижалась на 20–70 % [41]. Повышенная активность фермента при засухе зафиксирована у растений кукурузы [43], индийской горчицы [44], винограда [48], вигны [46].

Аскорбатпероксидаза (КФ 1.11.1.7) обезвреживает H_2O_2 с участием аскорбиновой кислоты. Она является гемосодержащим ферментом [55]. Аскорбатпероксидаза локализована преимущественно в хлоропластах, однако содержится также в цитоплазме, митохондриях, пероксисомах и апопласте (см. табл. 1) [12]. Хлоропластные формы фермента локализованы в строме, тилакоидном люмене и тилакоидах [5]. В зависимости от вида растения формы аскорбатпероксидазы могут кодироваться либо одним геном (табак — *Nicotiana tabacum*) со следующим альтернативным сплайсингом продукта, либо несколькими генами, как у арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*), риса (*Oryza sativa*) и томата (*Solanum lycopersicum*) с дифференциальной регуляцией [56].

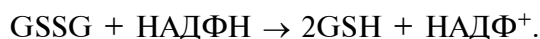
Предполагается, что тилакоидная форма фермента вносит больший вклад в засухоустойчивость по сравнению со стромальной [5]. Так, у растений пшеницы в условиях засухи количество транскриптов тилакоидной аскорбатпероксидазы у засухоустойчивого генотипа увеличилось более существенно по сравнению с чувствительным [57].

Связь между активностью аскорбатпероксидазы и засухоустойчивостью растений показана не только для хлоропластных форм фермента. Например, мутанты риса, нокаутные по цитозольной аскорбатпероксидазе, отличались большей чувствительностью к засухе, засолению и холоду [58]. В адаптации риса к засухе задействована и форма аскорбатпероксидазы, локализованная в пероксисомах. Так, в условиях засухи активность фермента в этих органеллах была выше у засухоустойчивого сорта [54]. В целом роль разных форм аскорбатпероксидазы в адаптации растений к засухе не вызывает сомнений и показана на примере представителей различных таксономических групп: кукурузы [43], сорго [59], томата [53], горчицы [44].

Пероксидазы класса III, или так называемые классические (неспецифические), относятся к мультифункциональным ферментам [60]. Они являются гемосодержащими гликопротеинами. Пероксидазы класса III кодируются большим количеством генов, которое составляет как минимум 73 у *Arabidopsis thaliana* и 138 генов у *Oryza sativa* [60]. Они обезвреживают пероксид водорода, используя для этого различные восстановители (чаще фенольные соединения).

Наряду с антиоксидантной функцией пероксидазная система участвует в обеспечении протекания многих других реакций, в которых пероксид водорода используется как окислитель. Пероксидазы также могут проявлять оксидазную активность с передачей электронов от восстановителей (например, НАДН) на молекулярный кислород, при этом образуются супероксид и пероксид водорода. Как уже отмечалось, большее количество супероксида и, как следствие, H_2O_2 , может генерировать пероксидаза клеточных стенок. В то же время для растворимых пероксидаз класса III более характерны антиоксидантные функции [61]. Такие формы пероксидазы локализируются преимущественно в цитоплазме и вакуолях (см. табл. 1). Показано вовлечение растворимых пероксидаз в антиоксидантную защиту при засухе у растений риса [40], кукурузы [43], горчицы [44], вигны [46], винограда [48], цитрусовых [62]. Вместе с тем, засухоустойчивый сорт люцерны в стрессовых условиях проявлял меньшую активность пероксидазы по сравнению с неустойчивым [47].

Глутатионредуктаза (КФ 1.6.4.2) — флавопротеиновая оксидоредуктаза, характерная как для прокариот, так и для эукариот [63]. Этот фермент является ключевым компонентом аскорбат-глутатионового цикла и обеспечивает поддержание пула восстановленного глутатиона за счет использования в качестве восстановителя НАДФН [30]:



Цикл включает взаимосвязанные окислительно-восстановительные реакции с участием аскорбата, глутатиона и НАДФН [5]. Аскорбатпероксидаза обезвреживает пероксид, окисляя аскорбат до монодегидроаскорбата. Последний может восстанавливаться монодегидроаскорбатредуктазой за счет НАДФН. Другой путь заключается в окислении монодегидроаскорбата до дегидроаскорбата. Для его восстановления дегидроаскорбатредуктазой используется GSH. В свою очередь окисленный глутатион восстанавливается глутатионредуктазой с использованием НАДФН [30]. Глутатионредуктаза локализована преимущественно в хлоропластах, хотя выявлена также в пероксисомах, митохондриях и цитозоле (см. табл. 1).

Глутатионредуктазы кодируются небольшим семейством генов, различные гены, кодирующие их, описаны из разных геномов растений (например, по два для *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum* и *Pisum sativum*, по три для *Oryza sativa* и *Populus trichocarpa*) [5].

Связь между засухоустойчивостью растений и активностью глутатионредуктазы изучалась в основном в контексте вовлечения этого фермента в функционирование аскорбат-глутатионового цикла и его функциональных связей с другими ферментами. Так, у ксерофита *Capparis ovata* в ответ на обезвоживание зафиксировано трехкратное увеличение активности как глутатионредуктазы, так и аскорбатпероксидазы [64].

Глутатион-S-трансфераза (КФ 2.5.1.18) выполняет антиоксидантные функции, обезвреживая гидрофобные продукты перексидного окисления липидов путем их восстановления, присоединения молекулы восстановленного глутатиона или нуклеофильного замещения гидрофобных групп (см. табл. 1).

Глутатион-S-трансфераза сосредоточена в хлоропластах, митохондриях и пероксисомах [65, 66]. Глутатион-S-трансферазная активность выявлена также в вакуолях [32].

Экспрессия гена глутатион-S-трансферазы *Prosopis juliflora* (*PjGST*) в растениях риса и табака существенно повышала их засухоустойчивость [67]. К такому же эффекту приводила трансформация растений табака геном *PpGST* из плодов груши [68].

В целом в настоящее время не вызывает сомнения, что аскорбат-глутатионовый цикл представляет собой центральный антиоксидантный механизм в растениях, ответственный за детоксикацию H_2O_2 , а опосредованно и гидрофобных пероксидов. Сохранение благоприятного окислительно-восстановительного статуса основных водорастворимых окислительно-восстановительных пар — 2GSH/GSSG и аскорбат/дегидроаскорбат, обеспечиваемых глутатионредуктазой, монодегидроаскорбатредуктазой и дегидроаскорбатредуктазой, имеет решающее значение для стратегии выживания в условиях водного стресса [5]. Вклад аскорбата, глутатиона и других низкомолекулярных антиоксидантов в формирование засухоустойчивости растений рассмотрен ниже.

Классические низкомолекулярные антиоксиданты. Традиционно основными низкомолекулярными антиоксидантами считаются водорастворимые соединения — глутатион, аскорбиновая кислота, некоторые фенольные вещества, а также группа липофильных антиоксидантов, в которую входят токоферолы и каротиноиды (табл. 2).

Аскорбат является мощным антиоксидантом, что связано с функционированием одноэлектронных циклических переходов между гидро- и дегидроаскорбатными формами. Восстановленная форма аскорбата способна непосредственно взаимодействовать с АФК, а также участвовать в восстановлении других низкомолекулярных антиоксидантов (α -токоферола, глутатиона) в ферментативных и нефер-

ТАБЛИЦА 2. Основные низкомолекулярные антиоксиданты растений

Антиоксидант	Функция	Субклеточная локализация
Аскорбиновая кислота	Детоксикация H_2O_2 непосредственно и с участием аскорбатпероксидазы	Цитозоль, хлоропласты, митохондрии, пероксисомы, вакуоли, апопласт
Восстановленный глутатион (GSH)	Дополнительный субстрат глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы	Цитозоль, хлоропласты, митохондрии, пероксисомы, вакуоли, апопласт
Флавоноиды	Непосредственные скавенджеры H_2O_2 , 1O_2 и OH^\bullet	Вакуоли
Пролин	Скавенджер OH^\bullet	Митохондрии, цитозоль, хлоропласты
Растворимые углеводы	Скавенджеры OH^\bullet и 1O_2	Цитозоль и другие клеточные компартменты
α -Токоферол	Обезвреживание АФК и липидных пероксидов	Преимущественно мембраны
Каротиноиды	Гашение избыточной энергии фотосистем	Хлоропласты и незеленые пластиды

Примечание. Использованы данные источников [32–34].

ментативных реакциях [30]. У растений аскорбат является самым распространенным низкомолекулярным антиоксидантом.

В ходе эволюции растительного мира происходило постепенное увеличение содержания в их тканях аскорбиновой кислоты. Так, у цианобактерий оно составляет ничтожное количество, у мхов и печеночников — 0,1–0,5, у водорослей — около 0,5, у высших растений (*Arabidopsis thaliana*) — 5 мкмоль/г сырого вещества [69].

Аскорбиновая кислота обладает способностью взаимодействовать с радикальными АФК, синглетным кислородом и пероксидом водорода. Константа взаимодействия аскорбата с $O_2^{\cdot-}$ составляет $2,7 \cdot 10^5$, а с HO^{\cdot} — $7,2 \cdot 10^9 / (M \cdot c)$ [70]. Отрыв одного электрона от молекулы аскорбиновой кислоты приводит к образованию семидегидроаскорбата (радикал аскорбата), который при дальнейшем окислении с отрывом второго электрона переходит в дегидроаскорбат.

Защитный эффект аскорбиновой кислоты основан на том, что образующиеся при ее окислении промежуточные радикалы и молекулы химически менее активны по сравнению с радикалами АФК [70]. Восстановленная форма аскорбата способна не только непосредственно взаимодействовать с АФК, но и участвовать в восстановлении других низкомолекулярных антиоксидантов (α -токоферола, глутатиона) в ферментативных и неферментативных реакциях [30].

Синтез аскорбиновой кислоты у растений связан с превращениями L-галактозы [12]. Ключевая особенность синтеза аскорбата у растений — локализация последнего фермента его образования (дегидрогеназы галактонолактона) в митохондриях. Этот энзим связан с митохондриальным комплексом I и функционально с комплексами III и IV [71]. Таким образом, синтез аскорбата у растений зависит от активности дыхательной электронтранспортной цепи [71].

Аскорбат самостоятельно, а чаще в реакциях, катализируемых аскорбатпероксидазой, используется для обезвреживания пероксида водорода в митохондриях, а также в пероксисомах, цитоплазме и вакуоле [5]. Однако особую роль аскорбат играет в антиоксидантной защите хлоропластов, в которые он переносится из цитозоля с помощью транспортера АtrPT4:4 [72]. В этих органеллах локализовано 30–40 % общего аскорбата, его концентрация в строме составляет около 50 мМ [73].

Повышенное содержание аскорбата в клетках и его сохранение при действии стресс-факторов рассматривается как один из показателей устойчивости растений. Так, показано, что засухоустойчивый гибрид кукурузы отличался более высоким содержанием аскорбата в стрессовых условиях по сравнению с неустойчивым [43]. При сравнении содержания аскорбата у засухоустойчивого и чувствительного сортов пшеницы (*Triticum aestivum*) было установлено, что в корнях и листьях количество аскорбата значительно снижалось в ответ на водный дефицит, однако у устойчивых растений оно было примерно в 2 раза выше, чем у чувствительных [74]. В этом же эксперименте активность различных антиоксидантных ферментов положительно коррелировала с содержанием аскорбата и отрицательно — с количеством пероксида водорода в тканях.

По-видимому, для поддержания редокс-гомеостаза при стрессах важно не столько абсолютное содержание аскорбата, сколько свое-

временное его восстановление с помощью глутатиона. В работе [75] на обработанных полиэтиленгликолем растениях томата показано увеличение активности СОД, аскорбатпероксидазы, монодегидроаскорбатредуктазы, дегидроаскорбатредуктазы и глутатионредуктазы до третьих суток стрессового воздействия. При длительном стрессе (12 сут) активность этих ферментов снижалась. Предполагается, что у чувствительных к засухе растений антиоксидантная система хлоропластов в основном зависит от количества аскорбата, используемого для обезвреживания пероксида водорода с последующим снижением содержания монодегидроаскорбата с помощью монодегидроаскорбатредуктазы и без участия GSH-зависимого восстановления дегидроаскорбата. Однако этот механизм неэффективен при длительной засухе и приводит к постепенному снижению фотосинтетической способности [5]. В то же время двойные трансформанты табака, сверхэкспрессирующие глутатионредуктазу и дегидроаскорбатредуктазу, отличались более стабильным содержанием аскорбата и повышенной устойчивостью к абиотическим стрессам [76].

Несмотря на высокое эндогенное содержание аскорбата, экзогенная обработка растений аскорбиновой кислотой или ее предшественниками может положительно влиять на окислительно-восстановительный гомеостаз при стрессе. Так, у растений пшеницы при обработке аскорбиновой кислотой, предшествовавшей засухе, увеличивалось эндогенное содержание не только аскорбата, но и пролина и фенольных антиоксидантов [77]. Экзогенная аскорбиновая кислота при различных способах обработки (замачивание семян, внесение в среду инкубации корней, опрыскивание растений) повышала засухоустойчивость риса [78]. Под влиянием аскорбиновой кислоты у растений пшеницы в условиях засухи увеличивалась интенсивность транспирации [79]. Обработка аскорбиновой кислотой семян гибискуса (*Hibiscus esculentus*) перед проращиванием в условиях дефицита воды сокращала время, необходимое для прорастания в условиях стресса, и усиливала дальнейший рост растений [80].

Применение экзогенного предшественника аскорбиновой кислоты *L*-галактоно-1,4-лактона увеличивало пул аскорбиновой кислоты у растений пшеницы и также повышало их засухоустойчивость [69].

Глутатион — трипептид (*L*- γ -глутамил-*L*-цистеинилглицин, M_r 307 Д), молекула которого при физиологических значениях рН имеет две отрицательно заряженные карбоксильные группы и положительно заряженную аминогруппу.

Глутатион у высших растений синтезируется при последовательном действии γ -глутамилцистеинсинтетазы и глутатионсинтетазы [81]. На начальном этапе синтеза происходит АТФ-зависимое образование дипептида γ -глутамилцистеина из глутамин и цистеина с участием γ -глутамилцистеинсинтетазы. Имеются сведения, что 60—70 % пула этого фермента локализовано в хлоропластах. На втором этапе биосинтеза глицин под действием глутатионсинтетазы, также локализованной преимущественно в хлоропластах, присоединяется к С-терминальному участку γ -глутамилцистеина с образованием глутатиона. Для этой реакции также необходим гидролиз макроэргической связи АТФ.

Хлоропласты рассматриваются как основные органеллы не только синтеза глутатиона, но и его локализации в растительных клетках. В то же время глутатион может быть также синтезирован и локализован в цитоплазме [82]. Глутатион в довольно высоких концентрациях обнаружен и в митохондриях, хотя возможность его синтеза в этих органеллах пока не доказана [12]. Кроме того, наличие глутатиона и ферментов его превращения показано в пероксисомах [83].

Дегградация глутатиона у растений может проходить несколькими путями с участием γ -глутамилтранспептидазы, глутатионкарбоксипептидазы и других пептидаз [81]. Такие реакции происходят преимущественно в вакуолях [12] и предположительно в апопласте [82].

Защитное действие глутатиона сопровождается окислением его сульфгидрильной группы и превращением в дисульфид глутатиона (GSSG). Считается, что детоксикация H_2O_2 с участием глутатиона может происходить двумя путями. Первый состоит в восстановлении H_2O_2 глутатионом в реакции, катализируемой глутатионпероксидазой. Второй путь восстановления пероксида водорода связан с окислением аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбата под действием аскорбатпероксидазы. Образовавшийся дегидроаскорбат может восстанавливаться до аскорбиновой кислоты за счет ферментативного и неферментативного окисления глутатиона [12]. Глутатион также используется при обезвреживании пероксидов липидов глутатион-S-трансферазой. Высокие соотношения GSH/GSSG и активность ферментов, связанных с метаболизмом глутатиона, входят в число маркеров устойчивости растений к стрессорам, в том числе к засухе [84].

Вклад аскорбата и глутатиона в устойчивость пшеницы к засухе изучался в полевых и лабораторных экспериментах [85]. В полевых условиях корреляции между засухоустойчивостью и содержанием этих антиоксидантов выявить не удалось. В то же время в факторостатных условиях у устойчивых сортов отмечались высокие содержание аскорбата и глутатиона и менее заметные окислительные повреждения по сравнению с чувствительными сортами. Защитное действие экзогенных аскорбата и глутатиона на растения, обработанные паракватом и полиэтиленгликолем, было значительно более заметным при использовании одновременно двух антиоксидантов по сравнению с эффектами каждого по отдельности, что соответствует представлениям об их функциональных связях в аскорбат-глутатионовом цикле [86].

Флавоноиды являются полифенольными соединениями растительного происхождения. Разнообразие флавоноидов огромно и составляет около 8000 соединений [87]. Известно, что до 20 % фиксируемого при фотосинтезе углерода используется на образование полифенолов, среди которых значительное место занимают флавоноиды [88, 89].

Флавоноиды являются продуктами реакций на пересечении фенилпропаноидного и ацетатно-малонатного метаболических путей [90]. Одними из основных компартментов их синтеза являются хлоропласты. Огромное разнообразие флавоноидов достигается с помощью согласованного эффекта свыше 20 ферментов, которые, действуя поочередно, сначала синтезируют халконы, а затем дают начало

различным классам и представителям внутри каждого класса. Схемы их синтеза хорошо описаны в обзорах [89, 91].

Все флавоноиды в той или иной степени участвуют в антиоксидантной защите клеток. В соответствии с общепринятой точкой зрения антиоксидантные свойства флавоноидов объясняются их способностью служить ловушками для свободных радикалов, а также хелатировать ионы металлов, участвующих в радикальных процессах [92].

Полифенольные соединения способны взаимодействовать с гидроксильным (LO^{\bullet}) и пероксильным (LOO^{\bullet}) радикалами липидов благодаря их способности отдавать электрон (или атом водорода). В результате образуются радикалы фенолов — феноксила, которые не участвуют в распространении окислительного процесса.

В сравнительных экспериментах получены данные об очень высокой антиоксидантной активности флавоноидов, во многом превосходящей активность других антиоксидантов. Так, показано, что эффективность взаимодействия флавоноидов с АФК и активными формами азота в 4 раза выше, чем у аскорбиновой кислоты и α -токоферола [93].

Флавоноиды накапливаются в основном в вакуолях, в связи с чем в литературе дискутируется вопрос о том, насколько велик их вклад в работу антиоксидантной системы растительных клеток. В то же время флавоноидные соединения выявлены и в других компартментах, в том числе в хлоропластах и ядре [93]. Установлено, что и флавоноиды, локализованные в вакуоле, могут участвовать в детоксикации пероксида водорода, который способен транспортироваться в этот компартмент [94].

Изменение содержания флавоноидов в растениях зарегистрировано при действии стрессоров различной природы [94—97]. Зафиксировано повышение содержания флавоноидных соединений и при умеренном обезвоживании растительных тканей. Так, под влиянием обработки полиэтиленгликолем у растений томатов отмечалось накопление антоцианов [97]. У растений пшеницы в ответ на действие засухи усиливалась экспрессия ряда генов синтеза флавоноидов [98]. При этом в листьях увеличивалось общее содержание фенольных соединений, общее количество флавоноидов и особенно заметно — содержание антоцианов. В то же время при действии сильного осмотического стресса на проростки пшеницы отмечалось снижение содержания антоцианов, что может быть обусловлено их окислительной деградацией [99].

У растений арабидопсиса в корнях и побегах были обнаружены в значительных количествах кверцетин и кемпферол [100]. Их количество повышалось при сильном водном стрессе. Содержание флавоноидных соединений было больше в корнях, чем в побегах. Авторы полагают, что флавоноидные реакции арабидопсиса на стресс являются динамическими, а интенсивность и продолжительность водного стресса может играть ключевую роль в определении типа, количества и локализации флавоноидов.

У растений табака, трансформированных геном лекарственного растения *Scutellaria baicalensis* Georgi *SbMYB8*, который участвует в метаболизме флавоноидов, повышалось содержание кофейной кислоты [101]. При этом избыточная экспрессия *SbMYB8* вызывала повышение засухоустойчивости трансгенных растений.

В целом флавоноиды выполняют разнообразные физиологические функции, многие из которых, по-видимому, прямо или косвенно связаны с их антиоксидантными эффектами. При этом их можно рассматривать в качестве полифункциональных протекторов растительных клеток, поскольку помимо антиоксидантной функции они могут играть роль осмопротекторов, связывать тяжелые металлы, защищать от избыточного освещения и, возможно, участвовать в передаче клеточных сигналов [93].

Вклад пролина и других осмолитов в антиоксидантную защиту при засухе. Участие пролина в адаптации растений к засухе как осморегулятора общеизвестно. Его накопление приводит к увеличению клеточной осмоларности, что вызывает приток воды в клетки или снижает ее отток, обеспечивая при этом водный потенциал, необходимый для поддержания тургора в условиях недостатка воды [102].

В последние десятилетия много внимания уделяется антиоксидантным эффектам пролина (см. табл. 2). Его структурные особенности дают основания рассматривать возможность прямой инактивации радикальных форм кислорода. Предполагалось, что свободный пролин, а также его концевые группы в составе полипептидов могут прямо реагировать с пероксидом водорода и синглетным кислородом с образованием стабильных свободных радикалов — аддуктов производных пролина и гидроксипролина [7]. Однако в настоящее время показано, что пролин не способен инактивировать $^1\text{O}_2$ в водной среде, что приводит к пересмотру предположения о возможной роли пролина в защите клеток растений от синглетного кислорода в стрессовых условиях [103]. В то же время прямая реакция между пероксидом водорода и пролином возможна только при довольно высоких концентрациях последнего [104], что ставит под сомнение значение пролина и для детоксикации H_2O_2 в клетках растений.

Однако пролин может иметь большое значение в инактивации гидроксильного радикала. В работе [105] предложена модель, объясняющая механизм процесса. Согласно этой модели, молекула пролина поочередно связывает два гидроксильных радикала, превращаясь в Δ -пирролин-5-карбоновую кислоту, которая с участием НАДФН и Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатредуктазы восстанавливается до пролина. В связи с невозможностью обезвреживания гидроксильного радикала ферментативными антиоксидантами и достаточно высоким содержанием пролина в различных компартментах, такой механизм может иметь большое значение для защиты от свободнорадикальных повреждений.

Как отдельный аспект антиоксидантного действия пролина рассматривается его способность связывать ионы металлов с переменной валентностью и тем самым ограничивать неферментативные свободнорадикальные процессы [7].

Значительный пул пролина локализован в цитоплазме [106], что может быть важным для защиты антиоксидантных ферментов, в отношении которых он может проявлять шаперонное действие, защищая от разнообразных повреждающих (денатурирующих) воздействий [107—109]. Таким механизмом может объясняться косвенное антиоксидантное действие пролина в стрессовых условиях, проявляющееся в системе *in vivo*.

В последние годы появились сведения о влиянии пролина на экспрессию генов антиоксидантных ферментов. Такие его эффекты могут быть отрицательными. Так, добавление экзогенного пролина в питательную среду на фоне УФ-В облучения сопровождалось снижением количества транскриптов генов CSD и MSD у растений шалфея, а также ингибированием стимулирующего влияния ультрафиолета на активность Cu/Zn-СОД [110]. У трансформированных гибридов грейпфрута и понцируса, дефектных по активности Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатсинтетазы, отмечалась усиленная экспрессия генов разных форм аскорбатпероксидазы, Fe-СОД, Mn-СОД и хлоропластной глутатионредуктазы в физиологически нормальных условиях и при водном стрессе [9]. Предполагается, что в данном случае пролин действует как отрицательный регулятор экспрессии генов антиоксидантных ферментов и уменьшение его количества приводит к активации их экспрессии.

В то же время на культивируемых клетках галофита *Thellungiella salsuginea* показано повышение активности СОД и аскорбатпероксидазы под влиянием 2 или 5 мМ пролина [111], что авторы связывают с прооксидантным действием пролина, обусловленным активацией под его влиянием пролиндегидрогеназы и усилением образования АФК в электронтранспортной цепи митохондрий.

Образование пролина в хлоропластах может быть одним из механизмов поддержания редокс-гомеостаза в стрессовых условиях. Поскольку при синтезе пролина расходуется НАДФН, его усиление обеспечивает низкое соотношение НАДФН/НАДФ⁺ и тем самым поддерживает поток электронов в фотосинтетической цепи, уменьшая фотоингибирование [103]. Показано, что ингибирование биосинтеза пролина трансформацией антисмыслового гена Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатредуктазы и конверсии НАДФН вызывает у растений гиперчувствительность к засухе [112]. В то же время трансформация растений кукурузы супрессором гена пролиндегидрогеназы приводила к 3–4-кратному повышению содержания пролина и устойчивости к обезвоживанию [113].

В целом в настоящее время считается, что пролин обладает способностью оказывать сложное влияние на процессы, связанные с редокс-гомеостазом и редокс-регуляцией у растений. Механизмы таких его эффектов пока ясны далеко не полностью. Не исключено, что пролин наряду с такими классическими антиоксидантами, как глутатион и аскорбиновая кислота, является одним из компонентов системы клеточной редокс-сигнализации и редокс-регуляции [114].

Во многих работах показано, что накопление пролина, а также экзогенная обработка растений этой аминокислотой может смягчать пагубные последствия окислительного стресса, вызванного засухой [103, 115, 116]. Так, предпосевная обработка семян пшеницы пролином усиливала рост растений в условиях засухи и повышала урожай зерна [117]. Повышение эндогенного содержания пролина в органах растений также ассоциируют с развитием устойчивости к недостатку влаги. Например, накопление пролина в корнях сои рассматривается как механизм адаптации корневой системы к засухе [118].

Многие авторы пытались зафиксировать связь между содержанием пролина и засухоустойчивостью генотипов растений. Однако результаты таких исследований неоднозначны. У засухоустойчивого гибрида кукурузы содержание пролина в листьях было выше, чем у неустойчивого [43]. Засухоустойчивые сорта риса также отличались большим содержанием пролина [40]. В то же время более засухоустойчивый сорт мандарина при засухе накапливал меньше пролина, чем неустойчивый [45]. Не исключено, что накопление пролина заметно активизируется на определенной стадии стрессовой реакции и при определенной силе стрессового воздействия. Возможно, что при умеренных стрессах накопление пролина как адаптивная реакция включается у неустойчивых генотипов, а при сильных стрессовых воздействиях его накопление более заметно у устойчивых растений.

Кроме пролина определенный вклад в антиоксидантную защиту могут вносить другие осмолиты, в частности полиолы. Показано, что помимо поглощения радикальных АФК они способны оказывать шаперонное действие на белки [119]. Среди полиолов особенно важным считается маннит.

Устойчивость растений перца к засухе повышалась при обработке миоинозитолом [120]. Такой прием, однако, вызывал снижение накопления пролина. Авторы полагают, что миоинозитол действовал как осмопротектор, повышая содержание связанной воды и способствуя поддержанию тургорного состояния листьев. В то же время все упомянутые соединения в той или иной степени обладают антиоксидантными свойствами, что может иметь большое значение для предотвращения вызываемых засухой окислительных повреждений.

Заключение. В целом система антиоксидантной защиты имеет чрезвычайно важное значение для устойчивости растений к засухе. В последние десятилетия накоплен большой объем феноменологических сведений о значении компонентов АОС для засухоустойчивости отдельных видов и таксономических групп растений. Практический интерес представляет использование показателей функционирования АОС как маркеров устойчивости растений, в том числе при оценке селекционного материала. Как отмечалось выше, в ряде работ показана достаточно четкая связь между показателями АОС и засухоустойчивостью растений разных генотипов. В первую очередь это касается активности СОД, аскорбатпероксидазы и содержания пролина [41, 74, 103]. Однако, как правило, такие связи удается установить на фоне действия стрессоров, причем в факторостатных экспериментальных условиях. Более того, стала общепризнанной точка зрения о том, что отдельные показатели активности антиоксидантных ферментов или содержания неферментативных антиоксидантов не могут быть критериями устойчивости растений к тем или иным стрессорам [30]. Неоднозначность связей между содержанием или активностью определенных антиоксидантов и устойчивостью генотипов растений к стрессорам, по-видимому, в значительной степени может быть обусловлена сложным функциональным взаимодействием различных компонентов АОС. Так, между накоплением пролина и активностью СОД могут быть реципрокные отношения [34]. Трансформанты арабидопсиса со сверхэкспрессией генов Cu/Zn-СОД в стрессовых усло-

виях накапливали меньше антоцианов по сравнению с растениями дикого типа [121]. У линии арабидопсиса *vtc1*, дефектной по синтезу всех четырех форм токоферолов (α , β , γ и δ), отмечалось повышение содержания других низкомолекулярных антиоксидантов — каротиноидов, антоцианов и глутатиона [122]. При действии солевого и окислительного стрессов у линии *vtc4*, дефектной по синтезу α - и β -токоферолов, происходило более существенное, чем у обычных растений, повышение активности СОД и ферментов аскорбат-глутатионового цикла [123]. Авторы полагают, что функционирование компенсаторных антиоксидантных механизмов помогает растениям, дефектным по биосинтезу токоферолов, адаптироваться к неблагоприятным условиям среды.

Среди подходов к улучшению функционирования АОС и, соответственно, повышению устойчивости растений к действию стрессоров большой интерес представляет трансформация растений генами антиоксидантных ферментов. В некоторых случаях трансформация геном одного антиоксидантного фермента может приводить к повышению активности не только данного фермента, но и других, сопряженных с ним через общие метаболиты. Так, у проростков табака, несущих трансген *GST*, повышалась активность не только глутатион-S-трансферазы, но и аскорбатпероксидазы, и монодегидроаскорбатредуктазы [68].

В контексте регуляции редокс-гомеостаза при осмотических стрессах используется трансформация растений генами ферментов, регулирующих содержание осмолитов с антиоксидантной активностью, в частности пролина [7, 124]. Так, показано повышение содержания пролина и устойчивости растений пшеницы к засухе при трансформации геном Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатсинтазы из *Vigna aconitifolia* [125]. При этом повышенная резистентность трансформантов была обусловлена не столько изменением осмотического потенциала, сколько устойчивостью к вызываемому засухой вторичному окислительному стрессу. Трансформация растений табака геном Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатсинтазы *Vigna aconitifolia* вызывала у них не только повышение содержания пролина и устойчивости к солевому стрессу, но и увеличение активности аскорбатпероксидазы и каталазы [126]. Этот эффект авторы связывают с защитой пролином самих антиоксидантных белков от денатурации.

Наиболее широкое практическое применение для повышения засухоустойчивости находит праймирование растений разнообразными индукторами АОС. Обработка растительных объектов экзогенными сигнальными посредниками или их донорами (АФК, Ca^{2+} , NO, H_2S), как правило, индуцирует сигнальную сеть и формирование сигнала, активирующего многие протекторные системы, в том числе антиоксидантную. Примеры таких эффектов обсуждены в нашем недавнем обзоре [127]. Такой же эффект может быть достигнут с использованием для обработки растений стрессовых гормонов (салициловой кислоты, брассиностероидов, жасмонатов и пр.). В последние годы накапливаются сведения об индуцировании АОС стрессовыми метаболитами и низкомолекулярными белками, в частности, полиаминами [128, 129] и лектинами [130]. В последнем случае индукция АОС бобовых может быть связана с активацией симбиотического аппарата.

Еще один подход к стабилизации окислительно-восстановительного баланса у растений при водном стрессе может заключаться в прямом использовании экзогенных антиоксидантов. Эффекты снижения проявлений окислительного стресса обнаружены при обработке растений пролином [131], сахарами [132], а также синтетическими антиоксидантами, например, митохондриально адресованными катионами децилтрифенилфосфония, реагирующими с АФК [133].

В целом, несмотря на то что состояние АОС растений при действии стрессоров уже не одно десятилетие является предметом интенсивных исследований, многие детали ее функционирования остаются непонятными. Исследования АОС осложняются ее динамичностью. В последние годы стало возможным изучение содержания некоторых сигнальных посредников, в частности АФК, в растительных клетках методами неразрушающего контроля в реальном времени и в определенных компартментах [134]. Однако определение антиоксидантов *in vivo* пока остается весьма проблематичным. Можно надеяться, что прогресс соответствующих методов исследований значительно ускорит изучение физиологической роли антиоксидантов в конкретных клеточных компартментах и их функционального взаимодействия друг с другом. В свою очередь, такие исследования должны открыть новые возможности для контроля над устойчивостью растений к действию стрессовых факторов путем прайминга экзогенными сигнальными молекулами, фитогормонами, а также генно-инженерных манипуляций.

REFERENCES

1. Gerten, D., Schaphoff, S. & Lucht, W. (2007). Potential future changes in water limitations of the terrestrial biosphere. *Climatic Change*, 80 (3-4), pp. 277-299. doi: <https://doi.org/10.1007/s10584-006-9104-8>
2. Chaves, M.M. & Oliveira, M.M. (2004). Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: Prospects for water saving agriculture. *J. Exp. Bot.*, 55, pp. 2365-2384. doi: [10.1093/jxb/erh269](https://doi.org/10.1093/jxb/erh269)
3. Wilkinson, S. & Davies, W. (2010). Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to community. *Plant Cell Environ.*, 33, pp. 510-525. doi: [10.1111/j.1365-3040.2009.02052.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02052.x)
4. Li, X. & Liu, F. (2016). Drought stress memory and drought stress tolerance in plants: biochemical and molecular basis. In Hossain, M., Wani, S., Bhattacharjee, S., Burritt, D., Tran, L.S. (Eds). *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol. 1 (pp. 17-44). Springer, Cham. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4_2
5. Zagorchev, L., Teofanova, D. & Odjakova, M. (2016). Ascorbate-glutathione cycle: Controlling the redox environment for drought tolerance. In Hossain, M., Wani, S., Bhattacharjee, S., Burritt, D., Tran, L.S. (Eds.). *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol. 1. Springer, Cham, pp. 187-226. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4_8
6. Suzuki, N. & Mittler, R. (2006). Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. *Physiol. Plant.*, 126, pp. 45-51. doi: <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2005.00582.x>
7. Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K. & Becker, D.F. (2013). Proline mechanisms of stress survival. *Antioxid. Redox Signal.* 19, pp. 998-1011. doi: [10.1089/ars.2012.5074](https://doi.org/10.1089/ars.2012.5074)
8. Yang, J., Wu, F., Gao, J. & Wang, G. (2014). Polyamine-induced nitric oxide generation and its potential requirement for peroxide in suspension cells of soybean cotyledon node callus. *Plant Physiol. Biochem.*, 79, pp. 41-47. doi: [10.1016/j.plaphy.2014.02.025](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.02.025)
9. Carvalho, K., Campos, M.K., Domingues, D.S., Pereira, L.F. & Vieira, L.G. (2013). The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic Swingle citrumelo. *Mol. Biol. Rep.*, 40, pp. 3269-3279. doi: [10.1007/s11033-012-2402-5](https://doi.org/10.1007/s11033-012-2402-5)

10. Szalai, G., Janda, K., Darky, E., Janda, T., Peeva, V. & P6l, M. (2017). Comparative analysis of polyamine metabolism in wheat and maize plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 112, pp. 239-250. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.01.012>
11. Gautam, V., Kaur, R., Kohli, S.K., Verma, V., Kaur, P., Singh, R., Saini, P., Arora, S., Thukral, A.K., Karpets, Y.V., Kolupaev, Y.E. & Bhardwaj, R. (2017). ROS compartmentalization in plant cells under abiotic stress condition. In: Khan, M.I.R. & Khan, N.A. (Eds.) *Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress* (pp. 89-114). Springer Nature Singapore Pte Ltd. doi: https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5_4
12. Foyer, C.H. & Noctor, G. (2009). Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxid. Redox Signal.*, 11, pp. 861-906. doi: 10.1089/ars.2008.2177
13. Foyer, C.H. & Shigeoka, S. (2011). Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiol.*, 155, pp. 93-100. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.110.166181>
14. Schmitt, F.J., Renger, G., Friedrich, T., Kreslavski, V.D., Zharmukhamedov, S.K., Los, D.A., Kuznetsov, V.V. & Allakhverdiev, S.I. (2014). Reactive oxygen species: re-evaluation of generation, monitoring and role in stress-signaling in phototrophic organisms. *Biochim. Biophys. Acta*, 1837 (6), pp. 835-848. doi: 10.1016/j.bbabi.2014.02.005
15. Trchounian, A., Petrosyan, M. & Sahakyan, N. (2016). Plant cell redox homeostasis and reactive oxygen species. In Gupta, D.K. et al. (Eds.). *Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses* (pp. 25-50). Springer International Publishing Switzerland. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-44081-1_2
16. Kreslavski, V.D., Allakhverdiev, S.I., Los, D.A. & Kuznetsov, V.V. (2012). Signaling role of reactive oxygen species in plants under stress. *Russ. J. Plant Physiol.*, 59, pp. 141-154. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443712020057>
17. Stasik, O.O. & Jones, H.G. (2011). The role of photorespiration in response of photosynthesis to temperature increase in wheat leaves. *Fiziol. Biochim. Kult. Rast.*, 43 (1), pp. 38-46 [in Ukrainian].
18. Cruz, M. & de Carvalho, H. (2008). Drought stress and reactive oxygen species production, scavenging and signalling. *Plant Signal Behav.*, 3(3), pp. 156-165.
19. Cvetkovska, M. & Vanlerberghe, G.C. (2013). Alternative oxidase impacts the plant response to biotic stress by influencing the mitochondrial generation of reactive oxygen species. *Plant Cell Environ.*, 36, pp. 721-732. doi: 10.1111/pce.12009
20. Rhoads, D.M., Umbach, A.L., Subbaiah, C.C. & Siedow, J.N. (2006). Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling. *Plant Physiol.*, 141, pp. 357-366. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.106.079129>
21. Bartoli, C.G., Gomez, F., Martinez, D.E. & Guiamet, J.J. (2004). Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Exp. Bot.*, 55, pp. 1663-1669. doi: 10.1093/jxb/erh199
22. Sharova, E.I. & Medvedev, S.S. (2017). Redox reactions in apoplast of growing cells. *Russ. J. Plant Physiol.*, 64(1), pp. 1-14. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443717010149>
23. Sagi, M. & Fluhr, R. (2006). Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases. *Plant Physiol.*, 141, pp. 336-340.
24. Glyan'ko, A.K. & Ischenko, A.A. (2010). Structural and functional characteristics of plant NADPH oxidase: A review. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 46, pp. 463-471. doi: <https://doi.org/10.1134/S0003683810050017>
25. Kolupaev, Yu.E., Karpets, Y.V. & Dmitriev, A.P. (2015). Signal mediators in plants in response to abiotic stress: Calcium, reactive oxygen and nitrogen species. *Cytol. Genet.*, 49(5), pp. 338-348. doi: 10.3103/S0095452715050047
26. Kolupaev, Yu.E. & Karpets, Yu.V. (2013). Participation of reactive oxygen species in formation of induced resistances of plants to abiotic stressors. In Suzuki, M. & Yamamoto, S. (Eds.). *Handbook on Reactive Oxygen Species (ROS): Formation Mechanisms, Physiological Roles and Common Harmful Effects* (pp. 109-136). New York: Nova Science Publishers.
27. Oboznyi, A.I., Kolupaev, Yu.E., Vayner, A.A. & Yastreb, T.O. (2013). The role of superoxide dismutase in inducing of wheat seedlings tolerance to osmotic shock. *J. Stress Physiol. Biochem.*, 9(3), pp. 251-261.
28. Minibayeva, F., Kolesnikov, O., Chasov, A. Beckett, R.P., Luthje S., Vylegzhanina, N., Buck, F. & Böttger, M. (2009). Wound-induced apoplastic peroxidase activities: their

- roles in the production and detoxification of reactive oxygen species. *Plant Cell Environ.*, 32, pp. 497-508. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.01944.x
29. Oboznyi, A.I. & Kolupaev, Yu.E. (2012). Participation of the enzymatic systems generating reactive oxygen species, in formation cross-tolerance of plantlets of wheat to the hyperthermia and osmotic shock. *Fiziol. Biokhim. Kult. Rast.*, 44 (4), pp. 347-354 [in Russian].
 30. Gill, S.S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 48, pp. 909-930. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016
 31. Blokhina, O., Virolainen, E. & Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Ann. Bot.*, 91, pp. 179-194.
 32. Pradedova, E.V., Isheeva, O.D. & Salyaev, R.K. (2011). Classification of the antioxidant defense system as the ground for reasonable organization of experimental studies of the oxidative stress in plants. *Russ. J. Plant Physiol.*, 58, pp. 210-217. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443711020166>
 33. Kolupaev, Yu.E. (2016). Plant cell antioxidants and their role in ROS signaling and plant resistance. *Uspekhi Sovrem. Biologii*, 136 (2), pp. 181-198 [in Russian].
 34. 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. doi: 10.3389/fenvs.2014.00053
 35. Alscher, R.G., Erturk, N. & Heath, L.S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.*, 53, pp. 1331-1341.
 36. Ogawa, K., Kanematsu, S. & Asada, K. (1996). Intra- and extra-cellular localization of "cytosolic" Cu/Zn-superoxide dismutase in spinach leaf and hypocotyls. *Plant Cell Physiol.*, 37, pp. 790-799.
 37. Kuzniak, E. & Sklodowska, M. (2004). The effect of Botrytic cinerea infection on the antioxidant proline of mitochondria from tomato leaves. *J. Exp. Bot.*, 55, pp. 605-612. doi: 10.1093/jxb/erh076
 38. del Río, L.A., Corpas, F.J., Sandalio, L.M., Palma, J.M. & Barroso, J.B. (2003). Plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide. *IUBMB Life*, 55(2), pp. 71-81.
 39. Guo, Z., Ou, W., Lu, S. & Zhong, Q. (2006). Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiol. Biochem.*, 44 (11-12), pp. 828-836. doi: 10.1016/j.plaphy.2006.10.024
 40. Samota, M.K., Sasi, M. & Singh, A. (2017). Impact of seed priming on proline content and antioxidant enzymes to mitigate drought stress in rice genotype. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 6(5), pp. 2459-2466. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.275>
 41. Mamenko, T.P. & Yaroshenko, O.A. (2012). Response of antioxidant system in contrasting by drought resistance winter wheat cultivars to water deficit. *Fiziol. Biochim. Kult. Rast.*, 44 (4), pp. 323-330 [in Ukrainian].
 42. Sokolovska-Sergienko, O.G. & Kiriziy, D.A. (2010). Intensity of photosynthesis and activity of chloroplast superoxide dismutase in wheat flag leaves during ripening. *Fiziol. Biochim. Kul't. Rast.*, 42(1), pp. 67-72 [in Ukrainian].
 43. Anjum, S.A., Ashraf, U., Tanveer, M., Khan, I., Hussain, S., Shahzad, B., Zohaib, A., Abbas, F., Saleem, M.F., Ali, I. & Wang, L.C. (2017). Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. *Front. Plant Sci.* 6: 69. doi: 10.3389/fpls.2017.00069.
 44. Kumari, N., Avtar, R., Kumari, A., Sharma, B., Rani, B. & Sheoran, R.K. (2018). Antioxidative response of Indian mustard subjected to drought stress. *J. Oilseed Brassica.*, 9(1), pp. 40-44.
 45. Zandalinas, S.I., Balfagyn, D., Arbona, V. & Gymez-Cadenas, A. (2017). Modulation of antioxidant defense system is associated with combined drought and heat stress tolerance in citrus. *Front. Plant Sci.* 8:953. doi: 10.3389/fpls.2017.00953.
 46. Mandi, S., Kumar, P.A., Nath, R. & Hembram, S. (2018). ROS scavenging and nitrate reductase enzyme activity in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] under drought stress. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 7 (4), pp. 1031-1039. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.704.113>
 47. Tina, R.R., Shan, X.R., Wang, Y., Guo, S.Y., Mao, B., Wang, W., Wu, H.Y. & Zhao, T.H. (2017). Response of antioxidant system to drought stress and rewatering in Alfalfa during branching. *IOP Conf. Series: Earth and Environ. Sci.* 94 01212. doi: 10.1088/1755-1315/94/1/012129

48. Haider, M.S., Kurjogi, M.M., Khalil-Ur-Rehman, M., Fiaz, M., Pervaiz, T., Jiu S., Haifeng, J., Chen, W. & Fang, J. (2017). Grapevine immune signaling network in response to drought stress as revealed by transcriptomic analysis. *Plant Physiol. Biochem.*, 121, pp. 187-195. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.10.026
49. Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inzé, D. & Van Camp, W. (1997). Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defense in C₃ plants. *EMBO J.*, 16, pp. 4806-4816.
50. Guan, L.M. & Scandalios, J.G. (2000). Hydrogen peroxide-mediated catalase gene expression in response to wounding. *Free Radical Biol. Med.*, 28, pp. 1182-1190.
51. Nyathi, Y. & Baker, A. (2006). Plant peroxisomes as a source of signalling molecules. *Biochim. Biophys. Acta*, 1763, pp. 1478-1495. doi: 10.1016/j.bbamcr.2006.08.031
52. Chakrabarty, A., Aditya, M., Dey, N., Bani, N. & Bhattacharjee, S. (2016). Antioxidant signaling and redox regulation in drought — and salinity-stressed plants. In Hossain, M. et al. (Eds.). *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol. 1 (pp. 465-498). Springer, Cham. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4_20
53. Landi, S., De Lillo, A., Nurcato, R., Grillo, S. & Esposito, S. (2017). In-field study on traditional Italian tomato landraces: The constitutive activation of the ROS scavenging machinery reduces effects of drought stress. *Plant Physiol Biochem.*, 118, pp. 150-160. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.06.011
54. Smertenko, A. (2017). Can peroxisomes inform cellular response to drought? *Trend Plant Sci.*, 22(12), pp. 1005-1007. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.09.021>
55. Noctor, G., Mhamdi, A. & Foyer, C.H. (2014). The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant Physiol.*, 164, pp. 1636-1648. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.113.233478>
56. Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S.B., Ribeiro, C.W., Lazzarotto, F. & Margis-Pinheiro, M. (2012). Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genet. Mol. Biol.*, 35(4), pp. 1011-1019.
57. Secenji, M., Hideg, E., Bebes, A. & Gyorgyey, J. (2010). Transcriptional differences in gene families of the ascorbate-glutathione cycle in wheat during mild water deficit. *Plant Cell Rep.*, 29 (1), pp. 37-50. doi: 10.1007/s00299-009-0796-x
58. Zhang, Z., Zhang, Q., Wu, J., Zheng, X., Zheng, S., Sun, X., Qiu, Q. & Lu, T. (2013). Gene knockout study reveals that cytosolic ascorbate peroxidase 2 (OsAPX2) plays a critical role in growth and reproduction in rice under drought, salt and cold stresses. *PLoS One*, 8 (2), e57472. doi: 10.1371/journal.pone.0057472
59. Guo, Y.Y., Tian, S.S., Liu, S.S. Wang, W.Q. & Sui, N. (2018). Energy dissipation and antioxidant enzyme system protect photosystem II of sweet sorghum under drought stress. *Photosynthetica*, 56 (3), pp. 861-872. doi: <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0741-0>
60. Tognolli, M., Penel, C., Greppin, H. & Simon, P. (2003). Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 288, pp. 129-138.
61. Ivanov, S., Konstantinova, T., Parvanova, D., Todorova, D., Djilianov, D. & Alexieva, V. (2001). Effect of high temperatures on the growth, free proline content and some antioxidants in tobacco plants. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, 54 (7), pp. 71-74.
62. Hussain, S., Khalid, M.F., Saqib, M., Ahmad, S., Zafar, W., Rao, M.J., Morillon, R. & Anjum, M.A. (2018). Drought tolerance in citrus rootstocks is associated with better antioxidant defense mechanism. *Acta Physiol. Plant*, 40, p. 135. doi: <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2710-z>
63. Romero-Puertas, M.C., Corpas, F.J., Sandalio, L.M., Leterrier, M., Rodríguez-Serrano, M., Del Río, L.A. & Palma, J.M. (2006). Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. *New Phytol.*, 170, pp. 432-452. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01643.x
64. Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. & Turkan, I. (2009). Physicochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. *Environ. Exp. Bot.*, 66(3), pp. 487-492. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.04.003>
65. Creissen, G.P., Broadbent, P., Kular, B. & Reynolds, H. (1994). Manipulation of glutathione reductase in transgenic plants: implications for plant responses to environmental stress. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences.*, 102B, pp. 167-175.

66. Marrs, K.A. (1996). The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 47, pp. 127-158.
67. Baimuhametova, E.A., Taipova, R.M. & Kuluev, B.R. (2016). Glutathione and glutathione s-transferases: key components of the antioxidant protection system of plants. *Biomics.*, 8(4), pp. 311-322 [in Russian].
68. Liu, L., Liu, Y., Rao, J., Wang, G., Li, H., Ge, F. & Chen, C. (2013). Overexpression of the glutathione S-transferase gene from *Pyrus pyrifolia* fruit improves tolerance to abiotic stress in transgenic tobacco plants. *Mol. Biol. (Mosk.)*, 47(4), pp. 591-601.
69. Kaur, R. & Nayyar, H. (2014). Ascorbic acid a potent defender against environmental stresses. In Ahmad P. (Ed.) *Oxidative Damage to Plants Antioxidant Networks and Signaling* (pp. 235-287). San Diego: Elsevier. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00008-3>
70. Putilina, F.E., Galkina, O.V., Yeshchenko, N.D., Dizhe, G.P. & Krasovskaya, I.E. (2008). *Svobodnoradikal'noye okisleniye* (Free radical oxidation). St. Petersburg: St. Petersburg University publishing house [in Russian].
71. Millar, A.H., Mittova, V., Kiddle, G., Heazlewood, J.L., Bartoli, C.G., Theodoulou, F.L. & Foyer, C.H. (2003). Control of ascorbate synthesis by respiration and its implications for stress responses. *Plant Physiol.*, 133, pp. 443-447.
72. Miyaji, T., Kuromori, T., Takeuchi, Y., Yamaji, N., Yokosho, K., Shimazawa, A., Sugimoto, E., Omote, H., Ma, J.F. & Shinozaki, K. (2015.) AtPHT4; 4 is a chloroplast-localized ascorbate transporter in *Arabidopsis*. *Nat. Commun.* 6:5928. doi: [10.1038/ncomms6928](https://doi.org/10.1038/ncomms6928).
73. Foyer, C.H. & Noctor, G. (2005). Redox homeostis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell.*, 17, pp. 1866-1875. doi: [10.1105/tpc.105.033589](https://doi.org/10.1105/tpc.105.033589)
74. Singh, S., Gupta, A. K. & Kaur, N. (2012). Differential responses of antioxidative defence system to long-term field drought in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes differing in drought tolerance. *J. Agron. Crop Sci.*, 198, pp. 185-195. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2011.00497.x>
75. Cao, B.L., Ma, Q., Zhao, Q., Wang, L. & Xu, K. (2015). Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. *Sci. Hortic.*, 194, pp. 53-62. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.07.037>
76. Le Martret, B., Poage, M., Shiel, K., Nugent, G.D. & Dix, P.J. (2011). Tobacco chloroplast transformants expressing genes encoding dehydroascorbate reductase, glutathione reductase, and glutathione-S-transferase, exhibit altered anti-oxidant metabolism and improved abiotic stress tolerance. *Plant Biotechnol. J.*, 9 (6), pp. 661-673. doi: [10.1111/j.1467-7652.2011.00611.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00611.x)
77. Farooq, M., Irfan, M., Aziz, T., Ahmad, I. & Cheema, S.A. (2013). Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance of wheat. *J. Agron. Crop Sci.*, 199, pp. 12-22. doi: [org/10.1111/j.1439-037X.2012.00521.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2012.00521.x)
78. Wang, H., Zhang, L., Ma, J., Li, X., Li, Y., Zhang, R. & Wang R. (2010). Effects of water stress on reactive oxygen species generation and protection system in rice during grain-filling stage. *Agr. Sci. China*, 9, pp. 633-641. doi: [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60138-3](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60138-3)
79. Malik, S. & Ashraf, M. (2012). Exogenous application of ascorbic acid stimulates growth and photosynthesis of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought. *Soil Environ.*, 31, pp. 72-77. doi: [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60138-3](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60138-3).
80. Baghizadeh, A. & Hajmohammadrezaei, M. (2011). Effect of drought stress and its interaction with ascorbate and salicylic acid on okra (*Hibiscus esculents* L.) germination and seedling growth. *J. Stress Physiol. Biochem.*, 7, pp. 55-65.
81. Noctor, G., Gomez, L., Vanacker, H. & Foyer, C.H. (2002). Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signalling. *J. Exp. Bot.*, 53, pp. 1283-1304.
82. Szalai, G., Kellos, T., Galib, G. & Kocsy, G. (2009). Glutathione as an antioxidant and regulatory molecule in plants under abiotic stress conditions. *J. Plant Growth Regul.*, 28, pp. 66-80. doi: <https://doi.org/10.1007/s00344-008-9075-2>
83. Del Rio, L.A., Corpas, J., Sandalio, L.M., Palma, J.M., Gimez, M. & Barroso, J.B. (2002). Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *J. Exp. Bot.*, 53, pp. 1255-1272.

84. Chen, K.-M., Gong, H.-J., Chen, G.-C., Wang, S.-M. & Zhang, C.-L. (2004). Gradual drought under field conditions influences the glutathione metabolism, redox balance and energy supply in spring wheat. *J. Plant Growth Regul.*, 23, pp. 20-28.
85. Lascano, H.R., Antonicelli, G.E., Luna, C.M., Melchiorre, M.N., Gomez, L.D., Racca, R.W., Trippi, V.S. & Casano, L.M. (2001). Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies. *Austr. J. Plant Physiol.*, 28, pp. 1095-1102. doi: <https://doi.org/10.1071/PP01061>
86. Waskiewicz, A., Beszterda, M., & Golinski, P. (2014). Nonenzymatic antioxidants in plants. *Oxidative Damage to Plants* (pp. 201-234). Elsevier Inc. doi:10.1016/b978-0-12-799963-0.00007-1
87. Tarakhovskiy, Yu.S., Kim, Yu.A., Abdrasilov, B.S. & Muzafarov, E.N. (2013). *Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine*. Pushchino: Synchronbook [in Russian].
88. Harborne, J.B. & Williams, C.A. (2000). *Advances in flavonoid research since 1992*. *Phytochemistry*, 55, pp. 481-504.
89. Ververidis, F., Trantas, E., Douglas, C., Vollmer, G., Kretschmar, G. & Panopoulos, N. (2007). *Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Pt I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health*. *Biotechnol. J.*, 2, pp. 1214-1234. doi: 10.1002/biot.200700084
90. Olenichenko, N.A., Zagoskina, N.V., Astakhova, N.V., Trunova, T.I. & Kuznetsov, Yu.V. (2008). Primary and secondary metabolism of winter wheat under cold hardening and treatment with antioxidants. *Appl Biochem. Microbiol.*, 44 (5), pp. 535-540. doi: <https://doi.org/10.1134/S0003683808050141>
91. Winkel, B.S.J. The biosynthesis of flavonoids. In Grotewold P.E. (2008). (Ed.) *The science of flavonoids* (pp. 71-95). New York: Springer.
92. Es-Safi, N.E., Ghidouche, S. & Ducrot, P.H. (2007). Flavonoids: hemisynthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity. *Molecules*, 12, pp. 2228-2258.
93. Khlestkina, E.K. (2013). The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. *Cereal Res. Commun.*, 41, pp. 185-198. doi: <https://doi.org/10.1556/CRC.2013.0004>
94. Gould, K.S. & Lister, C. (2006). Flavonoid functions in plants. In Andersen, O.M. & Markham, K.R. (Eds.). *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications* (pp. 397-442). London: CRC Press.
95. Havaux, M. & Kloppstech, K. (2001). The protective functions of carotenoid and flavonoid pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis* npq and tt mutants. *Planta*, 213 (6), pp. 953-966.
96. Munne-Bosch, S. & Alegre, L. (2002). The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 21, pp. 31-57.
97. Ghanbari, F. & Sayyari, M. (2018). Controlled drought stress affects the chilling-hardening capacity of tomato seedlings as indicated by changes in phenol metabolisms, antioxidantenzymes activity, osmolytes concentration and abscisic acid accumulation. *Sci. Horticul.*, 229, pp. 167-174. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.009>
98. Ma, D., Sun, D., Wang, C., Li, Y. & Guo, T. (2014). Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiol. Biochem.*, 80, pp. 60-66. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.024
99. Kolupaev, Yu.E., Firsova, K.M., Shvidenko, M.V. & Yastreb, T.O. (2018). Hydrogen sulfide donor influence on state of antioxidant system of wheat seedlings under osmotic stress. *Fiziol. Rast. Genet.*, 50 (1), pp. 29-38 [in Ukrainian].
100. Nakabayashi, R., Yonekura-Sakakibara, K., Urano, K., Suzuki, M., Yamada, Y., Nishizawa, T., Matsuda, F., Kojima, M., Sakakibara, H., Shinozaki, K., Michael, A.J., Tohge, T., Yamazaki, M. & Saito, K. (2014). Enhancement of oxidative and drought-tolerance in *Arabidopsis* by overaccumulation of antioxidant flavonoids. *Plant J.*, 77, pp. 367-379. doi: 10.1111/tpj.12388
101. Yuan, Y., Qi, L., Yang, J., Wu, C., Liu, Y. & Huang, L. (2015). A *scutellaria baicalensis* R2R3-MYB gene, SbMYB8, regulates flavonoid biosynthesis and improves drought stress tolerance in transgenic tobacco. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*, 120, pp. 961-972. doi: <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0686-y>
102. Joseph, E.A., Radhakrishnan, V.V. & Mohanan, K.V. (2015). A study on the accumulation of proline — an osmoprotectant amino acid under salt stress in some native rice cultivars of North Kerala, India. *Univ. J. Agr. Res.*, 3, pp. 15-22. doi: 10.13189/ujar.2015.030104

103. Kaur, G. & Asthir, B. (2015). Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biol. Plant.*, 59 (4), pp. 609-619. doi: <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0549-3>
104. Kumar, N.S., Zhu, W., Liang, X., Zhang, L., Demers, A.J., Zimmerman, M.C., Simpson, M.A. & Becker, D.F. (2012). Proline dehydrogenase is essential for proline protection against hydrogen peroxide-induced cell death. *Free Radical Biology Medicine*, 53, pp. 1181-1191. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.07.002
105. Signorelli, S., Coitin, O, E.L., Borsani, O. & Monza, J. (2014). Molecular mechanisms for the reaction between OH radicals and proline: insights on the role as reactive oxygen-species scavenger in plant stress. *J. Phys. Chem.*, 118, pp. 37-47. doi: 10.1021/jp407773u
106. Aubert, S., Hennion, F., Bouchereau, A., Gout, E., Bligny, R. & Dome, A.J. (1999). Subcellular compartmentation of proline in the leaves of the subantarctic Kerguelen cabbage *Pringlea antiscorbutica* R-Br. in vivo ¹³C-NMR study. *Plant Cell Environ.*, 22, pp. 255-259.
107. Chen, C. & Dickman, M.B. (2005). Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, pp. 3459-3464. doi: 10.1073/pnas.0407960102
108. Islam, M.M., Hoque, M.A., Okuma, E., Banu, M.N., Shimoishi, Y., Nakamura, Y. & Murata, Y. (2009). Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells. *J. Plant Physiol.*, 166, pp. 1587-1597. doi: 10.1016/j.jplph.2009.04.002
109. Islam, M.M., Hoque, M.A., Okuma, E., Jannat, R., Banu, M.N., Jahan, M.S., Nakamura, Y. & Murata, Y. (2009). Proline and glycinebetaine confer cadmium tolerance on tobacco bright yellow-2 cells by increasing ascorbate-glutathione cycle enzyme activities. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 73, pp. 2320-2323. doi: 10.1271/bbb.90305
110. Radyukina, N.L., Shashukova, A.V., Makarova, S.S. & Kuznetsov, V.V. (2011). Exogenous proline modifies differential expression of superoxide dismutase genes in UV-B-irradiated *Salvia officinalis* plants. *Russ. J. Plant Physiol.*, 58, pp. 51-59. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443711010122>
111. Soshinkova, T.N., Radyukina, N.L., Korolkova, D.V. & Nosov, A.V. (2013). Proline and functioning of the antioxidant system in *Thellungiella salsuginea* plants and cultured cells subjected to oxidative stress. *Russ. J. Plant Physiol.*, 60, pp. 41-54. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443713010093>
112. De Ronde, J.A., Cress, W.A., Krüger, G.H., Strasser, R.J. & Van, S.J. (2004). Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress. *J. Plant Physiol.*, 161, pp. 1211-1224.
113. Mykhalska, S.I., Sergeeva, L.E., Matveyeva, A.Yu., Kobernik, N.I., Kochetov, A.V., Tishchenko, O.M. & Morgun, V.V. (2014). The elevation of free proline content in osmotolerant transgenic corn plants with dsRNA suppressor of proline dehydrogenase gene. *Fiziol. Rast. Genet.*, 46 (6), pp. 482-489 [in Russian].
114. Cherenkevich, S.N., Martinovich, G.G., Martinovich, I.V., Gorudko, I.V. & Shamova, E.V. (2013). Redox regulation of cellular activity: concepts and mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of Biological Sciences*, 1, pp. 92-108 [in Russian].
115. De Campos, M.K.F., De Carvalho, K., De Souza, F.S., Marur, C.J., Pereira, L.F.P., Filho, J.C.B. & Vieira, L.G.E. (2011). Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citriform plants over-accumulating proline. *Environ. Exp. Bot.*, 72, pp. 242-250. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.03.009>
116. Ashraf, M.A., Akbar, A., Askari, S.H., Iqbal, M., Rasheed, R. & Hussain, I. (2018). Recent advances in abiotic stress tolerance of plants through chemical priming: An Overview. In Rakshit, A., Singh, H.B. (Eds.) *Advances in Seed Priming* (pp. 51-79). Springer Nature Singapore Pte Ltd. doi: https://doi.org/10.1007/978-981-13-0032-5_4
117. Kamran, M., Shahbaz, M., Ashraf, M. & Akram, N.A. (2009). Alleviation of drought-induced adverse effects in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) using proline as a pre-sowing seed treatment. *Pak. J. Bot.*, 41, pp. 621-632.
118. Kaur, D., Grewal, S.K., Kaur, J. & Singh, S. (2017). Differential proline metabolism in vegetative and reproductive tissues determine drought tolerance in chickpea. *Biol. Plant.*, 61 (2), pp. 359-366. doi: <https://doi.org/10.1007/s10535-016-0695-2>
119. Bohnert, H.J., Nelson, D.E. & Jensen, R.G. (1995). Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell.*, 7, pp. 1099-1111.

120. Yildizli, A., Çevik, S. & Ünyayar, S. (2018). Effects of exogenous myo-inositol on leaf water status and oxidative stress of Capsicum annuum under drought stress. *Acta Physiol. Plant.*, 40, p. 122. doi: <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2690-z>
121. Sunkar, R., Kapoor, A. & Zhu, J.K. (2006). Posttranscriptional induction of two Cu/Zn superoxide dismutase genes in Arabidopsis is mediated by down-regulation of miR398 and important for oxidative stress tolerance. *Plant Cell.*, 18, pp. 2051-2065. doi: 10.1105/tpc.106.041673
122. Semchuk, N., Lushchak, O.V., Falk, J., Krupinska, K. & Lushchak, V.I. (2009). Inactivation of genes, encoding tocopherol biosynthetic pathway enzymes, results in oxidative stress in outdoor grown Arabidopsis thaliana. *Plant Physiol. Biochem.* 47, pp. 384-390. doi: 10.1016/j.plaphy.2009.01.009.
123. Semchuk, N.M., Vasylyk, Yu.V., Lushchak, O.V. & Lushchak, V.I. (2012). Effect of short-term salt stress on oxidative stress markers and antioxidant enzymes activity in tocopherol-deficient Arabidopsis thaliana plants. *Ukr. Biochem. J.*, 84(4), pp. 41-48.
124. Szabados, L. & Savoure, A. (2009). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci.*, 15 (2), pp. 89-97.
125. Vendruscolo, E.C., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B., Marur, C.J. & Vieira, L.G. (2007). Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *J. Plant Physiol.*, 164, pp. 1367-1376. doi: 10.1016/j.jplph.2007.05.001
126. Razavizadeh, R. & Ehsanpour, A.A. (2009). Effects of salt stress on proline content, expression of delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthetase, and activities of catalase and ascorbate peroxidase in transgenic tobacco plants. *Biological Lett.*, 46 (2), pp. 63-75. doi: <https://doi.org/10.2478/v10120-009-0002-4>
127. Kolupaev, Yu.E. & Karpets, Yu.V. (2017). Role of signal mediators and stress hormones in regulation of plants antioxidant system. *Fiziol. Rast. Genet.*, 49(6), pp. 463-481 [in Russian].
128. Ozturk, L. & Demir, Y. (2002). In vivo and in vitro protective role of proline. *Plant Growth Regulation*, 38, pp. 259-264.
129. Maiti, S., Ghosh, N.G., Mandal, C. & Adak, M.K. (2018). Evaluation of the effect of putrescine on oxidative stress in two chromium treated maize varieties. *Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol.*, 19 (1-2), pp. 9-23.
130. Rybachenko, L.I., Kots, S.Ya., Melnik, V.M. & Rybachenko, O.R. (2018). Response of different efficiency symbiotic systems on drought and use of the exogenous lectin as a protector of its negative action. *Fiziol. Rast. Genet.*, 50 (5), pp. 383-401 [in Ukrainian].
131. Hossain, M.A., Hoque, M.A., Burritt, D.J. & Fujita, M. (2014). Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms. In Ahmad, P. (Ed.). *Oxidative Damage to Plants Antioxidant Networks and Signaling* (pp. 477-521). Academic Press is an imprint of Elsevier. doi: [org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00016-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00016-2)
132. Ramel, F., Sulmon, C., Bogard, M., Couñe, I. & Gouesbet, G. (2009). Differential patterns of reactive oxygen species and antioxidant mechanisms during atrazine injury and sucrose-induced tolerance in Arabidopsis thaliana plantlets. *BMC Plant Biology*, 9, pp. 28. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-28>
133. Vasil'ev, L.A., Dzyubinskaya, E.V., Kiselevsky, D.B., Shestak, A.A. & Samuilov, V.D. (2011). Programmed cell death in plants: Protective effect of mitochondrial-targeted quinones. *Biochem. (Mosc.)*, 76 (10), pp. 1120-1131. doi: 10.1134/S0006297911100051
134. Queval, G., Hager, J., Gakière, B. & Noctor, G. (2008). Why are literature data for H₂O₂ contents so variable? A discussion of potential difficulties in the quantitative assay of leaf extracts. *J. Exp. Bot.*, 59, pp. 135-140. doi: 10.1093/jxb/erm193

Received 13.12.2018

АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА І СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ДО НЕСТАЧІ ВОЛОГИ

Ю.Є. Колупаєв^{1,2}, О.І. Кокорев¹¹Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва²Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

Посуха є одним з основних чинників середовища, що лімітують ріст і продуктивність рослин. В огляді проаналізовано причини посилення генерування активних форм

кисню (АФК) за умов посухи в хлоропластах, мітохондріях, пероксисомах і клітинних стінках. Розглянуто значення НАДФН-оксидази, позаклітинної пероксидази і супероксиддисмутази в утворенні сигнального пулу АФК в умовах осмотичного стресу та індукуванні захисних реакцій рослин. Наведено характеристики компонентів антиоксидантної системи. Оцінено внесок основних антиоксидантних ферментів і низькомолекулярних антиоксидантів у підтримання редокс-гомеостазу за посухи. Особливу увагу приділено ролі проліну та інших сумісних осмолітів в антиоксидантному захисті рослин. Проаналізовано функціональну взаємодію антиоксидантних ферментів, низькомолекулярних антиоксидантів і осмолітів з антиоксидантними властивостями в умовах посухи. Розглянуто можливість підвищення стійкості рослин до нестачі вологи за допомогою екзогенних антиоксидантів, праймінгу з використанням сигнальних молекул і стресових фітогормонів, а також шляхом трансформації генами антиоксидантних ферментів чи ензимів, задіяних у регуляції вмісту низькомолекулярних протекторів. Вказано, що прогрес у дослідженні антиоксидантної системи стане динамічнішим за використання методів аналізу антиоксидантів *in vivo* в певних клітинних компартментах і реальному часі.

Ключові слова: посуха, активні форми кисню, антиоксидантна система, антиоксидантні ферменти, низькомолекулярні антиоксиданти, пролін.

ANTIOXIDANT SYSTEM AND PLANT RESISTANCE TO WATER DEFICIT

Yu.E. Kolupaev^{1,2}, A.I. Kokorev¹

¹V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
p/o Dokuchaevske-2, Kharkiv, 62483, Ukraine
e-mail: plant_biology@ukr.net

²V.N. Karazin Kharkiv National University
4, Svoboda Square, Kharkiv, 61022, Ukraine

Drought is one of the main environmental factors limiting plant growth and productivity. The review analyzes the causes of enhanced generation of reactive oxygen species (ROS) during drought in chloroplasts, mitochondria, peroxisomes, and cell walls. Value of NADPH oxidase, extracellular peroxidase and superoxide dismutase in the formation of ROS signaling pool under conditions of osmotic stress, and inducing protective reactions of plants is considered. Characteristics of components of the antioxidant system is given. Contribution of the main antioxidant enzymes and low-molecular-weight antioxidants to maintenance of redox homeostasis during drought is assessed. Role of proline and other compatible osmolytes in antioxidant plant protection is considered separately. Functional interaction of antioxidant enzymes, low-molecular-weight antioxidants, and osmolytes with antioxidant properties under drought conditions is analyzed. The possibility of increasing plant resistance to water deficiency by use of exogenous antioxidants, priming with signaling molecules and stress phytohormones, as well as by transforming with genes of antioxidant enzymes or enzymes involved in the regulation of low-molecular-weight protectors is considered. It is noted that progress in the study of antioxidant system will become more dynamic when using methods of *in vivo* analysis of antioxidants in certain cellular compartments and in real time.

Key words: drought, reactive oxygen species, antioxidant system, antioxidant enzymes, low molecular weight antioxidants, proline.