

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Уральский государственный университет им. А.М. Горького»

ИОНЦ «Экология и природопользование»

Биологический факультет

Кафедра экологии

Кафедра физиологии и биохимии растений

РАСТЕНИЕ И СТРЕСС

Курс лекций

**Екатеринбург
2008**

Раздел 1. Общие вопросы стрессоустойчивости растений

Лекция 1. Общие представления о стрессе и факторах, вызывающих стресс у растений

Термин *стресс* (от англ. «stress» – напряжение) был предложен выдающимся канадским ученым-физиологом Гансом Селье в 1936 г. для описания реакции организма на любое сильное неблагоприятное воздействие.

В наши дни стрессы стали обычным явлением человеческой жизни. Проблема стресса уже давно вызвала интерес у людей. Но еще больший интерес вызвало то, что стресс может возникать не только в организме животного.

Если первоначально стрессовая реакция рассматривалась как атрибут высших организмов, имеющих нейрогуморальную систему, то последующее развитие теории Селье позволило признать наличие стрессовых реакций у низших животных, а также у растений.

1. Стресс и «триада» Селье

По Селье, *стресс* – это совокупность всех неспецифических изменений, возникающих в организме животного под влиянием любых сильных воздействий (стрессоров), включающих перестройку защитных сил организма. Эта перестройка сопровождается увеличением в крови адреналина и других гормонов, мобилирующих обмен веществ. Благодаря энтузиазму и трудам автора, а также его учеников и последователей, теория стресса перешла из области медицины в биологию. Селье обратил внимание на то, что изменения защитных сил животного и человека при различных заболеваниях обычно сопровождаются увеличением в крови кортикостероидных гормонов, мобилирующих обмен веществ. При этом организм, несмотря на изменение своего состояния, приобретает способность сохранять относительную

стабильность внутренней среды. Эта реакция была им оценена как адаптивная и названа *генерализованным адаптационным синдромом*. Согласно Селье, способность к адаптации является наиболее характерной чертой жизни, и приспособление всегда возникает в результате концентрации усилий или напряжение, отсюда и название – стресс.

По Селье кривая ответных реакций на стрессовое воздействие у животных и человека включает три фазы («триада Селье»): **тревоги, адаптации (резистентности) и истощения** (рис. 1). На протяжении триады формируется неспецифическая резистентность (адаптация), но при увеличении силы эффекта и истощении защитных возможностей организма наступает его гибель.

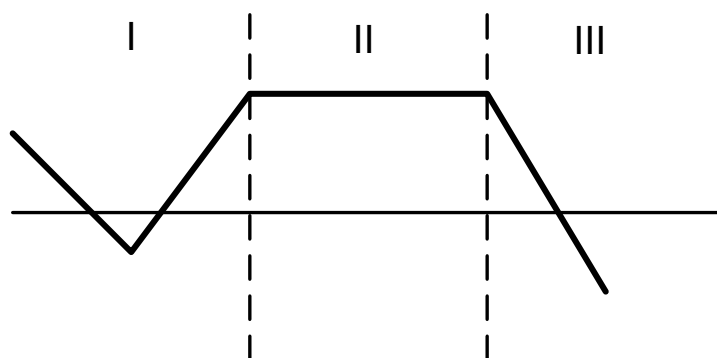


Рис. 1. «Триада» Селье

В последние годы жизни Селье ввел понятие эустресс (положительный, стимуляционный стресс) и дистресс – патологический. Граница между ними расплывчата и зависит от дозы воздействия и исходной устойчивости организма.

Физическая трактовка стресса совершенно иная, чем медицинская. В соответствии с законом движения Ньютона, любая сила всегда сопровождается противосилой. Две силы, названные действием и реакцией, являются частями неразделимого целого, известного как стресс. Тело находится в состоянии напряжения, когда подвержено стрессу. Величина стресса – это сила на единицу площади тела, приводящая к изменению его формы или размера.

Величина напряжения определяется изменением размера тела (или объема). В физическом понимании *стресс* – это сила, действующая на тело и вызывающая обратимые или необратимые изменения его размеров, а в биологическом – это внешний фактор, действующий на организм, вызывающий любые физические, химические и др., обратимые (эластичное напряжение) или необратимые (пластичное напряжение) изменения в нем. Поэтому стресс может быть определен как любой фактор окружающей среды, способный индуцировать потенциально вредное напряжение у живых организмов (Левитт, 1980).

2. Основные группы факторов, способных вызвать стресс у растений

Понятие стресс перенесено в физиологию растений и существует направление – стресс-физиология растений. Наблюдаемый при стрессе комплекс метаболических перестроек у растений назван *фитострессом* (Генкель, 1982).

В фитофизиологии термин «стресс» используется в двух разных аспектах. В одних случаях «стресс» служит синонимом слову «воздействие» (стрессовое воздействие, стрессовый фактор, стрессовые нагрузки, индуцированный стресс и т.д.), если стресс отражает количественную сторону раздражителя. В других случаях, когда, например, говорят о водном, солевом или окислительном стрессе, то под стрессом понимают целый комплекс ответных неспецифических и специфических изменений.

Способность к защите от действия неблагоприятных факторов среды – обязательное свойство любого живого организма, включая высшие растения. Эта функция появилась одновременно с возникновением первых живых организмов и в ходе дальнейшей эволюции развивалась и совершенствовалась.

На каждой стадии развития способность растений к приспособлению к неблагоприятным условиям (низкая температура, засуха, засоление почвы и т.д.) выражена в разной степени. Эта способность растений связана с глубоким изменением обмена и определяется быстротой и глубиной его изменения без

нарушения согласованности между отдельными функциями, благодаря чему не нарушается единство организма и среды. Это, в конечном счете, и определяет жизнедеятельность организма и его выносливость.

Для высших растений характерен активный путь адаптации к неблагоприятным факторам среды, например, к неблагоприятным условиям водного режима. Благодаря целому комплексу гидрорегулирующих приспособлений, проявляющихся на любой стадии онтогенеза и отличающихся автоматизмом и динамичностью действия, растения способны противостоять иссушающему действию факторов внешней среды. К таким приспособлениям, всегда направленным на усиление поглощения и снижение испарения воды, относятся усиленный рост корневой системы, возрастание водоудерживающей способности, закрывание устьиц и др.

Активное избирательное отношение растительного организма к неблагоприятным, стрессовым условиям внешней среды выражается в его способности к саморегуляции, оптимизации протекающих в нем процессов, а также к приспособлению их к факторам внешней среды, с которыми организм находится в непрерывном взаимодействии на протяжении всего онтогенеза. Сюда относится устойчивость к недостатку или избытку воды, низким и высоким температурам, недостатку кислорода, засолению и загазованности среды, ионизирующему излучению, инфекциям и др. Эти неблагоприятные факторы в последнее время часто называют стрессорами, а реакцию организма на любые отклонения от нормы – стрессом.

Вопрос о природе защитных реакций, которые растение способно противопоставить губительному влиянию перечисленных выше факторов и которые позволяют организму сохранить нормальный ход процессов развития, включая и функцию самовоспроизведения, изучается на протяжении многих десятилетий.

По происхождению и характеру действия все экологические факторы подразделяют на группу абиотических (факторы неживой среды) и группу биотических (связанных с влиянием живых существ). Это разделение условно,

поскольку многие абиотические факторы испытывают сильное влияние жизнедеятельности живых организмов.

По ряду экологических классификаций **абиотические факторы** делят на:

1. Климатические – свет, тепло, воздух (его состав и движение), влага (включая осадки в разных формах, влажность почвы, влажность воздуха).
2. Эдафические (или почвенно-грунтовые) – механический и химический состав почв, их физические свойства и т.д.
3. Топографические – условия рельефа.

Эта классификация абиотических факторов относится в основном к наземным растениям. На водные растения влияет иной комплекс факторов, определяемый свойствами воды как среды обитания; например для них весьма существенны факторы гидрофизические и гидрохимические.

Биотические факторы:

1. Фитогенные – влияние растений-сообитателей как прямое (механические контакты, симбиоз, паразитизм, поселение эпифитов), так и косвенное (фитогенные изменения среды обитания для растений);
2. Зоогенные – влияние животных (поедание, вытаптывание и прочие механические воздействия, опыление, распространение зачатков, косвенное влияние на среду).

В группу биотических факторов входит и влияние на растения микроорганизмов (микробогенные факторы) и грибов (микогенные факторы).

Влияние хозяйственной деятельности человека относят в отдельную группу антропогенных факторов.

Сильно действующий фактор внешней среды, способный вызвать в организме повреждение или даже привести к гибели, называют **стрессовым фактором** или **стрессором**. Если повреждающее действие стрессора превосходит защитные возможности организма, то происходит его гибель. В этом случае можно говорить об экстремальном факторе. Интенсивность или доза стрессора, вызывающая гибель организма, называется летальной и

характеризуется $ЛД_{50}$, т.е. интенсивностью действующего фактора, при котором погибает половина растений.

Факторы, способные вызвать стресс у растений, можно разделить на **3 группы** (рис. 2):

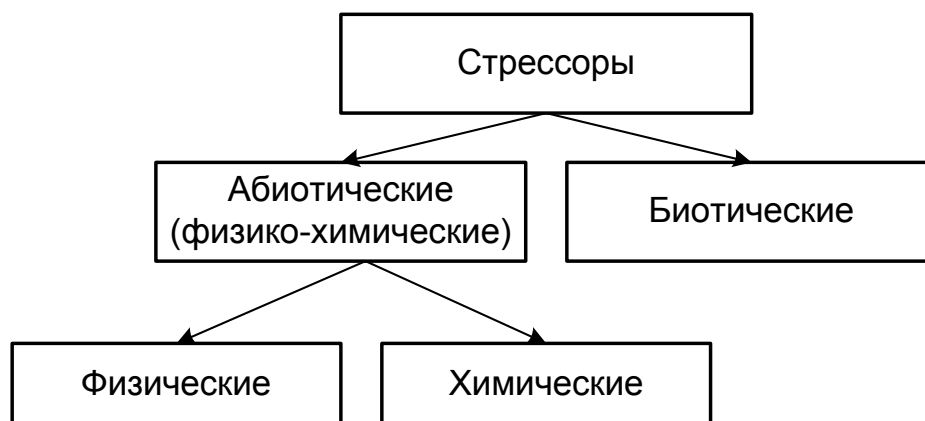


Рис. 2. Классификация факторов, способных вызвать стресс у растений

К физическим стрессорам относятся: высокая и низкая температура, освещенность, недостаток или избыток влаги, повышенный уровень радиации, механические воздействия.

Среди химических факторов, способных вызвать стресс, наиболее распространенными являются: соли, ксенобиотики (газы, пестициды, промышленные отходы, тяжелые металлы).

Биологические стрессоры, как правило, представлены возбудителями болезней: грибами, бактериями, вирусами и т.д.

Не все растения в равной степени страдают от неблагоприятных условий среды. Одни оказываются в отношении того или иного фактора более устойчивыми, другие – менее устойчивыми. В связи с этим различают морозоустойчивые, зимоустойчивые, засухоустойчивые, жароустойчивые, солеустойчивые культуры и сорта.

Устойчивость к неблагоприятным факторам среды определяется способностью растения сохранять такой ход физиологических процессов,

который не вызывает существенного нарушения в их согласованности. Растения несут в себе способность успешно осуществлять жизнедеятельность в определенной норме колебаний внешней среды. Всякое отклонение от допустимого предела приводит к изменению физиологической деятельности растения, согласованность между отдельными процессами при этом нарушается и, как следствие этого, выявляется та или иная степень страдания. Оно тем больше, чем сильнее отклонение. Чувствительность растений к этим отклонениям в онтогенезе не одинакова, т.к. выносливость к неблагоприятным почвенно-климатическим условиям определяется стадийным состоянием растения.

Наиболее распространенными неблагоприятными для растений факторами являются засуха, высокие и низкие температуры (экстремальные для растений), избыток воды и солей в почве, недостаток кислорода (гипоксия), очень высокая или низкая освещенность, присутствие в атмосфере вредных веществ, ультрафиолетовая радиация, ионы тяжелых металлов.

3. Особенности проявления стрессовых реакций у растений

Перенос теории стресса в том виде, как это изложено выше, на растительные объекты кажется на первый взгляд дискуссионным. У растений нет ни нервной системы, ни тех гормонов, которые участвуют в стрессовых реакциях у животных. Однако если рассматривать не частности, а суть теории стресса, как неспецифической реакции клетки и организма в целом на экстремальные воздействия, то этот вопрос в физиологии растений заслуживает самого пристального внимания, хотя и требует определенных корректив.

При сопоставлении фаз триады у растений и животных наибольшее сомнение возникало в идентичности первой фазы. Судя по доминирующим в ней реакциям, она не могла быть названа фазой тревоги. Ее называют первичной индуктивной стрессовой реакцией. Вторая фаза – фаза адаптации и третья – истощения ресурсов надежности.

Что происходит во время **первой фазы** у растений?

Увеличивается проницаемость мембран в результате изменения молекулярного состава их компонентов. Это приводит к обратимому выходу ионов калия из клетки и входу ионов кальция из клеточной стенки, вакуоли, ЭПР, митохондрий. Происходит деполяризация мембран. Увеличение проницаемости мембран и торможение H^+ -АТФ-азы ведут к закислению цитоплазмы. Снижение pH цитоплазмы способствует активации гидролаз, большинство которых имеет оптимум pH в кислой среде. В результате усиливаются процессы распада полимеров.

Тормозится синтез белка, изменяется конформация белковых молекул. Происходит дезинтеграция полисом, информационные РНК «дострессовых» белков гидролизуются или взаимодействуют с особыми белками, образуя «стрессовые гранулы» в цитоплазме. Тормозятся процессы транскрипции и репликации. Вместе с тем на этом этапе происходят экспрессия репрессированных генов и синтез ряда стрессовых белков. Активируется сборка элементов цитоскелета, что приводит к увеличению вязкости цитоплазмы. Тормозится интенсивность фотосинтеза вследствие изменений структуры белков и липидов тилакоидных мембран. Дыхание вначале активируется, однако затем ингибируется, как и фотосинтез, снижается уровень АТФ. Имеются данные о перераспределении углерода из CO_2 , усвоенного в процессе фотосинтеза: уменьшается включение метки в высокополимерные соединения (белки, крахмал) и сахарозу и увеличивается включение в аланин, малат, аспартат. Активируются свободнорадикальные процессы.

В этот период преобладающими становятся процессы катаболизма, т.е. накапливаются продукты распада. Их роль многообразна:

1. Во-первых, они могут играть роль корректирующего фактора, поскольку в ходе деструкции обеспечивается устранение полимеров с ошибочной или нарушенной структурой.

2. Во-вторых, мономерные соединения могут служить субстратом для синтеза стрессовых белков, фитогормонов и др.

3. В-третьих, мономеры используются в качестве субстратов дыхания, с чем связывают их энергетическую роль.

4. В-четвертых, такие мономеры, как моно- и олигосахариды, аминокислоты, прежде всего пролин, бетаин, связывают воду, что особенно важно для сохранения внутриклеточной воды при повышении проницаемости мембран и облегчении выхода воды из клетки.

5. Имеется информация о том, что продукты деградации белков и липидов обладают свойствами активаторов и ингибиторов процессов метаболизма, оказывая влияние на рост и морфогенез растений.

В 1991 г. академиком Тарчевским выдвинута концепция о сигнальных свойствах олигомерных промежуточных продуктов катаболизма, реализуемых путем воздействия на транскрипцию, трансляцию или на активность ранее образованных молекул ферментов. Эти так называемые стрессовые метаболиты, подобно гормонам животных, оказываются способны выполнять регуляторную функцию в последующей перестройке обмена клеток и организма в целом на новый режим в экстремальных условиях существования. Мы рассмотрим эту концепцию более подробно немного позднее.

В первую фазу стресса происходят сдвиги в гормональном балансе. Возрастает интенсивность синтеза этилена и ингибиторов роста – абсцизовой и жасмоновой кислот. Количество гормонов, стимулирующих рост и развитие – ауксина, цитокинина, гиббереллинов, значительно уменьшается. Это ведет к торможению деления и роста клеток, а также роста всего растения. Таким образом, на первом этапе триады Селье у растений, в отличие от животных, происходит не активация, а торможение гормонального обмена.

Во второй фазе триады Селье – фазе адаптации – у растений на основании изменений, произошедших во время первой фазы, включаются главные механизмы адаптации. Они характеризуются снижением активности гидролитических и катаболических реакций и усилением процессов синтеза. При этом образовавшиеся в начале воздействия продукты распада способствуют «готовности» обмена к перестройке. Так, накопленный пролин

взаимодействует с поверхностными гидрофильными остатками белков и увеличивает их растворимость, защищая от денатурации. В результате клетка удерживает больше воды, что повышает жизнеспособность растений в условиях засухи, засоления, высокой температуры. Осмофильными свойствами обладает также осмотин. Продукты деградации гемицеллюлоз, пектиновых веществ – олигогликозиды индуцируют синтез фитоалексинов, выполняющих защитную функцию при инфекционном поражении растений. Образующиеся при распаде органических азотистых соединений полиамины способствуют снижению проницаемости мембран, ингибированию протеазной активности, снижению процессов перекисного окисления липидов, регуляции pH.

Происходит стабилизация мембран, в результате чего восстанавливается ионный транспорт. Повышаются активность функционирования митохондрий, хлоропластов и уровень энергообеспечения. Снижается генерация активных форм кислорода. Возрастает роль компенсаторных шунтовых механизмов, например, усиливается активность пентозофосфатного пути дыхания.

Что происходит на уровне целого организма?

Механизмы адаптации, свойственные клетке, дополняются новыми реакциями. Они основываются на конкурентных отношениях между органами за физиологически активные и питательные вещества и построены по принципу аттрагирующих центров. Такой механизм позволяет растению формировать в условиях стресса минимальное количество генеративных органов, которые могут быть обеспечены необходимыми веществами для созревания. Благодаря переброске питательных веществ из нижних листьев сохраняются жизнеспособными более молодые – верхние.

На популяционном уровне адаптация выражается в сохранении только тех индивидуумов, которые обладают широким диапазоном реакций на экстремальный фактор и, оказавшись генетически более успешными, способны дать потомство. В стрессовую реакцию включается естественный отбор, в результате которого появляются более приспособленные организмы и новые виды.

В период **третьей фазы** (фазы истощения) в условиях возрастания силы эффекта и постепенного истощения возможностей защиты организма также доминируют неспецифические реакции. При действии различных агентов разрушаются клеточные структуры. Наблюдается деструкция ядра, в хлоропластах происходит распад гран, в митохондриях уменьшается количество крист. Появляются дополнительные вакуоли, где обезвреживаются токсические вещества, образующиеся в результате изменений обмена в стрессовых условиях. Нарушение ультраструктуры основных энергетических генераторов – митохондрий и хлоропластов приводит к энергетическому истощению клетки, это влечет за собой сдвиги физико-химического состояния цитоплазмы. Эти сдвиги свидетельствуют о сильных, часто необратимых повреждениях клетки.

Некоторые исследователи предлагают дополнить триаду Селье еще одной фазой – назвав ее **фазой регенерации** (реституции), наступление которой возможно после удаления стрессора. Однако данный этап не может быть повторением второй фазы, поскольку к этому времени организм оказывается слишком ослабленным.

Необходимо отметить, что обычно стрессоры действуют не по одному, а в комплексе. Так, повышенная температура и интенсивная инсоляция сопровождаются засухой; при затоплении проявляется не только кислородная недостаточность, но и интоксикация ядовитыми соединениями; низкой температуре сопутствует слабая освещенность и избыток влаги и т.д.

К стрессу нельзя отнести такие обычные ритмические сдвиги метаболизма, как изменение скорости фотосинтеза, дыхания или транспирации при смене режимов освещения или других условий. Не относятся к стрессу и метаболические сдвиги во время цветения или плодоношения, а также при старении, хотя изменения обмена веществ в конце онтогенеза очень напоминают отмечающиеся при стрессе.

4. Типы повреждений растений под действием стрессоров

Когда стрессовый фактор действует на растение, он может вызывать повреждение различными путями:

1. Стресс может индуцировать прямое пластичное напряжение, которое вызывает повреждение. Это можно назвать **первичным стрессоповреждением**, которое выявляется по скорости его появления. Растение в этом случае может погибнуть за очень сжатое время (секунды или минуты). Например, быстрое замораживание, вызванное низкотемпературным стрессом. Если цитоплазма замерзает, ледовые кристаллы разрывают плазмалемму, вызывая мгновенную потерю полупроницаемости и смерть клетки.

2. Стресс может также вызывать эластичное напряжение, которое не вредно само по себе и является обратимым. Однако если оно сохраняется достаточно длительное время, эластичные (обратимые) изменения могут косвенно повышать пластичные (необратимые) изменения, приводящие к повреждению или смерти растения. Это называют **непрямым стрессоповреждением**. Непрямое повреждение выявляется по длительной экспозиции (часы и дни) в стрессовых условиях до повреждения. Например, когда некоторые растения слишком долго находятся при низкой температуре, это приводит их к замораживанию. В некоторых случаях изменения могут быть преимущественно эластичными, выражающимися в постепенном замедлении всех физических и химических процессов у растения, и поэтому быть не вредными. В других случаях такое замедление может вызвать нарушение клеточного метаболизма, которое приведет к недостатку метаболических соединений и продукции токсичных.

3. Стресс может повреждать растение не путем напряжения, которое он вызывает, а путем **вторичного стресса**. Например, высокая температура в ряде случаев может не быть повреждающей сама по себе, но может вызывать дефицит воды, который может повреждать растение. Поскольку вторичный стресс требует некоторое время для своего проявления, для развития

вторичного стрессового повреждения также требуется относительно длительная экспозиция растения в присутствии первичного стрессового фактора. Вторичный стресс в свою очередь может также вызывать прямое или не прямое повреждение и давать начало третичному стрессу и т.д.

Стрессы, которым могут быть подвержены растительные организмы, Дэвисон и Пирсон подразделяют на два типа: стресс лимитирования, вызванный неадекватным снабжением ресурсов (слабый свет или недостаток биогенов), и разрушительный, дисруптивный стресс, являющийся результатом повреждения, вызванного неблагоприятными условиями или перераспределением ресурсов, чтобы предотвратить повреждение.

5. Специфические и неспецифические стрессовые реакции

Уже много лет длится дискуссия о специфичности или неспецифичности наблюдаемых стрессовых реакций. Сторонники одной точки зрения считают, что при неблагоприятных условиях комплекс адаптивных реакций, протекающих в растении, носит универсальный неспецифический характер, и не зависит от природы действующего фактора (Удовенко, 1977; Батыгин, 1986). Сторонники другой точки зрения утверждают, что устойчивость растения определяют специфические приспособительные реакции, адекватные природе повреждающего фактора (Генкель, 1978).

В нашей стране учение о неспецифических ответах клеток на воздействие разнообразных факторов внешней среды было разработано Введенским, Насоновым и Александровым. Учение Введенского о парабиозе фактически служило предпосылкой становления теории неспецифического адаптационного синдрома.

Адаптация к одному из факторов может приводить в некоторых случаях к увеличению устойчивости только к одному фактору, а в других случаях растительный организм становится устойчивым одновременно и к другим

факторам среды. Существование такой «перекрестной» устойчивости служит важным аргументом в пользу универсального характера защитных реакций.

По мнению сторонников «специфической» концепции «перекрестная» устойчивость – это проявление устойчивости сопряженной (Генкель, 1979). При этом сопряжение может быть как положительным, так и отрицательным.

Трудно предположить, что клетка обладает специфической устойчивостью к веществу, которого она в природе не встречала. Механизмы реагирования живой системы на внешние воздействия подвергались в процессе эволюции естественному отбору и поэтому биохимическая стратегия адаптации растительной клетки должна быть однотипной и рациональной.

Таким образом, большинство наблюдаемых при стрессе реакций имеют неспецифический характер. Однако в ответ на действие стрессоров возникают и условно специфические реакции, характерные для конкретного стрессового воздействия. Например, увеличение концентрации ионов при засолении, пожелтение листьев (хлороз) при несбалансированном минеральном питании, разрастание корневой шейки при затоплении корней, усиление транспирации при засухе, синтез тех или иных стрессовых белков, например БТШ при перегреве или металлотионеинов и фитохелатинов при действии ТМ.

Самые разнообразные неблагоприятные факторы могут действовать длительное время или оказывают сравнительно кратковременное, но сильное влияние. В первом случае, как правило, в большей степени проявляются специфические механизмы устойчивости, а во втором – неспецифические.

Если акцентируют внимание на неспецифических признаках ответной реакции и подчеркивают их приспособительное значение, то наблюдаемую картину изменений называют «неспецифическим адаптационным синдромом» (на уровне клетки или организма).

Таким образом, **стресс у растения** – это интегральный (т.е. единый) ответ растительного организма на повреждающее действие, направленный на его выживание за счет мобилизации и формирования защитных систем.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Ипатова В.И. Адаптация водных растений к стрессовым факторам среды. – М.: Изд-во «Графикон-принт», 2005. – 224 с.
2. Кузнецов Вл. В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учебник. – М.: Высш. шк., 2006. – 742 с.
3. Полевой В.В. Физиология растений. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
4. Селье Г. На уровне целого организма. – М.: Наука, 1972. – 122 с.
5. Тарчевский И.А. Катаболизм и стресс растений. – М.: Наука, 1993. – 83 с.
6. Усманов И.Ю., Рахманкулова З.Ф., Кулагин А.Ю. Экологическая физиология растений: Учебник. – М.: Логос, 2001. – 224 с.
7. Физиология растений / Н.Д. Алехина, Ю.М. Балнокин, В.Ф. Гавриленко и др.; Под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издат. центр «Академия», 2005. – 635 с.
8. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб: Изд-во СПб ун-та, 2002. – 244 с.

Лекция 2. Общие механизмы устойчивости растений к стрессовым воздействиям. Адаптации и акклимации

1. Общие представления об устойчивости растений

Способность растения переносить действие неблагоприятных факторов и давать в таких условиях потомство называется ***устойчивостью*** или ***стресс-толерантностью***.

Таким образом, ***устойчивость*** – это способность растений сохранять постоянство внутренней среды (гомеостаз) и осуществлять жизненный цикл в условиях действия стрессоров.

Понятие «устойчивость» широко используется в физиологии растений. Как правило, при этом требуется уточнение, в отношении какого фактора устойчиво растение.

Можно говорить о жароустойчивости, холодоустойчивости, радиоустойчивости, устойчивости к осмотическому стрессу и т.д. Устойчивость растения можно испытать путем его выдерживания в стрессовых условиях, когда напряженность фактора, по отношению к которому испытывается устойчивость, находится у пределов, переносимых организмом.

Классифицируя устойчивость по отношению к внешним факторам, действующим на растение, можно говорить об устойчивости к химическим и физическим воздействиям. При этом следует иметь в виду, что в ряде случаев повреждение организма, вызываемое фактором физической природы, опосредуется химическими агентами, образующимися в растении при действии на него физического фактора. Например, действие на растение ионизирующей радиации, ультрафиолетовых лучей, высокой температуры связано с медиаторами химической природы.

Устойчивость растения к стрессовому воздействию зависит от фазы онтогенеза. Наиболее устойчивы растения, находящиеся в покое (в виде семян, луковиц). Наиболее чувствительны – растения в молодом возрасте, в период появления всходов. Затем по мере роста и развития устойчивость растений к стрессовым воздействиям постепенно возрастает вплоть до созревания семян. Однако период формирования гамет также является критическим, поскольку растения в это время высокочувствительны к стрессу и реагируют на действие стрессоров снижением продуктивности.

Действию стрессовых факторов подвергаются не только дикие, но и культурные растения. Любой экстремальный фактор оказывает отрицательное влияние на рост, накопление биомассы и урожай. Поэтому иногда говорят еще об *агрономической устойчивости*. Это способность растений давать высокий урожай в неблагоприятных условиях. Степень снижения урожая под влиянием стрессовых условий является показателем устойчивости к ним растений.

Кузнецов и Дмитриева, рассматривая природу общих механизмов устойчивости к большой группе стрессоров, вызывающих водный дефицит, выделяют три типа универсальных механизмов:

1. стресс-индуцированное новообразование макромолекул с защитными свойствами;
2. синтез совместимых осмолитов с множественными протекторными свойствами;
3. функционирование антиоксидантных систем.

Важную роль в устойчивости растений к действию стрессоров играет **адаптация** (от лат. adaptatio – приспособление). Адаптация и устойчивость тесно связаны.

Тема адаптации – одна из центральных в биологии. В литературе по вопросам адаптации чаще всего обсуждаются высокоспециализированные приспособления на физиологическом, морфологическом, поведенческом и других уровнях.

Адаптация отражает, с одной стороны, устойчивость биологических систем к условиям среды, а с другой, – процесс приспособления живых организмов к постоянно изменяющимся условиям среды.

2. Понятие «адаптация». Классификации адаптаций

Существуют разные подходы к определению термина «адаптация», например:

Адаптация (Кузнецов) – это генетически детерминированный процесс формирования защитных систем, обеспечивающих повышение устойчивости и протекание онтогенеза в ранее неблагоприятных для него условиях.

Адаптация (Усманов) – совокупность морфологических, физиологических и биохимических первичных приспособительных реакций, обеспечивающих возможность видоспецифического выживания растений при

действии вертикальных и горизонтальных биотических связей, а также неблагоприятных для данного вида условий среды.

Адаптация является одним из важнейших механизмов, который повышает устойчивость биологической системы в изменившихся условиях существования. Чем лучше организм адаптирован к какому-то фактору, тем он устойчивее к его колебаниям.

Адаптация включает в себя все процессы (анатомические, морфологические, физиологические, поведенческие и др.), которые способствуют повышению устойчивости и способствуют выживанию вида (рис. 3).

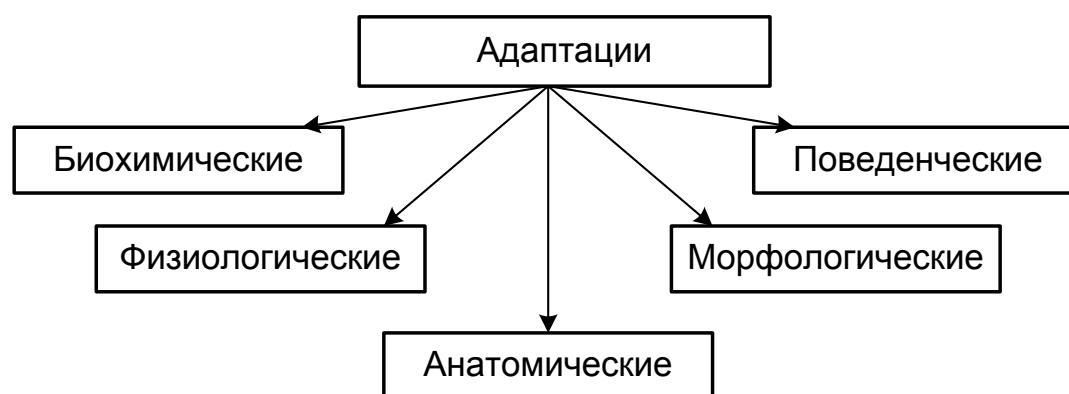


Рис. 3. Типы адаптаций в зависимости от механизмов

Выбор растением стратегии адаптации зависит от многих факторов. Однако ключевым фактором является время, предоставляемое организму для ответа. Чем больше времени, тем больше выбор возможных стратегий. При внезапном действии экстремального фактора ответ должен последовать незамедлительно. В соответствии с этим различают три главные стратегии адаптации: эволюционные, онтогенетические и срочные.

Эволюционные (филогенетические) адаптации – это адаптации, возникающие в ходе эволюционного процесса на основе генетических мутаций, отбора и передающиеся по наследству. Результатом таких адаптаций является

оптимальная подгонка организма к среде обитания. Системы выживания, сформированные в процессе эволюции, наиболее надежны. Они, как правило, функционируют в течение всего онтогенеза не только в стрессорных, но и в оптимальных условиях.

Однако изменения условий среды, как правило, являются слишком быстрыми для возникновения эволюционных приспособлений. В этих случаях растения используют не постоянные, а индуцируемые стрессором защитные механизмы, формирование которых генетически предопределено (детерминировано). В образовании таких защитных систем лежит изменение дифференциальной экспрессии генов.

Онтогенетические (фенотипические) адаптации обеспечивают выживание данного организма. Они не связаны с генетическими мутациями и не передаются по наследству. Формирование такого рода адаптаций требует сравнительно много времени, поэтому их называют долговременными адаптациями. Классическим примером подобных адаптаций является переход некоторых C_3 -растений на САМ-тип фотосинтеза, помогающий экономить воду, в ответ на засоление и водный дефицит.

Поскольку организмы обладают способностью к адаптации, то при адаптации к стрессовому фактору может увеличиваться эластичная и пластичная устойчивость растений к нему. Что это такое?

Эластичная устойчивость является мерой способности организма предупреждать обратимые физико-химические изменения при действии стрессора. А **пластичная устойчивость** – мера способности организма предупреждать необратимое (пластичное) напряжение, т.е. физико-химические повреждения.

Адаптация может быть стабильной, закрепляясь в процессе эволюции в ряде поколений, или нестабильной, зависящей от стадии развития организма и факторов окружающей среды. Адаптация, которая приводит к увеличению пластичной устойчивости, предохраняет организм от повреждения стрессором, который вызывает повреждения у неадаптированного организма. Этот тип

адаптации назван **«resistance adaptation»** (адаптация к экстремальным воздействиям фактора среды). Такая адаптация подразумевает устойчивость к повреждению при действии стрессового фактора, но если оно продолжается достаточно долго, то оно может приводить к повреждению и смерти организма.

Способность организма жить, расти и размножаться в присутствии стрессового фактора была названа **«capacity adaptation»** (адаптация к умеренным воздействиям фактора среды). Оба пути адаптации включают устойчивость к стрессу, с одной стороны, к пластичному напряжению, а с другой, – к эластичному. Поэтому иногда их еще называют эластичная и пластичная адаптации.

В эколого-физиологических исследованиях различают **толерантность** и **резистентность** организма по отношению к факторам среды. Организм способен жить в определенных условиях внешней среды. Абиотические факторы среды имеют минимальные и максимальные значения, за пределами которых организм погибает. Эти значения являются пороговыми, при которых еще возможна жизнь данного конкретного вида. Они определяют нижнюю и верхнюю границы его толерантной зоны, уровни которой очень часто выходят за область оптимальных значений. В пределах толерантной зоны, которые обусловлены генотипом, колебания фактора не грозят организму гибелью. Организм, как правило, не использует все свои потенциальные возможности и функционирует в зоне более узкой, чем это позволяет генотип. За пределами зоны толерантности находится зона резистентности – зона действия летальных уровней воздействия, зона смерти.

В соответствии с этим выделяют приспособления к умеренным воздействиям, т.е. **зону толерантности**, и адаптации к экстремальным воздействиям, т.е. **зону резистентности**.

Адаптация в зоне толерантности базируется на изменении метаболизма и энзиматической активности, которое может происходить как под влиянием изменившейся активности генетического аппарата организма, так и в результате непосредственного влияния на активность метаболизма

изменившегося фактора. Именно в пределах зоны толерантности работают механизмы физиологической адаптации, способствующие проявлению потенциальных возможностей генотипа. В зоне же резистентности организм работает не на нормализацию метаболизма, а на репарацию повреждения и увеличение времени жизни клеток при экстремальных изменениях условий среды.

3. Основные пути адаптаций растений к стрессорам

Срочная адаптация. В основе ее лежит образование и функционирование шоковых защитных систем, происходит при быстрых и интенсивных изменениях условий обитания. Эти системы обеспечивают лишь кратковременное выживание при повреждающем действии фактора и тем самым создают условия для формирования более надежных долговременных механизмов адаптации. К шоковым защитным системам относятся, например, система теплового шока, которая образуется в ответ на быстрое повышение температуры.

На всех этапах влияния стрессора отмечаются неспецифические реакции. Раньше других исследователей была предложена адаптивная стратегия Левитта, в основе которой лежат попытки организма или избежать неблагоприятного влияния для того, чтобы сохранить динамическое равновесие без серьезных отклонений от обычных условий, или приспособиться к нему (рис. 4).

Уход от воздействия может быть обеспечен, например, образованием поверхностной корневой системы при недостатке кислорода, опушенностью листьев, их редукцией, опадением, закрыванием устьиц для снижения потери воды при засухе и т.д. Если уклониться от стресса невозможно, то организм идет по пути приспособления к стрессовому фактору.

Один из путей приспособления состоит в торможении обмена веществ, поскольку при этом чувствительность объекта падает. Другой путь – изменение обмена веществ, т.е. возникновение метаболических приспособлений.

Последние требуют больших энергетических затрат, т.к. связаны с включением репараторных механизмов, направленных на предотвращение или исправление повреждения.

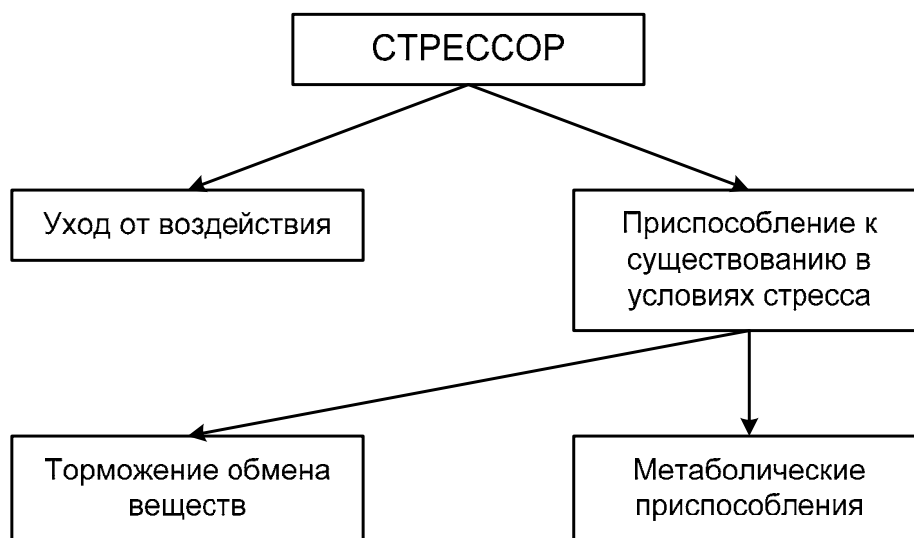


Рис. 4. Пути адаптации растений к стрессорам (по Чирковой, 2002)

Таким образом, все адаптации можно разделить на два принципиально различных типа: *пассивная адаптация и активная.*

Пассивная адаптация – «уход» от повреждающего действия стрессора или сосуществование с ним. Этот тип адаптации имеет огромное значение для растений, поскольку, в отличие от животных, они не способны убежать или спрятаться от действия вредного фактора. К пассивным адаптациям относятся, например, переход в состояние покоя, способность растений изолировать «агрессивные» соединения, такие как ТМ в стареющих органах, тканях или вакуолях, т.е. сосуществовать с ними.

Активная адаптация – формирование защитных механизмов. При этом обязательным условием выживания является индукция синтеза ферментов с новыми свойствами или новых белков, обеспечивающих защиту клетки и протекание метаболизма в ранее непригодных условиях. Конечным результатом такой адаптации является расширение экологических границ жизни растения.

Растения часто используют как активные, так и пассивные пути адаптации.

В процессе адаптации растения к различным стрессорам можно выделить два этапа (рис. 5):

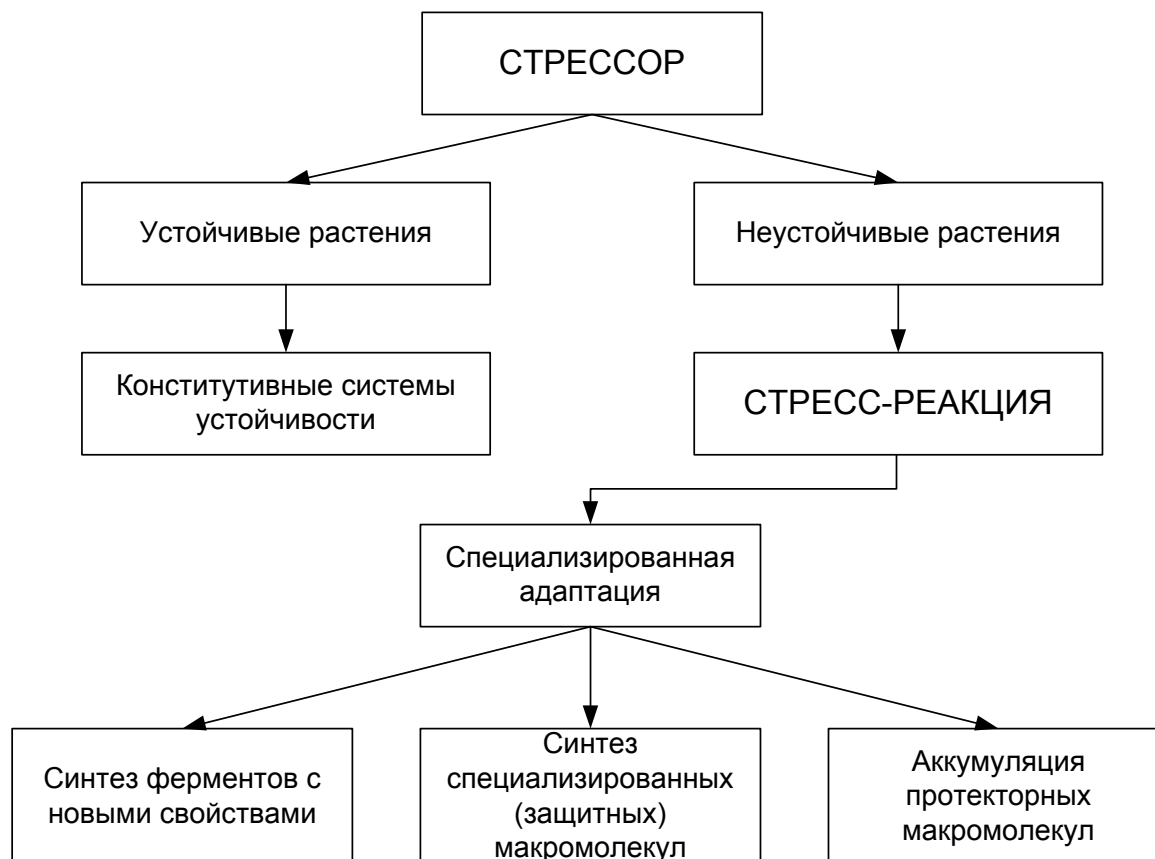


Рис. 5. Адаптивный ответ конститутивно устойчивых и неустойчивых растений (по Кузнецову и Дмитриевой, 2006)

1. быстрый первичный ответ (**стресс-реакция**), который обеспечивает кратковременную защиту организма от гибели за счет включения быстрых защитных механизмов и обеспечивает временной промежуток для формирования более надежных и более эффективных защитных механизмов;

2. значительно более длительный этап (**специализированная адаптация**), на протяжении которого синтезируются новые энзимы или стрессорные белки, обеспечивающие протекание метаболизма в изменившихся условиях.

Если действие стрессорного фактора прекращается, растительный организм постепенно восстанавливается. Если воздействие стрессора превышает защитные возможности организма, то повреждение растения усиливается и наступает смерть.

4. Акклимация и акклиматизация

Кроме понятия адаптация, есть еще понятие **акклимация**, которое отражает ответные реакции, позволяющие растениям приспосабливаться к новым стрессовым условиям. Они затрагивают изменения в экспрессии генов, метаболизме, физиологических функциях и гомеостазе. Иными словами, это закаливание растений.

При закаливании растения проходят фазу эустресса, во время действия которого закладываются механизмы адаптации.

При закалках проявляется неспецифическая устойчивость, поэтому закаливание к одному агенту может повышать стойкость и к некоторым другим стрессорам. Генкель назвал это явление **сопряженной устойчивостью**. Например, закаливание озимой пшеницы при низкой температуре ведет к возрастанию стойкости ее к недостатку кислорода, который испытывают растения при образовании на озимых посевах ледяной корки. В настоящее время для обозначения этого явления используют также термин **«кросс-адаптация»**.

Некоторые авторы помимо понятия «акклимация» используют понятие «акклиматизация». Согласно Проссеру (Prosser, 1973), **акклиматизация** – это такой адаптивный процесс, при котором организм приспосабливается к изменению нескольких параметров окружающей естественной среды, в то время как **акклимация** – это приспособление, наблюдаемое в лабораторных условиях, где все параметры среды, за исключением какого-то одного, поддерживаются на неизменном уровне.

Адаптивные реакции этих типов происходят у отдельных особей, но требуют все же достаточного времени. Главное отличие этих адаптивных реакций от генетической адаптации состоит в том, что они протекают исключительно на фенотипическом уровне. Для приспособления организма к изменениям среды в этом случае может использоваться только та информация, которая уже содержалась в его геноме с самых первых дней жизни.

5. Понятие «надежности» живых систем

Успешное произрастание растения в тех или иных условиях определяется его надежностью, которая охватывает и устойчивость к экологическим факторам, и адаптацию, благодаря которой область надежности может расширяться.

По мнению Гродзинского, понятие «*надежность*» является более общим по сравнению с понятием «*устойчивость*». Различия между терминами «надежность» и «устойчивость» проявляются в следующем: надежность характеризуется низкой частотой отказов во всем интервале колебаний факторов среды, устойчивость определяется выживаемостью растений в крайних условиях жизни.

Как отмечает Гродзинский, *надежность* обеспечивается разнообразными механизмами, благодаря которым биологическая система может выполнять полный цикл функций организма и тем самым сохранять существование популяции и вида как исторической категории. Раскрытие механизмов надежности состоит в выяснении особенностей строения, организации функций и специальных систем, которые обеспечивают безотказность биологической системы.

Механизмы надежности носят более фундаментальный характер, чем механизмы устойчивости организма к отдельным факторам. Системы, обеспечивающие устойчивость, по-видимому, дополняют системы надежности, благодаря чему расширяются приспособительные возможности организма,

становится более широким распространение вида, возникают предпосылки для его прогрессивной эволюции.

Среди физико-химических и биотических факторов окружающей среды следует различать естественные факторы, которые сопутствовали виду в процессе его эволюции, и искусственные, которые не могли принимать участие в становлении вида.

Очевидно, проявление устойчивости растения к искусственным факторам обусловлено функционированием неспецифических систем надежности либо механизмов устойчивости по отношению к естественным факторам. В основе устойчивости к искусственным факторам может лежать сходство форм начальных повреждений, которые вызываются естественными и искусственными факторами.

Следует также различать формы устойчивости растений по характеру действия факторов; действие фактора может продолжаться длительное время, например, длительная атмосферная засуха, долго продолжающееся понижение температуры, продолжительное нахождение растения в условиях засоления и т.п. либо резкое повышение напряженности неблагоприятного фактора за сравнительно короткий промежуток времен, например, суховей, острое облучение ионизирующей радиацией, резкое кратковременное понижение температуры и т.п. По мнению Гродзинского, механизмы устойчивости растений к хроническому действию фактора и к стрессовым нагрузкам различны. Организм, устойчивый к фактору при хроническом его действии, может оказаться неустойчивым к нему при стрессовых нагрузках. В связи с этим необходимо отдельно исследовать устойчивость к стрессовым нагрузкам и к хроническому действию неблагоприятных факторов.

Различие между устойчивостью к стрессовым и хроническим нагрузкам фактора обусловлено сложностью природы устойчивости, которая способна формироваться и перестраиваться в процессе действия неблагоприятного фактора. Системы устойчивости могут характеризоваться той или иной мерой

динамичности, и, очевидно, именно эта динамичность обеспечивает надежность организма.

Все виды устойчивости часто рассматриваются как частные проявления общих принципов надежности живой системы. При усилении действия стрессоров увеличивается частота нарушений в работе систем жизнеобеспечения, что свидетельствует о снижении надежности организма.

Надежность живых систем обеспечивается их:

- гибкостью;
- регуляторность;
- целесообразностью;
- мультифункциональностью.

В небиологических же системах надежность обычно связывают с прочностью и жесткостью связей. В результате живые системы оказываются более надежными, чем неживые.

Различают несколько **видов надежности**.

1. Стабилизирующая надежность: отдельные системы клетки характеризуются высокой степенью безотказности функционирования. В технике стабилизирующая надежность ассоциируется с прочностью, а в биологии с устойчивостью.

2. Восстанавливающая надежность, которая обеспечивается системами, обнаруживающими и устраняющими нарушения физиологических функций.

3. Адаптационные системы, с помощью которых осуществляется приспособление организма к изменяющимся условиям существования в онтогенезе растений.

Системы надежности необходимо рассматривать на разных уровнях организации – на субклеточном, уровне клетки, ткани, организма, в фитоценозе. На любом уровне **способы обеспечения надежности** одни и те же.

1. Резервирование, т.е. избыточность структурных или функциональных возможностей клетки.

2. Гетерогенность компонентов, свидетельствующая о лабильности живых систем в отличие от технических устройств.

3. Репарация, т.е. способность к восстановлению нарушенных функций.

В самом общем виде функционирование систем надежности можно охарактеризовать следующим образом: системы надежности опознают тип отказа, исправляют его либо элиминируют отказавшие элементы, блокируя развитие производного отказа на соседних уровнях.

Системы надежности – это разнообразные по природе системы клетки, ткани, органа, организма и вида, которые предотвращают возникновение отказов, ликвидируют отказы, блокируют развитие их последствий и контролируют точность регуляторных механизмов.

Рассмотрим, как эти способы обеспечивают надежность систем на разных уровнях организации.

На *субклеточном уровне* повышению надежности растительного организма способствуют резервирование и дублирование генетического материала, что обеспечивается, например, двойной спиралью ДНК, увеличением ploидности. Благодаря разнообразным молекулам иРНК образуются гетерогенные полипептиды, что повышает надежность клетки в изменившихся условиях среды. Восстановлению нарушенных функций помогает механизм поиска повреждений – коррекции ДНК.

На *уровне клеток*, по-видимому, функционируют системы надежности, гарантирующие своевременность вхождения клеток в отдельные фазы клеточного цикла, переход к дифференциации и специализации, а в случае необходимости – к дедифференцировке.

Надежности функционирования целой клетки способствуют также избыточное, по сравнению с необходимым для нормальной жизнедеятельности, содержание веществ; многообразные анаплеротические пути метаболизма, пространственное разобщение запасов соединений, обеспечивающих отдельные метаболические системы клетки.

Репарация нарушений в клетке достигается устранением возникших сбоев не только после, но и до воздействия и повышением устойчивости. Механизм репарации может быть связан, например, с обновлением белка или синтезом стрессовых белков.

На *уровне ткани* надежность обеспечивается системой межклеточных взаимодействий, определяющей функциональный гомеостаз ткани в отношении временной развертки морфогенеза и выполнения текущих функций.

К системам надежности можно отнести также синтез и накопление в тканях определенных веществ – фитоалексинов, фитонцидов и др., повышающих выживаемость и защитные свойства растения, а также морфологические приспособления, благодаря которым растения отличаются повышенной надежностью.

Появление многоклеточного организма в процессе эволюции означало повышение надежности. Способы проявления надежности *на уровне организма* выражаются в развитии замещающих побегов, пробуждения пазушных почек, в закладке большего, чем требуется для смены поколений, числа побегов, цветков, пыльцы, колосков, семян.

Таким образом, понятия адаптация, устойчивость и надежность тесно связаны. В ответных реакциях растений на повреждающие факторы выделяют элементы неспецифической устойчивости, включающиеся в самых различных стрессовых ситуациях (синтез белков теплового шока, компонентов антиоксидантной системы и др.) и специфические процессы, инициируемые в растении только определенным типом стрессовых воздействий (синтез белков-антифризов, металлотионеинов и фитохелатинов, переключение фотосинтеза на САМ-метаболизм и др.).

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Генкель П.А. О сопряженной и конвергентной устойчивости растений // Физиология растений. – 1979. – Т. 26. – Вып. 5. – С. 921-929.

2. Гродзинский Д.М. Надежность растительных систем. – Киев: Наук. думка, 1983. – 368 с.
3. Ипатова В.И. Адаптация водных растений к стрессовым факторам среды. – М.: Изд-во «Графикон-принт», 2005. – 224 с.
4. Кузнецов Вл. В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учебник. – М.: Высш. шк., 2006. – 742 с.
5. Медведев С.С. Физиология растений: Учебник. – СПб: Изд-во С.-Петербург. Ун-та, 2004. – 336 с.
6. Полевой В.В. Физиология растений. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
7. Усманов И.Ю., Рахманкулова З.Ф., Кулагин А.Ю. Экологическая физиология растений: Учебник. – М.: Логос, 2001. – 224 с.
8. Физиология растений / Н.Д. Алехина, Ю.М. Балнокин, В.Ф. Гавриленко и др.; Под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издат. центр «Академия», 2005. – 635 с.
9. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. – М.: Мир, 1988. – 568 с.
10. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб: Изд-во СПб ун-та, 2002. – 244 с.

Лекция 3. Регуляция стрессовых реакций у растений

1. Системы регуляции у растений

Подавляющая часть клеточных механизмов устойчивости сформировалась на ранних этапах эволюции, поэтому защитные системы у высших растений и более примитивных организмов имеют общую основу.

Изменения в метаболизме, физиологических функциях и ростовых процессах при стрессах, прежде всего, связаны с изменениями в экспрессии генов. Ответ на действие стрессора происходит, если растение распознает стрессор на клеточном уровне. Распознавание стрессора, т.е. рецепция сигнала, приводит к активации пути передачи сигнала. Последний поступает в геном,

индуцируя или подавляя синтез тех или иных белков. Связанные с экспрессией генов ответные реакции клеток на действие стрессора интегрируются в ответ целого растения, который выражается, например, в ингибировании роста и развития растения и одновременно в повышении его устойчивости к действию стрессора.

Во время переключения обмена веществ на новый режим при стрессовых воздействиях резервные возможности организма объединяются благодаря системам регуляции (рис. 6).



Рис. 6. Системы регуляции у растений (по Чирковой, 2002)

Для координации функциональной активности клетки в нормальных и неблагоприятных условиях среды необходим аппарат регуляции, включающий тесно связанные между собой генетическую, метаболическую (ферментную) и мембранную системы. Эти системы тесно связаны между собой. Например, свойства мембран зависят от генной активности, а дифференциальная активность самих генов находится под контролем мембран.

Внутриклеточные системы передачи сигнала

В клетке растения есть несколько систем передачи информации. В настоящее время они активно исследуются. Общая картина передачи информации внутри клетки от внеклеточного сигнала к эффектору пока изучена не до конца. В основе всех форм внутриклеточной регуляции лежит

единый принцип – белковая молекула-рецептор «узнает» специфический для нее фактор, и, взаимодействуя с ним, изменяет свою конфигурацию. Существует 3 основных типа рецепторов, интегрированных во внешнюю клеточную мембрану:

1. рецепторы, сопряженные с G-белками;
2. рецепторы, ассоциированные с ферментами;
3. рецепторы – ионные каналы.

Рецепторы, сопряженные с G-белками (GPCR-G-protein coupled receptor), передают сигнал к внутренним мишеням с помощью каскада: Рецептор (GPCR-G-protein coupled receptor) – G-белок – эффекторный белок (рис. 7).

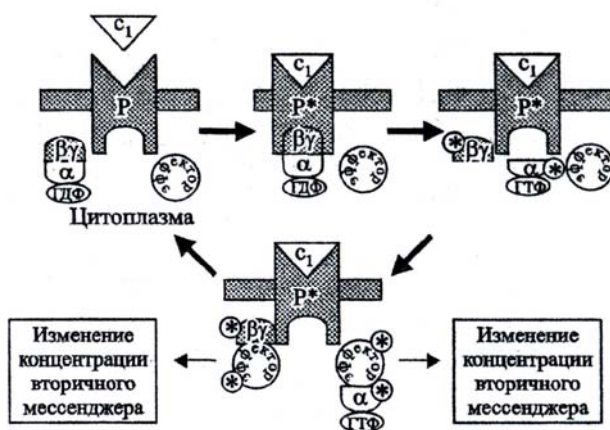


Рис. 7. Рецепторы, сопряженные с G-белками (по Чирковой, 2002)

Эти ГТФ-связывающие белки изменяют свою конформацию при связывании с ГТФ или ГДФ. Они изучены в основном на животных. Они представляют собой гетеротримерные белки и состоят в основном из 3-х субъединиц: $G\alpha$, $G\beta$, $G\gamma$ (рис. 8).

Тримеры могут взаимодействовать с рецептором. Субъединица $G\alpha$ имеет связывающие центры и с ГТФ и с ГДФ. Связывание с ГТФ ведет к изменению конформации этой субъединицы и отделению ее от тримера. Связанная с ГТФ субъединица $G\alpha$ функционирует как активатор ферментов, играющих роль посредников в передаче сигналов.

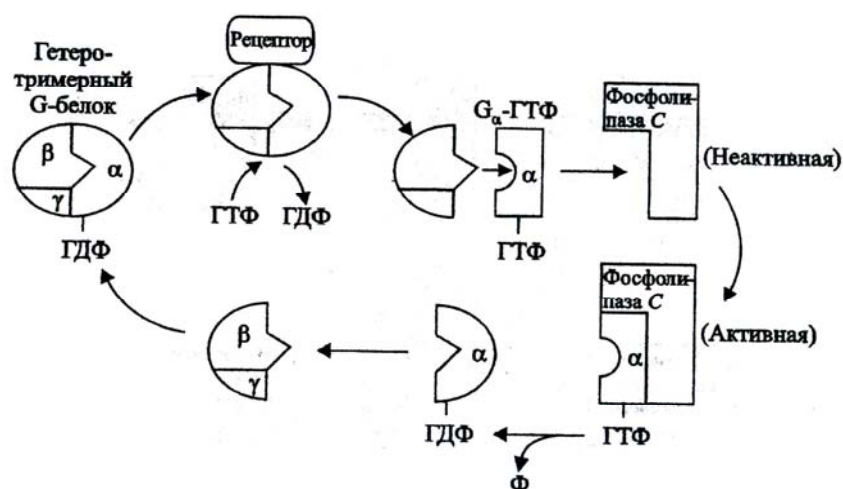


Рис. 8. Схема функционирования G-белка по аналогии с метаболизмом животных (по Чирковой, 2002)

Так, в животных клетках, связанная с ГТФ субъединица стимулирует аденилатциклазу, катализирующую синтез цАМФ из АТФ. Однако у растений участие цАМФ в сигнальной трансдукции точно не установлено. Может произойти активирование ГТФ-зависимой $G\alpha$ фосфолипазы С. С активированием фосфолипазы С связано освобождение кальция как посредника сигнальной трансдукции. Связь субъединицы $G\alpha$ с ГТФ уже через несколько минут гидролизуется ГТФазой до ГДФ, в результате меняется конформационное состояние белка и его активаторная функция теряется. Однако $G\alpha$ может снова войти в состав тримера, и цикл будет повторен.

Рецепторы, сопряженные с G-белками, представляют собой мономерные интегральные белки, полипептидная цепь которых несколько раз пересекает клеточную мембрану. Во всех случаях участок рецептора, ответственный за взаимодействие с первичным сигналом, локализован на внешней стороне мембраны, а участок, контактирующий с G-белком, на ее цитоплазматической стороне.

У рецепторов, ассоциированных с ферментом, участок для связывания первичного сигнала локализован на той стороне, которая обращена во внеклеточное пространство. По механизму взаимодействия с

цитоплазматическими мишенями эти рецепторы разделяются на **2 группы** (рис. 9):

1. Рецепторы, у которых каталитический участок, активируемый при действии внешнего сигнала, находится на цитоплазматической стороне, рис. 9а. Рецепторы данного типа участвуют в регуляции водно-солевого обмена.

2. Рецепторы второй группы собственной ферментативной активностью не обладают, рис. 9б.

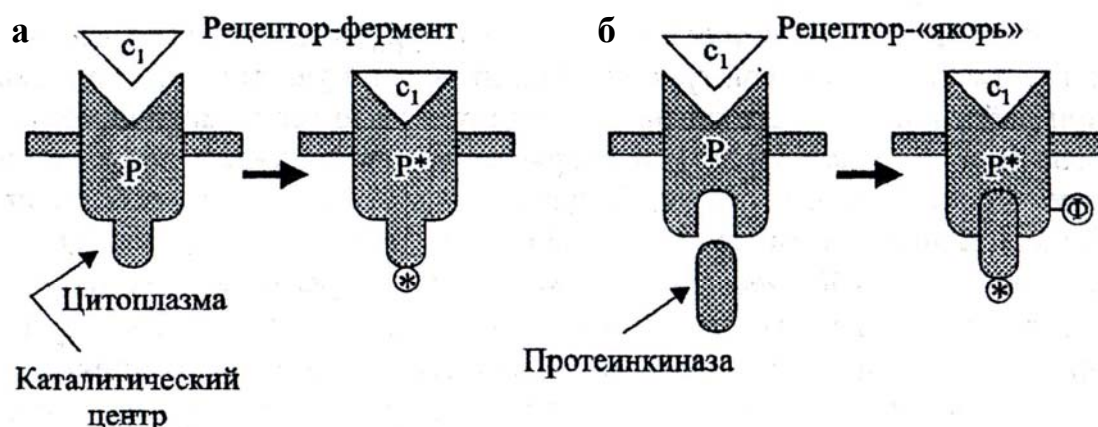


Рис. 9. Рецепторы, ассоциированные с ферментами (по Чирковой, 2002)

Однако под действием внешнего сигнала они приобретают способность связывать цитоплазматические (нерецепторные) протеинтирозинкиназы, которые в свободном состоянии неактивны, но в комплексе с рецептором активируются и фосфорилируют его. Включение фосфатных остатков в такой рецептор-«якорь» создает условия для связывания с ним других белков-мишеней, которые также фосфорилируются и тем самым передают сигнал дальше.

Рецепторы – ионные каналы. Это интегральные мембранные белки, состоящие из нескольких субъединиц, полипептидная цепь которых несколько раз пересекает мембрану. Они действуют одновременно как ионные каналы и как рецепторы, которые способны специфически связывать с внешней стороны первичные сигналы, изменяющие их ионную проводимость (рис. 10).

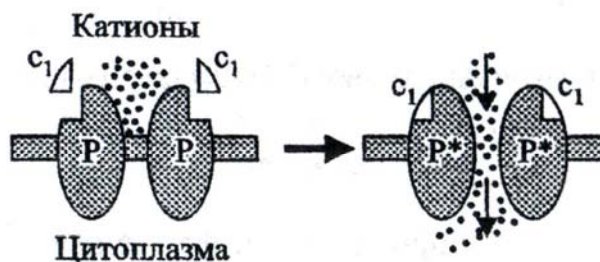


Рис. 10. Рецепторы – ионные каналы (по Чирковой, 2002)

В отсутствие сигнала канал закрыт, он открывается при связывании с рецептором. Таким образом, вещества, инициирующие трансмембранную передачу сигналов, активируют рецепторы, после чего активированный рецептор передает сигнал к внутриклеточным мишеням. Если мишень или эффекторный белок представлен ферментом, то сигнал увеличивает или уменьшает его каталитическую активность. Если эффекторным белком служит ионный канал, то увеличивается или уменьшается проводимость этого канала. Во всех случаях результатом будет изменение активности какой-то метаболической стадии либо концентрации в цитоплазме того или иного иона, и, как следствие, возникновение клеточного ответа.

2. Способы передачи сигнала

Система передачи молекулярного сигнала гормональной или гормоноподобной природы

Среди последних можно выделить гормон-связывающие белки, которые могут быть локализованы как на мембране, так и внутри клетки, в ядре и цитоплазме. Соединяясь с гормоном, эти гормон-связывающие белки активизируются. В активной форме они могут прямо влиять на различные геномные, мембранные и ферментативные эффекторы. Кроме того, могут действовать опосредованно через вторичные мессенджеры. Таким образом, происходит активация многочисленных ферментативных систем.

Аденилатциклазная система

Циклическая аденозинмонофосфатная-мессенджерная система передает экстраклеточный сигнал в клетку, усиливает этот сигнал и активизирует ряд универсальных клеточных процессов, в результате которых индуцируется фосфорилирование пептидов. Экстраклеточный сигнал может быть гормональной, метаболической или физической природы. Активизированный экстраклеточным гормоном рецепторный гормон-связывающий мембранный белок меняет конфигурацию G-белка, который активизирует аденилатциклазу. Аденилатциклаза синтезирует цАМФ, которая в свою очередь активизирует циклические АМФ-зависимые киназы, фосфорилирующие белки. Процесс фосфорилирования зависит от концентрации цАМФ – при низких концентрациях (1 мкМ) фосфорилируются преимущественно низкомолекулярные пептиды, при высоких (1 мМ) – средне и высокомолекулярные пептиды.

Активизация протеинкиназ цАМФ находится под контролем нескольких систем, существенное влияние на этот процесс оказывают температура, фитогормоны, соли ТМ, ионы кальция, ферменты фосфопроteinфосфатазы, которые дефосфорилируют ранее фосфорилированные белки, т.е. их инактивируют. Еще более усложняет картину взаимодействие цАМФ-системы с другими сигнальными системами, в том числе кальция как вторичного мессенджера.

Ca²⁺-кальмодулиновая система

Кальций – один из немногих макроэлементов, концентрация которого в цитозоле поддерживается на уровне, сопоставимом с содержанием фитогормонов: 10^{-6} - 10^{-7} М, в то время как наружная концентрация вблизи мембраны составляет около 10^{-3} М. Такая низкая концентрация в клетке уже предполагает возможную высокую биологическую активность кальция. Концентрация кальция более высока в митохондриях, ЭПС, и, вероятно, в хлоропластах. Другим способом хранения связанного кальция являются гранулы оксалата кальция в вакуолях.

Кальций является вторичным мессенджером. Его свойства, а именно – небольшая молекулярная масса, по сравнению с биополимерами, позволяет с высокой скоростью перемещаться в цитоплазме.

Кроме того, мессенджер обладает способностью быстро расщепляться или удаляться. Иначе сигнальная система может остаться во включенном состоянии после того, как действие внешнего сигнала прекратиться.

Сигналы индуцируют открытие кальциевых каналов, концентрация кальция в цитозоле резко возрастает, что стимулирует активность почти всех участвующих в регуляции ферментов. Снижение концентрации кальция в цитоплазме обеспечивается благодаря работе АТФ-зависимых кальциевых насосов, которые способствуют накоплению кальция в вакуоли или транспорту через плазмалемму в клеточную стенку (рис. 11).

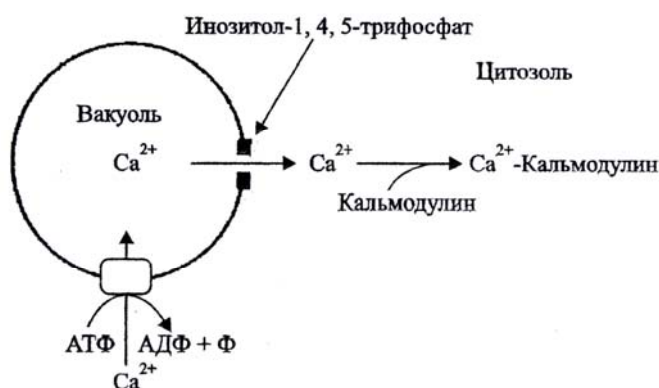


Рис. 11. Действие АТФ-зависимого транслокатора ионов Ca^{2+}
(по Чирковой, 2002)

Роль фосфоинозитольного пути. Кальциевые каналы контролируются фосфоинозитольным каскадом сигнальной трансдукции. Фосфатидилинозитол – это компонент мембран, в животных клетках включает 2 жирных кислоты – стеариновую и арахидоновую. Фосфолипаза С, активированная G-белком, расщепляет липид на 2 компонента – 1,4,5-трифосфат и диацилглицерол. Эти соединения также участвуют в сигнальной трансдукции. 1,4,5-трифосфат

открывает кальциевые каналы, а диацилглицерол активирует Ca^{2+} -зависимую протеинкиназу.

Часто кальций действует как посредник только при взаимодействии с кальмодулином, растворимым цитозольным белком. Проникая в клетку через специфический Ca^{2+} -канал, он связывается с белком кальмодулином, образуя Ca^{2+} -кальмодулиновый комплекс. Кальмодулин – особый белок, с массой 16.7-18 кД, он практически одинаков у микроорганизмов, животных, растений. Кальмодулин состоит из двух доменов, связанных гибкой альфа-спиралью (рис. 12). Каждый домен содержит два центра связывания кальция. Этот комплекс может взаимодействовать с большим числом ферментативных систем, что в свою очередь может приводить к изменению метаболических процессов в клетке. Например, взаимодействие кальция со всеми четырьмя связывающими его центрами приводит к изменению конформации кальмодулина, в результате он образует комплекс с протеинкиназами, которые, в свою очередь, активируются.



Рис. 12. Роль кальмодулина в активации протеинкиназ

Другие ферменты, которые изменяют свою активность под действием системы Ca^{2+} -кальмодулин: аденилатциклаза, НАД-киназа, Са-АТФ-азы, H^+ -АТФ-азы, фосфолипаза A_2 , фосфорилаза киназа, НАД-оксидоредуктаза; мембранное фосфорилирование.

Роль фосфорилирования белков. Протеинкиназы и фосфатазы – важные элементы регуляции внутриклеточных процессов. Поскольку белки изменяют конформацию в зависимости от фосфорилирования или дефосфорилирования,

эффективность и функциональная роль многих протеинкиназ также зависят от фосфорилирования. В регуляторных процессах протеинкиназы образуют каскад взаимосвязанных реакций.

Известны:

1. протеинкиназы А – это циклические АМФ-зависимые, которые относятся к аденилатциклазному сигнальному каскаду;
2. протеинкиназы С – Ca^{2+} -фосфолипидзависимые пируваткиназы, активируемые диацилглицеролом, ионами Ca^{2+} и фосфолипидами и включенные в фосфоинозитольный каскад;
3. протеинкиназы G – циклические ГМФ-зависимые;
4. протеинкиназы Ca^{2+} -кальмодулинзависимые.

Киназы MAP-киназного каскада работают следующим образом: митоген-активируемая протеинкиназа (МАРК) активируется МАРК-зависимой протеинкиназой (МАРКК), а последняя активируется МАРК-зависимой протеинкиназой пируваткиназой (МАРККК).

Система Са-кальмодулин, как и аденилатциклазная система, контролируется различными активаторами и ингибиторами. В первую очередь таким регулятором является собственно концентрация кальция, которая находится под строгим контролем различных механизмов поддержания его концентрации: Na/Ca-обменника, Са-каналов (Са-АТФ-азы), локализованных на плазмалемме и внутри клеточных компартментов или химической модификации связанных форм кальция. Система кальциевых каналов в клетке очень сложна. Известно, что существует несколько типов Са-каналов, которые контролируются уровнем электрического потенциала на мембране, pH, содержанием гормонов и других экстраклеточных и внутриклеточных факторов.

Выделено несколько систем антагонистов системы Са-кальмодулина. Первая группа – фенотиазины, из которых трифлуоперазин, антидепрессант в фармакологии, связан с регуляцией неспецифических мембранных эффектов. Другая группа – бета-эндорфин и кальмидазолиум – более специфичны, и,

предположительно, могут ингибировать связанное с действием Са-кальмодулином старение листьев.

Продукты катаболизма

Согласно концепции академика Тарчевского (Тарчевский, 1991), продукты катаболизма, возникающие при стрессе, являются регуляторами синтетических процессов в клетке. Разрушение молекул под влиянием внешних факторов является сигналом о неблагополучии, и ответ на этот сигнал – коррекция синтетических процессов. К таким веществам относятся продукты деградации биополимеров – олигонуклеотиды, олигопептиды, олигосахара, а также оксигенированные продукты метаболизма липидов. Кроме того, в условиях стресса регуляторное влияние могут оказывать аминокислоты, ацетилхолин, катехоламины, серотонин, гистамин, фенольные соединения, некоторые жирные кислоты, янтарная и травматиновая кислоты, а также продукты катаболизма фитогормонов. Продукты катаболизма оказывают как активирующее, так и ингибирующее действие. Через активацию анаболизма в клетке реализуются механизмы выхода из стресса. Ингибирование выполняет следующие биологически значимые функции. Снижение интенсивности катаболических превращений реально уменьшает последствия стресса. Эти продукты действуют по принципу ретроингибирования и тормозят стресс-индуцируемую биodeградацию.

Другая роль ингибиторов катаболической природы заключается в переводе клетки в состояние физиологической депрессии. В последние годы активно разрабатывается концепция защитно-адаптивной роли снижения функциональной активности клетки на первом этапе стресса. Имеются данные, что катаболические реакции стресса должны таким образом сбалансировать метаболизм, чтобы, с одной стороны, отключить все лишнее в изменившихся условиях реакции, а с другой – удержать клетку в границах допустимых изменений гомеостаза.

Таким образом, продукты катаболизма играют важную роль в формировании неспецифической адаптации у растений. С одной стороны, это

полупродукты для будущих реакций синтеза, с другой – мощная система физиологически активных веществ с выраженным многофункциональным действием.

Лектины

Лектины – особый класс гликопротеидов. Это белки, состоящие из 4-х и более идентичных мономеров и имеющие точки специфического связывания с сахарами. Эта связь с выступающими из клетки полисахаридами определяет участие лектинов в узнавании чужих клеток. Взаимодействуя с олигосахаридными участками гликопротеинов клеточных мембран, лектины участвуют в регуляции метаболизма.

В растениях число лектинов пока точно неизвестно. Так, в пшенице обнаружено 2 типа лектинов, в картофеле – три. В целом существует несколько типов лектинов. В последнее время их рассматривают как маркеры и участников системы формирования устойчивости растений. Содержание одного из наиболее изученных лектинов – аглютинина пшеницы – повышается в ответ на засуху, осмотический шок, грибной патогенез, засоление, тепловой шок. Повышение содержания этого белка связано с абсцизовой кислотой, а также с цитокининами, брассиностероидами.

3. Уровни восприятия и передачи сигнала

У многоклеточных организмов выделяют 2 уровня восприятия и передачи сигналов. Во-первых, это уровень целого организма, который получает информацию из окружающей среды. Во-вторых, это уровень общения клеток в пределах многоклеточного организма. Их поведение может регулироваться путем межклеточных взаимодействий, которые опосредуются интегрированными во внешнюю клеточную мембрану рецепторами. В целом в многоклеточном организме существует определенное равновесие между процессом образования клеток и естественной гибелью – апоптозом. При

стрессовых воздействиях это равновесие может быть нарушено, что приводит к преобладанию апоптоза.

4. Генетическая регуляция

Воспринятый клеткой сигнал передается в ядро. Выделяют **несколько уровней** регуляции клеточного ответа.

1. Уровень транскрипции. Когда регулируется как собственно транскрипция, так и последующий процессинг (созревание) предшественника иРНК, а также деградация предшественника иРНК.

2. Уровень трансляции. Регуляции может подвергаться собственно синтез белка, его последующий процессинг либо деградация предшественника или самого белка после завершения процессинга.

3. Уровень зрелых белков.

Такая регуляция может реализоваться в процессах фосфорилирования-дефосфорилирования белков, а значит в изменении их свойств, в сдвигах каталитической активности под действием вторичных мессенджеров и др. процессов. Примерами служат активирование протеинкиназы и изменения компартментации белковой молекулы при переходе из цитоплазмы в мембрану. Это ведет к нарушению свойств белков, что существенно для сигнальных функций.

Наиболее часто встречается такой механизм регуляции транскрипции, как специфическое взаимодействие белковых транскрипционных факторов цитоплазмы с регуляторными участками ДНК. Выявлены 3 варианта такого взаимодействия, рис. 13.

1. В первом из них в ядро проникают цитозольные протеинкиназы, например MAP-киназа или каталитическая субъединица протеинкиназы А. В ядре они фосфорилируют один или несколько внутриядерных транскрипционных фактора (регуляторных белка), что изменяет их сродство к

ДНК и/или степень их активности. Например, протеинкиназа А участвует в развитии клеток, синтезе гормонов и поддержании суточного ритма.

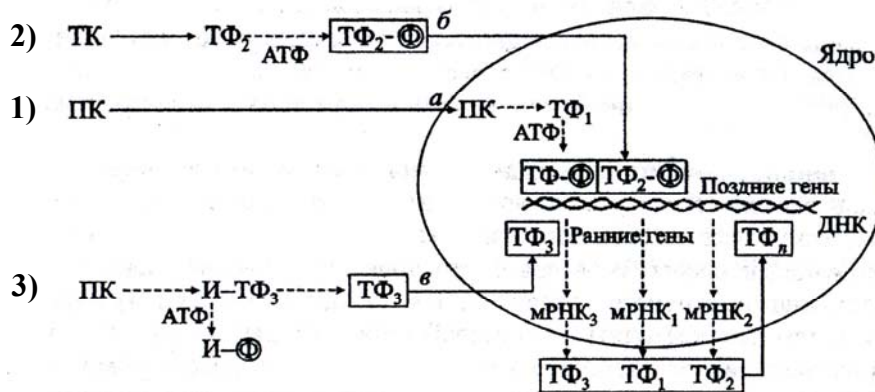


Рис. 13. Варианты взаимодействия белковых транскрипционных факторов цитоплазмы с регуляторными участками ДНК

2. Во втором варианте сигнал в ядро передает не протеинкиназа, а фосфорилированный ею белок. До этого он был латентным транскрипционным фактором, а в результате фосфорилирования становится активным, проникает в ядро и специфически связывается с ДНК.

3. В третьем варианте в белковом комплексе фосфорилируется и в результате этого отщепляется ингибиторная или якорная субъединица. Освобожденный от нее и ставший активным транскрипционный фактор проникает в ядро и связывается с ДНК.

Таким образом, во всех трех вариантах передачи сигнала в ядро связаны с протеинкиназным фосфорилированием регуляторных белков – транскрипционных факторов или их предшественников. Во всех трех вариантах связывание активного транскрипционного фактора с регуляторным участком ДНК происходит быстро и запускает или усиливает процесс транскрипции ранних генов, ответственных за быстрые ответы клетки (15 минут). Возникающие мРНК определяют синтез белковых продуктов ранних генов, которые становятся новыми транскрипционными факторами. Последние стимулируют поздние гены, активность которых реализуется в течение нескольких часов или суток.

Восприятие и передача стрессового сигнала (например, засуха) в ядро осуществляется следующим образом. Рецептор, локализованный на плазматической мембране, принимает сигнал и передает его через систему интермедиатов – трансдукторов сигнала. Протеинкиназы и фосфатазы или сами фосфорилируют транскрипционные факторы в ядре, или фосфорилированные ими белки, проникая в ядро, взаимодействуют с факторами транскрипции. Это приводит к активированию стресс-индуцируемого гена и к синтезу мРНК и стрессовых белков, способствующих повышению устойчивости растения.

5. Гормональная регуляция

Гормональная регуляция – одна из важнейших, поскольку контролирует жизнь каждого растения на всех этапах его развития не только в нормальных условиях существования, но и при стрессе. Обычно под влиянием стрессоров тормозится рост растений, снижается содержание индолилуксусной кислоты, гиббереллинов и цитокининов, но возрастает количество ингибиторов – абсцизовой кислоты (АБК), этилена, жасмоновой кислоты. АБК и этилен даже называют стрессовыми гормонами.

Снижение уровня гормонов-стимуляторов и накопление ингибиторов роста при стрессе имеет важное адаптивное значение, поскольку приводит к снижению интенсивности обменных процессов, остановке деления и роста клеток, переходу организма в состояние покоя. В результате экономнее расходуются энергетические запасы, и растение получает больше возможностей направить их на поддержание структур клетки. В частности значимость АБК распространяется практически на все процессы клеточного метаболизма. АБК играет важную роль в ответе растения на обезвоживание, засоление, действие низких температур, гипо- и аноксию. При этих воздействиях содержание АБК увеличивается сначала за счет гидролиза связанных форм гормона, а затем усиливается синтез АБК в пластидах, а также в корнях, откуда она поднимается в надземную часть с ксилемным током.

АБК изменяет экспрессию генетических программ в клетках: подавляет синтез мРНК и соответствующих им белков, характерных для нормальных условий, и индуцирует работу генов и, следовательно, синтез специфических белков. Взаимодействуя с рецептором, АБК запускает каскад трансдукционных реакций, который приводит к накоплению кальция и подщелачиванию цитоплазмы. Это, в свою очередь, активирует ряд ферментов трансдукции: кальций-зависимые протеинкиназы, магний-зависимые протеинфосфатазы, МАРКиназный каскад. В результате в цитоплазме усиливаются процессы фосфорилирования и дефосфорилирования. Таким образом, осуществляется регуляция активности ключевых ферментов различных метаболических путей и факторов их транскрипции. Факторы транскрипции, поступая в ядро, связываются с промоторами различных генов и приводят к их экспрессии или репрессии.

Все белки – продукты генов, индуцируемых АБК, можно разделить на 2 группы. Первую составляют регуляторные белки. Это продукты ранних генов, которые экспрессируются уже в первый момент действия стрессора. Они обычно контролируют дальнейшую экспрессию стресс-активируемых генов. Вторая группа – это стрессовые функциональные АБК-зависимые белки или Rab-белки. Например, это большая группа LEA-белков, защищающих клетку в условиях обезвоживания. В листьях в нормальных условиях эти белки не обнаружены. К индуцируемым АБК белкам относятся также ферменты биосинтеза осмотиков, транспортные белки – аквапорины, ионные каналы, ферменты антиоксидантной системы, ферменты C_4 и САМ-фотосинтеза, белки патогенеза. АБК влияет на закрывание устьиц, ингибирует активность H^+ -АТФ-аз, что ведет к понижению рН цитоплазмы и усилению гидролитических процессов.

Этилен синтезируется в ответ на действие различных стрессоров: корневой гипоксии, патогенов грибкового, бактериального и вирусного происхождения, засухи, неблагоприятного температурного режима, механических повреждений, загрязнения тяжелыми металлами. Он свободно

диффундирует по клеткам и быстро улетучивается. До 90% синтезированного этилена покидает растение в течение 1 минуты. Тем не менее, он успевает связаться с расположенным в цитоплазме рецептором. Система трансдукции сигнала включает ГТФ-связывающие белки, протеинкиназы и кальций. Этилен менее сильный ингибитор, чем АБК. Этилен стимулирует старение и опадание листьев, ускоряет рост побегов при затоплении, активирует работу ферментов, участвующих в лизисе клеточных стенок и образовании аэренхимы. При патогенезе растение воспринимает сигнал патогена и включает синтез этилена, а тот, в свою очередь, запускает сложную программу химической защиты растений, в частности происходит синтез фитоалексинов, играющих роль противоядия против паразитов. Этилен влияет на содержание, транспорт, образование и распад ауксина, цитокинина, АБК. Таким образом, действие этилена связано с регуляцией процессов, происходящих в клеточной стенке, экспрессии генов апоптоза, стрессовых белков и взаимодействие с другими фитогормонами.

Таким образом, все системы регуляции в клетке тесно взаимосвязаны. Они включаются под действием стрессовых факторов, как у устойчивых, так и неустойчивых растений. Однако у неустойчивых растений сбалансированность работы отдельных защитных реакций быстро нарушается и происходит разупорядочение обмена веществ. У приспособленных растений в процессе длительной эволюции сформировалась необходимая для выживания способность к постепенному и последовательному взаимодействию различных систем регуляции. Только согласованная работа всех систем регуляции способствует обеспечению длительного существования организма в неблагоприятных экологических условиях.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Полевой В.В. Внутриклеточные и межклеточные системы регуляции у растений // Соросов. образов. журн. – 1997. – № 9. – С. 6-11.

2. Регуляция адаптивных реакций растений / Под ред. В.Е. Петрова. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1990. – 126 с.
3. Тарчевский И.А. Катаболизм и стресс у растений: 52-е Тимирязевское чтение. – М.: Наука, 1993. – 80 с.
4. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
5. Устойчивость растений и ее регуляция / Морд. гос. ун-т. – Саранск, 1990. – 112 с.
6. Физиология растений / Н.Д. Алехина, Ю.М. Балнокин, В.Ф. Гавриленко и др.; Под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издат. центр «Академия», 2005. – 635 с.
7. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2002. – 244 с.

Раздел 2. Окислительный стресс и антиоксидантная система растений

Лекция 4. Активные формы кислорода и окислительный стресс

1. Общие представления об активных формах кислорода

Появление на Земле первых фотосинтезирующих организмов, благодаря которым в атмосфере появился кислород, предопределило доминирование на планете аэробных форм жизни. Оксигенный фотосинтез и аэробное дыхание – два фундаментальных процесса, обеспечивающих энергией клетки растений и животных, а также многих бактерий. Оба эти процесса связаны с окислительно-восстановительными превращениями молекулярного кислорода. Участие молекулярного кислорода, который является очень сильным окислителем, в метаболизме возможно благодаря тому, что молекула O_2 относительно стабильна и спонтанно не реагирует с биомолекулами. Однако все аэробные организмы находятся перед лицом постоянной опасности, связанной с образованием в клетках **активных форм кислорода (АФК)**. Под этим термином подразумевают формы кислорода с чрезвычайно высокой реакционной способностью, которые могут окислять практически все классы биологических молекул – белки, липиды мембран, молекулы ДНК и т.д.

К АФК относят синглетный кислород (1O_2), супероксид анион радикал ($O_2^{\bullet-}$), гидропероксидный радикал (HO_2^{\bullet}) пероксид водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал (HO^{\bullet}), в некоторых случаях озон (O_3). АФК постоянно образуются в растительных и животных клетках в реакциях и процессах, в которых участвует молекулярный кислород. В нормально функционирующих клетках содержание АФК поддерживается на низком уровне, т.к. специальные ферментные системы постоянно заняты их ликвидацией. В норме концентрации АФК в клетках не высоки: концентрация $O_2^{\bullet-}$ составляет порядка 10^{-11} М, H_2O_2 –

10^{-8} М, HO^\bullet – меньше 10^{-11} М. Однако в стрессовых условиях содержание АФК в клетках начинает быстро увеличиваться и развивается **окислительный стресс**.

Окислительный стресс в растениях возникает в результате действия практически всех неблагоприятных факторов внешней среды, включая засуху, почвенное засоление, низкие и высокие температуры, ультрафиолетовое излучение, недостаток элементов минерального питания, патогены различной природы, загрязнение различными ксенобиотиками и т.д.

2. Основные типы АФК, их образование и свойства

Молекулярный кислород в обычном состоянии представляет собой триплет (имеет два неспаренных электрона с параллельными спинами, которые локализованы на различных орбиталях). Большинство органических молекул синглетны, их электроны обладают антипараллельными спинами. Вследствие различий в направлении спинов электронов взаимодействие органических молекул с молекулой кислорода протекает достаточно медленно. Однако в клетке существует вероятность образования АФК, которые представляют собой как свободнорадикальные частицы (супероксидные, пероксидные, гидроксильные радикалы), так и нейтральные молекулы (пероксид водорода, синглетный кислород). Свободный радикал представляет собой частицу, имеющую неспаренный электрон на внешней электронной орбитали. Такую частицу обозначают специальным символом – \bullet . Важными свойствами свободного радикала является его высокая химическая активность и то, что он не может исчезнуть, пока не прореагирует с другим свободным радикалом в реакции, которую называют реакцией **дисмутации**.

Формирование АФК происходит при неполном восстановлении молекулярного кислорода до воды одним, двумя и тремя электронами (рис. 14).

В результате захвата молекулой одного электрона образуется супероксидный радикал (O_2^\bullet) или его протонированная форма гидропероксидный радикал (HO_2^\bullet) при слабокислых значениях pH.

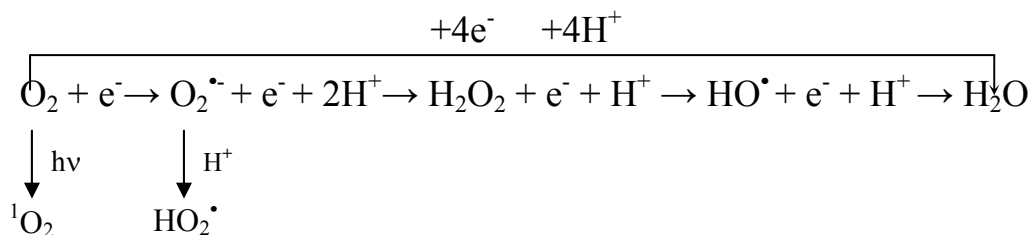
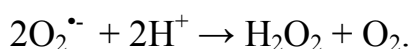


Рис. 14. Образование различных АФК в результате получения энергии или в результате неполного восстановления молекулярного кислорода до воды

Наиболее опасен, особенно для мембранных структур, именно супероксидный радикал. В отличие от молекулярного кислорода, для передвижения которого мембраны не представляют преграды, супероксидный анион, обладая зарядом, окружен молекулами воды, что не дает ему возможности преодолеть гидрофобный мембранный барьер. Кроме того, он имеет большое время жизни и становится источником других АФК.

Образование пероксида водорода (H_2O_2) происходит в результате присоединения одного электрона и двух протонов к супероксидному радикалу и также в результате взаимодействия (дисмутации) двух молекул супероксида:



Пероксид водорода относится к окислителям средней силы. Благодаря относительно продолжительному времени жизни и растворимости в липидном бислое, пероксид может легко диффундировать через мембраны (через аквапорины). При дальнейшем одноэлектронном восстановлении возможно появление гидроксильного радикала (HO^{\bullet}), очень сильного окислителя. Этот радикал не способен к внутриклеточной миграции, так как моментально вступает в реакцию с биологическими молекулами. Гидроксильный радикал не только инициирует разрушение мембран и деградацию белков, взаимодействуя с остатками многих аминокислот, но и разрушает углеводные мостики между нуклеотидами, разрывая цепи ДНК и РНК. Полагают, что такие процессы могут быть факторами природного мутагенеза. Гидроксильный радикал является

наиболее опасным еще и потому, что в растительных клетках нет ферментных систем, способных к его нейтрализации.

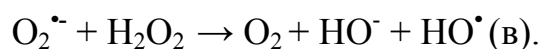
Такие металлы, как Cu, Fe, Mn, Co, обладающие переменной валентностью, могут непосредственно участвовать в создании высокотоксичных гидроксильных радикалов в реакциях Фентона (а) и Хабер-Вейса (а, б, в):



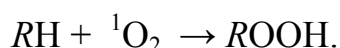
Супероксид обеспечивает восстановление металла:



Суммарная реакция (цикл Хабер-Вейса) – это катализируемое металлом восстановление пероксидов посредством супероксида:



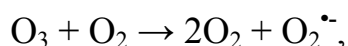
К АФК относится также синглетный кислород ($^1\text{O}_2$). Основной путь его образования обусловлен световыми реакциями, которые опосредованы пигментами-фотосенсибилизаторами (главным образом хлорофиллом). Поглощая квант света, этот пигмент переходит в синглетное ($^1\text{П}$) или триплетное ($^3\text{П}$) возбужденное состояние. Молекулы пигмента в обоих возбужденных состояниях, сталкиваясь с молекулярным кислородом, передают на него свою энергию, в результате чего и образуется химически очень активный синглетный молекулярный кислород. Основное значение в его генерации имеют триплетные состояния пигментов, которые обладают более значительным временем жизни. Кроме того, возможен и другой механизм фотодинамического действия – образование свободных радикалов при диссоциации комплекса триплетной молекулы пигмента, кислорода и субстрата. Синглетный кислород может быстро реагировать с большинством органических молекул (RH), продуцируя гидропероксиды:



Эффективным генератором синглетного кислорода является важнейший пигмент фотосинтеза – хлорофилл, и в клетках растений всегда имеется опасность того, что этот пигмент проявит свое повреждающее действие.

В генерации АФК значительную роль играет озон, образующийся в результате фотодиссоциации молекулярного кислорода под влиянием солнечной энергии. Озон, так же как и пероксид водорода, и синглетный кислород, не является радикалом, однако, обладая высокой реакционной способностью, может продуцировать кислородные радикалы. В последнее десятилетие вследствие интенсивного развития промышленности наметилась стабильная тенденция к росту концентрации озона в тропосфере (нижних слоях атмосферы). Увеличение содержания озона в тропосфере происходит за счет накопления в воздухе продуктов сгорания нефти, газа и угля. Образование озона усиливается за счет интенсификации УФ-радиации. Это связано с действием радикалов хлора и брома, которые возникают при облучении промышленных фреонов, аэрозолей и растворителей.

При взаимодействии озона с O_2 возникает супероксид-анион:



а затем пероксид водорода, синглетный кислород и гидроксильный радикал.

Накапливающийся озон повреждает растения. Отрицательное действие озона проявляется в снижении скорости фотосинтеза, повреждении листьев, подавлении роста корней и побегов, ускорении старения и снижения урожая.

3. Образование АФК в разных компартментах клетки

Образование АФК происходит во всех частях растительной клетки. Это связано как с неферментативными (например, окислительно-восстановительные реакции фенолов, хинонов, флавинов, автоокисление гем- и SH-содержащих соединений), так и с ферментативными процессами. Значительный вклад в образование АФК вносит также функционирование цепей переноса электронов в мембранных структурах клетки.

Образование АФК в хлоропластах

В фотосинтезирующих клетках хлоропласты являются далеко не единственными продуцентами АФК, но, по сложившемуся мнению, самыми мощными. В хлоропластах постоянно образуются синглетный кислород, супероксид радикал и в дальнейшем перекись водорода, что неразрывно связано с процессами фотосинтеза, протекающими в тилакоидной мембране (рис. 15).

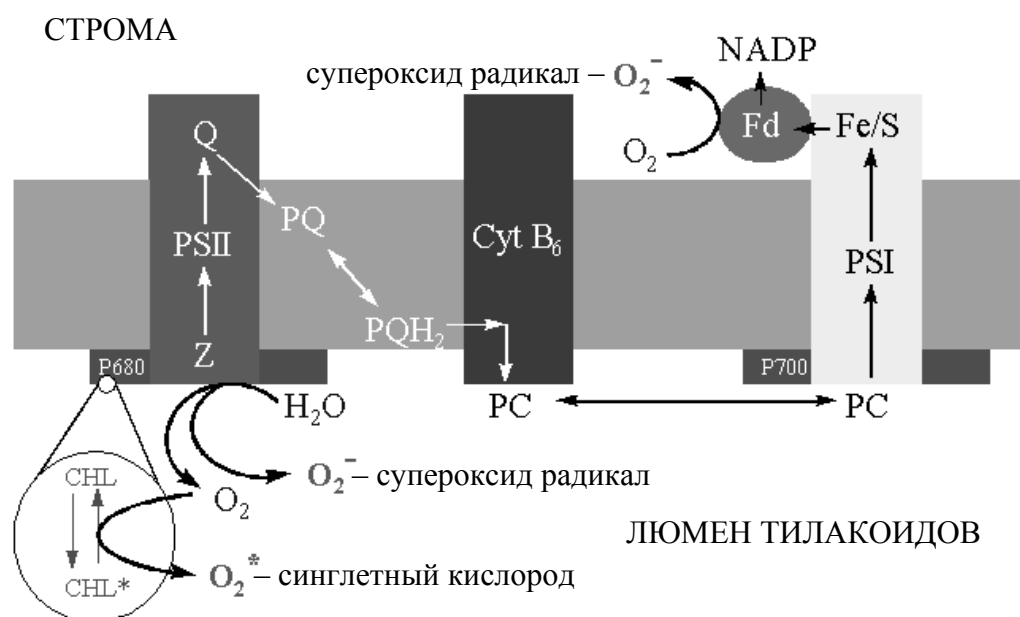


Рис. 15. Электрон-транспортная цепь в тилакоидной мембране хлоропласта. *PSI* – фотосистема I, *PSII* – фотосистема II, *Fd* – ферредоксин, *PQ* – пластохинон, *PC* – пластоцианин, *CHL* – хлорофилл.

Обычный молекулярный кислород является сильным окислителем, но не отличается высокой реакционной способностью. Это объясняется электронной конфигурацией молекулы: основная форма кислорода в атмосфере находится в триплетном состоянии – валентные электроны имеют параллельные спины. Но молекула O_2 может с обращением спина перейти в возбужденное синглетное состояние и стать реакционно-способным и поэтому опасным синглетным кислородом (1O_2). В хлоропласте образование синглетного кислорода

происходит в результате контакта O_2 с хлорофиллом, который поглотил свет и оказался в возбужденном триплетном состоянии (3P). Вероятность $^1P \rightarrow ^3P$ перехода многократно возрастает, если большая часть молекул хлорофилла переходит в 1P состояние, в результате чего миграция энергии в антенных комплексах затрудняется. Именно такая ситуация возникает при высокой интенсивности света, когда поток световой энергии слишком велик и превышает уровень, необходимый для насыщения фотосинтеза. Так как время жизни хлорофилла 3P относительно большое, он «успевает» передать избыток энергии на O_2 , в результате чего образуется 1O_2 . Кроме того, при большом потоке фотонов образование синглетного кислорода возможно в реакционном центре фотосистемы II.

Синглетный кислород способен окислять белки фотосинтетического аппарата, молекулы хлорофилла, липиды тилакоидных мембран. Поэтому крайне необходимо либо его постоянно «убирать», либо препятствовать его образованию. И то и другое обеспечивают каротиноиды, которые присутствуют в составе антенных комплексов и реакционных центров.

В хлоропластах супероксидный радикал возникает в фотосистеме I (при участии ферредоксина), так и в фотосистеме II (в процессе фотоокисления воды), а также при функционировании РБФ-карбоксилазы как оксигеназы. Оксигеназная реакция включает образование супероксид-аниона, который затем используется при оксигеназном распаде РБФ на 3ФГК и 2Ф-гликолевую кислоту.

В хлоропластах активно действуют разные системы ликвидации АФК, тем не менее они в силах обеспечить только относительную стабильность уровня АФК.

Образование АФК в митохондриях

В митохондриях образование супероксид радикала, а затем и перекиси водорода сопряжено с функционированием дыхательной электрон-транспортной цепи во внутренней митохондриальной мембране (рис. 16).

Восстановление кислорода до безопасной воды двумя термальными оксидазами происходит с достаточно большой скоростью, при этом, однако, может происходить спонтанное одноэлектронное восстановление кислорода с образованием супероксида на комплексах I, II и III дыхательной цепи. Сайты, где возможен перехват электронов кислородом и образование супероксида, точно не установлены, но потенциально ими могут быть многие редоксцентры, содержащие железосерные кластеры, геммы и связанные хиноны. Известно, что интенсивность генерации $O_2^{\cdot-}$ усиливается при увеличении пула восстановленного убихинона и особенно активно протекает на комплексах I и III. Электронный транспорт в этих комплексах связан с образованием семихинон-радикалов.

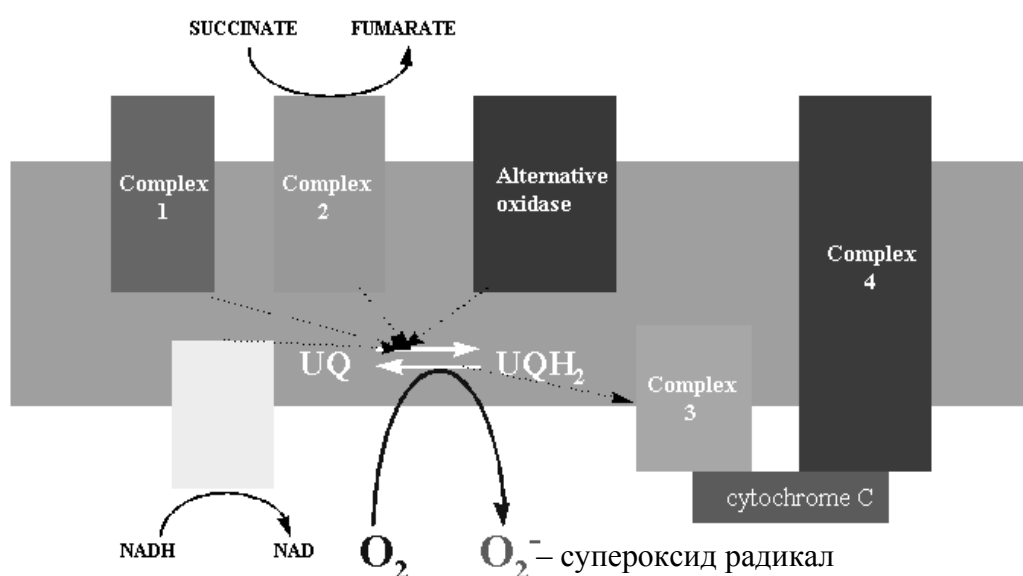


Рис. 16. Электрон-транспортная цепь во внутренней мембране митохондрий. В состав основной цепи входят комплексы I – IV, связь между которыми осуществляют важные переносчики электронов – убихинон (UQ) и цитохром c (cytochrome c).

Механизм повреждений может быть связан, например, с тем, что H_2O_2 взаимодействует с Fe^{2+} в составе 4Fe-4S-кластеров. При этом из состава комплексов высвобождаются ионы железа, которые инициируют реакции Фентона. Гидроксильный радикал, который образуется в этих реакциях,

является еще более сильным окислителем. Повреждению АФК подвергаются многие ферменты, функционирующие в матриксе митохондрий. Среди них аконит-гидратаза, фермент цикла трикарбоновых кислот, который напрямую инактивируется супероксид радикалом. Окислительному повреждению подвергаются и некоторые субъединицы в составе глициндекарбоксилазного и пируватдегидрогеназного комплексов, а также единицы АТФ-синтазы. В матриксе митохондрий обнаружены специфические протеазы, с помощью которых окончательно разрушаются белки, поврежденные АФК. Кроме того, мишенями для АФК являются митохондриальные мембраны и *mt*ДНК.

Образование АФК в других клеточных компартментах

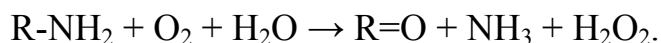
Реакции, которые протекают в пероксисомах, изучены не так хорошо, как в хлоропластах и митохондриях. Для пероксисом характерна метаболическая пластичность, так как их метаболизм во многом определяется типом клетки, в которой они находятся. Но во всех пероксисомах образуется и в той или иной мере накапливается пероксид водорода, синтез которого может быть связан с разными процессами. Оксигеназная функция РБФ-карбоксилазы в хлоропластах приводит к образованию гликолата, который транспортируется в пероксисомы и окисляется гликолатоксидазой до глиоксилата с образованием H_2O_2 .

Разновидностью пероксисом являются глиоксисомы, присутствующие в запасющих тканях прорастающих семян масличных растений. В этих тканях происходит распад запасных жиров и процесс β -окисления жирных кислот, необходимый для конверсии жиров и углеводов. Этот процесс протекает в глиоксисомах и также сопровождается образованием пероксида водорода. Помимо этих процессов, в пероксисомах возможны и другие, в которых образуются АФК, хотя и не столь активно. Пероксисомы, как и хлоропласты и митохондрии, продуцируют супероксид радикал в ходе нормального метаболизма. Например, пероксисомы вовлечены в метаболизм ксантина, метаболита, образующегося при распаде нуклеиновых кислот. Показано, что в матриксе пероксисом из листьев гороха образование супероксид радикала

происходит при окислении ксантина ферментом ксантиноксидазой. Образованный $O_2^{\cdot -}$ трансформируется в H_2O_2 , т.к. в пероксисомах присутствует супероксиддисмутаза, а за ликвидацию перекиси отвечают каталаза и аскорбатпероксидаза.

Образование АФК в пероксисомах наиболее быстро должно отражаться на редокс-статусе цитозоля. Мембраны пероксисом содержат аквапорины, через которые перекись, образованная в пероксисомах, способна диффундировать в цитозоль. Возможен и обратный процесс. Наиболее важной и интересной особенностью пероксисом является то, что они могут продуцировать супероксид радикал непосредственно в цитозоль.

В цитозоле образование АФК может быть связано с протеканием некоторых биохимических реакций, например, катализируемых флавиновыми оксидазами. Образование пероксидов сопровождается окислением аминокислот при участии соответствующей оксидазы:



Образование супероксид радикала связано с работой комплекса цитохром P_{450} -зависимой монооксигеназы, локализованной в эндоплазматической сети, ядерной мембране и других частях клетки (рис. 17). Его функции связаны с деградацией выводимых из метаболизма соединений и детоксикацией органических ксенобиотиков. Монооксигеназная система осуществляет первичную модификацию разнообразных сложных молекул, включая в их структуру атом кислорода. В ходе этой достаточно сложной и многоступенчатой реакции часть электронов может уходить не по назначению, а перехватываться кислородом с образованием супероксид радикала. Такая особенность действия ферментного комплекса способствует накоплению в клетке АФК в том случае, если растение вынуждено поглощать и нейтрализовать инородную органику.

4. Повреждение биомолекул активными формами кислорода

Активные радикалы, главным образом HO^\bullet , взаимодействуя с органическими веществами, образуют гидропероксиды ДНК, белков, липидов (ROOH). Изменения макромолекул под действием АФК называются *окислительными модификациями* макромолекул. Органические гидропероксиды ROOH по своей структуре подобны H_2O_2 и характеризуются высокой реакционной способностью. При последующих превращениях они переходят в спирты, альдегиды, эпоксиды и другие окисленные органические соединения. Образование ROOH называют *перекисным окислением*.

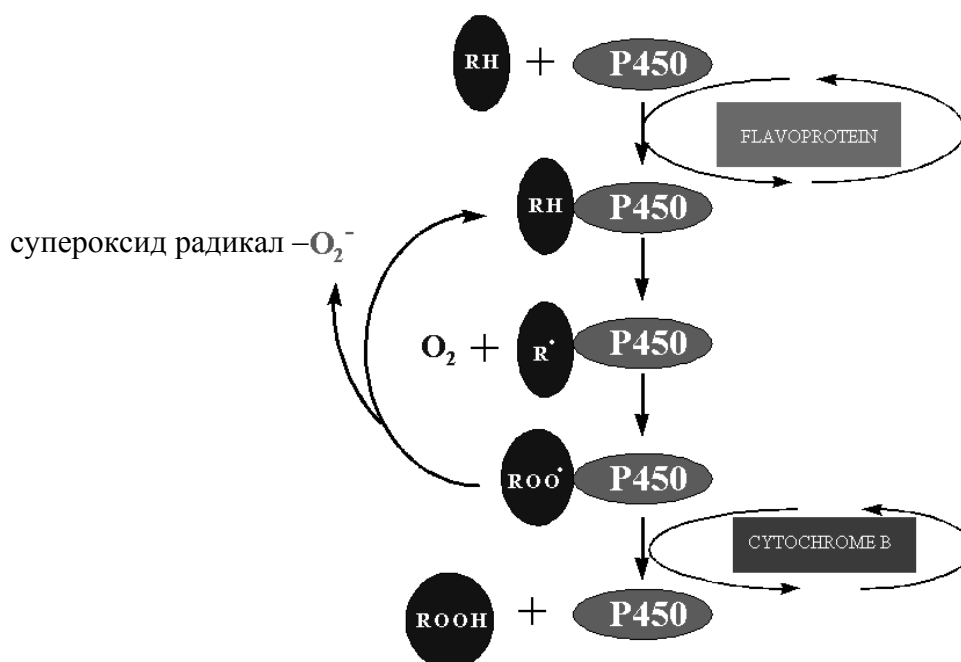


Рис. 17. Комплекс цитохром P_{450} -зависимой монооксигеназы в эндоплазматической сети растительной клетки

Повреждения липидов

АФК приводят к *перекисному окислению липидов* (ПОЛ), вызывая в остатках полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) цепные реакции с образованием липидных радикалов L^\bullet , пероксидов LOO^\bullet , гидропероксидов LOOH и алкоксидов LO^\bullet :

$C_5H_9-CHON-CH=CP-CHO$ и малоновый диальдегид) вызывают мутации и блокируют клеточное деление.

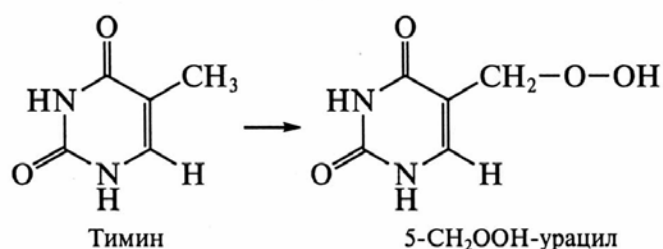
Прежде ПОЛ считали исключительно спонтанным процессом, протекающим без участия ферментов. Затем было показано, что важную роль в ПОЛ играют и ферментативные реакции, в частности реакции, катализируемые липоксигеназами. В норме липоксигеназы не активны. Активация этого фермента наблюдается при стрессах, связанных с повреждением растений, при нападении насекомых или травоядных животных.

Окисление липидов с помощью этих ферментов приводит к образованию специфических веществ – эйкозаноидов, выполняющих функцию сигнальных молекул при экспрессии генов.

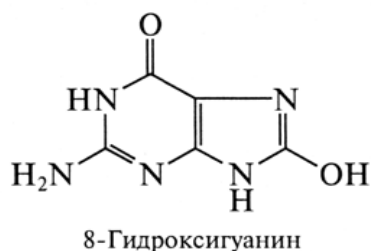
Таким образом, в результате перекисного окисления липидов мембран возникает целый каскад свободнорадикальных реакций с образованием разнообразных спиртов, эфиров, альдегидов. Среди этих соединений могут быть и токсичные. Например, 4-гидрокси-2-ноненал, 4-гидрокси-2-гексанал, малоновый диальдегид оказывают токсическое действие в клетках растений, модифицируя структуру белков и ДНК.

Повреждения нуклеиновых кислот

АФК вызывают окислительную модификацию нуклеотидов и нуклеиновых кислот, особенно ДНК. Наиболее заметное действие оказывает гидроксильный радикал, который модифицирует все четыре основания в молекуле ДНК, образуя множество производных форм. Синглетный кислород избирательно атакует гуанин, а супероксид и Пероксид не реагируют с основаниями ДНК вообще. Под действием АФК нуклеотиды подвергаются перекисному окислению. Так, из тимина образуется 5- CH_2OOH -урацил:



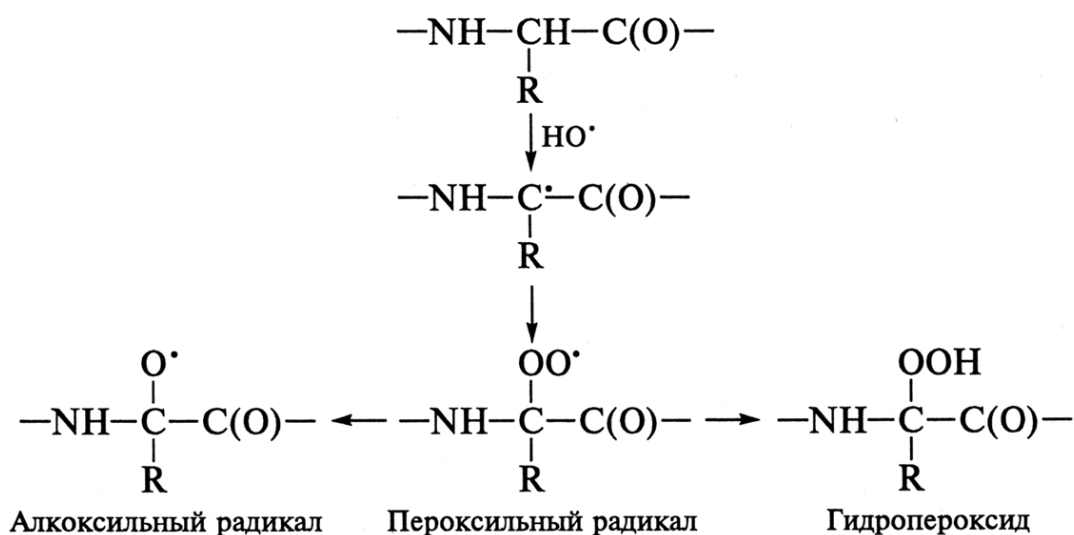
Дальнейшее превращение образовавшихся перекисей приводит к гидропроизводным типа ROH или R(OH)_2 , главным из которых является 8-гидроксигуанин:



Эта окислительная модификация гуанина приводит к нарушениям ферментативного процесса метилирования цитозиновых оснований, которые соседствуют с модифицированными гуанозиновыми основаниями. Модификации оснований, вызванные АФК, становятся причиной разрывов цепей ДНК и повреждений хромосом. АФК являются мощными мутагенными агентами, ингибиторами синтеза ДНК и деления клеток.

Повреждения белков

Белки, так же как липиды и нуклеиновые кислоты, повреждаются АФК. При действии АФК происходит окисление аминокислот с образованием пероксильных радикалов:



Из пероксильных радикалов образуются гидропероксиды и алкоксильные радикалы. Последние обладают высокой реакционной способностью и сами могут индуцировать образование высокореактивных соединений радикальной природы. Гидропероксиды также генерируют новые радикалы, если имеются

ионы металлов с переменной валентностью. Производными пероксидных групп ($-C-O-OH$) являются группы $-COH$ (*o*- и *m*-тирозины), $-C(OH)_2$, карбонилы и другие соединения. Образуются также димеры (дитирозины) и происходит окислительное гликозирование белков. АФК-индуцированные окислительные модификации аминокислот приводят к нарушению третичной структуры белков, к их денатурации и агрегации с сопутствующей потерей функциональной активности.

5. Сигнальная роль АФК

Довольно долго АФК рассматривали как неизбежное зло, возникшее при переходе большинства организмов к аэробному образу жизни. Однако оказалось, что роль этих опасных молекул двойственная. Клетки растений (и животных) воспринимают и используют АФК в качестве сигнальных молекул, вторичных мессенджеров, которые помогают им анализировать внешние воздействия и внутренние сигналы. Более того, в некоторых случаях растительная клетка специально начинает продуцировать АФК, чтобы с их помощью включать те или иные процессы.

Условия среды часто становятся для растений стрессовыми, тогда нарушается нормальный метаболизм, подавляется рост, изменяются процессы развития и, в экстремальных случаях, наступает гибель организма. Однако растения могут выдержать и адаптироваться к неблагоприятной обстановке. Восприятие клеткой внешнего сигнала о «неблагополучии» запускает сигнальные системы, ведущие к экспрессии генов, продукты которых необходимы для репарации повреждений, восстановления гомеостаза и акклимации к новым условиям. Известно, что АФК в сигнальных системах играют большую роль при стрессе. Роль пероксида водорода как вторичного мессенджера была подтверждена во многих случаях, связанных с экспрессией генов, контролирующих синтез ферментов-антиоксидантов, а также синтез

аскорбата и глутатиона. Есть данные, что индукция антиоксидантной защиты может быть вызвана генерацией $O_2^{\bullet-}$ и/или H_2O_2 в апопласте.

АФК участвуют в процессе старения листьев и цветков, связанного с активной программой клеточной смерти – апоптозом. Эта программа направлена на избирательное разрушение клеток. Программируемая клеточная смерть связана с активацией ферментов, избирательно разрушающих клеточные структуры и белки. АФК участвуют в регуляции апоптоза, так как влияют на его развитие и протекание. Повышение уровня АФК наблюдается во многих случаях гибели клеток, когда она явно детерминирована, например, в реакции сверхчувствительности и при старении.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6. – № 12. – С. 13-19.
2. Зыкова В.В., Колесниченко А.В., Войников В.К. Участие активных форм кислорода в реакции митохондрий растений на низкотемпературный стресс // Физиология растений. – 2002. – Т. 49. – № 2. – С. 302-310.
3. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учеб. для вузов. – М.: Высш. шк., 2005. – С. 615-713.
4. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода: учебное пособие / Под ред. И.П. Ермакова. – М: КДУ, 2007. – 140 с.
5. Физиология растений: Учебник для студентов вузов /под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 640 с.
6. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во С-Пб. ун-та, 2002. – 244 с.
7. Bhattacharjee S. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants // Current Sci. 2005. V. 89. № 7. – P. 1113-1121.

8. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *TRENDS in Plant Sci.* 2002. V. 7. № 3. – P. 405-410.

9. Vranova E., Inze D., Van Breusegem F. Signal transduction during oxidative stress // *Journal of Exper. Bot.* Vol. 53. № 372. – P. 1227-1236.

Лекция 5. Система антиоксидантной защиты растений.

Ферменты – антиоксиданты

1. Общие представления о системе антиоксидантной защиты

Повреждающему эффекту свободных радикалов и активных форм кислорода противостоит система противooksидлительной защиты, главным действующим звеном которой являются антиоксиданты — соединения, способные тормозить, уменьшать интенсивность свободнорадикального окисления, нейтрализовать свободные радикалы путем обмена своего атома водорода (в большинстве случаев) на кислород свободных радикалов. В выведении свободных радикалов и радикальных форм антиоксидантов главную роль играют системы естественной детоксикации. Защита от повреждающего действия АФК, СР осуществляется на всех уровнях организации: от клеточных мембран до организма в целом.

Антиоксидантная система тканей представлена:

1. ферментными антиоксидантами: каталазой, пероксидазами, супероксиддисмутазой, глутатионредуктазой;
2. низкомолекулярными компонентами: аскорбиновой кислотой, низкомолекулярными S-H соединениями, флавоноидами, витаминами А, Е, К, убихиноном;
3. макромолекулярными неферментативными компонентами: белком-переносчиком железа – трансферрином и др.;

По механизму действия антиоксиданты можно разделить на:

1. «мусорщиков», которые очищают организм от всех свободных

радикалов, чаще всего восстанавливая их до стабильных неактивных продуктов;

2. «ловушки» – антиоксиданты, которые имеют сродство к какому-то определенному свободнорадикальному продукту (ловушки синглетного кислорода, гидроксил-радикала и т.д.). Ловушки часто используют для уточнения механизма свободнорадикальной реакции;

3. антиоксиданты, обрывающие цепи, – вещества, молекулы которых более реакционноспособны, чем их радикалы. Чаще всего это фенолы, которые легко отдают свои электроны, превращая радикал, с которым они прореагировали, в молекулярный продукт, а сами при этом превращаются в слабый феноксил-радикал, который уже не способен участвовать в цепной реакции.

Рассмотрим более подробно особенности основных ферментов, являющихся компонентами системы антиоксидантной защиты живых организмов.

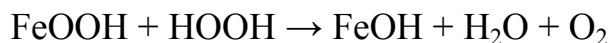
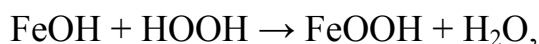
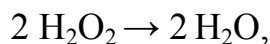
2. Каталаза

Каталаза (EC 1.11.16) широко распространена в растительных тканях. Она обнаружена почти у всех аэробов и у некоторых факультативных анаэробов.

Каталаза является двухкомпонентным Fe-порфириновым ферментом, состоящим из белка и соединенной с ним активной группой, которая содержит гематин, представляющий собой окисленную простетическую группу гемоглобина крови. Активная группа каталазы соединяется с белком своими карбоксилами. Различия разных каталаз обусловлены различиями в составе или структуре белка, сейчас обнаружено до 5 изоферментов.

Сущность каталитического действия каталазы состоит в разложении перекиси водорода с выделением молекулярного кислорода. Реакция с

участием каталазы требует двух молекул перекиси, из которых одна действует как донор, а другая как акцептор электронов.



В живой клетке основными поставщиками перекиси водорода являются флавопротеидные ферменты, которые сами не способны разлагать перекись.

Перекись водорода, образующаяся в обменных реакциях, в известных концентрациях для клетки токсична, в связи с чем нельзя недооценивать роль каталазы, активирующей процесс разложения перекиси водорода с образованием воды и неактивного молекулярного кислорода. В живых тканях помимо каталазы перекись разлагается и пероксидазой. Однако было доказано, что каталаза выполняет каталитическую функцию независимо от присутствия пероксидазы.

Результаты серии работ Чанса, Теорелла позволяют представить механизм каталазной реакции следующим образом: сначала гидроксил гематина взаимодействует с перекисью водорода, в результате чего образуется нестойкий перекисный комплекс. При взаимодействии этого комплекса с еще одной молекулой перекиси гидроксил восстанавливается, образуется вода и молекулярный кислород.

Весьма существенна роль каталазы в снабжении молекулярным кислородом тех участков ткани, куда доступ его в силу тех или иных причин затруднен. Примером таких тканей могут служить ткани перикарпия сочных плодов, многослойная паренхима вегетативных запасных органов (клубни, корнеплоды и др.).

Кроме того, выяснено, что биологическая роль каталазы тесным образом связана с нормально функционирующей цитохромной системой. При комбинированном действии цитохрома С с каталазой митохондрии обладают повышенной активностью процессов синтеза АТФ при незначительном повышении поглощения кислорода. Это служит основанием для

предположения, что каталаза принимает участие в процессах сопряженного окислительного фосфорилирования, осуществляемого митохондриями.

Одновременно это свидетельствует о функциональной взаимосвязи катализаторов, локализованных в разных структурных компонентах клетки. Цитохромоксидаза в основном связана с митохондриями и хлоропластами, тогда как большая часть каталазы локализована в пероксисомах и цитоплазме.

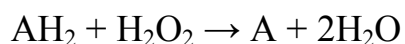
В отличие от пероксидаз, которые функционируют только при относительно низком уровне пероксида, каталаза способна эффективно работать при его высокой концентрации.

Каталаза относится к числу ферментов с наиболее высоким числом оборотов (она может расщепить 44 000 молекул H_2O_2 в секунду). Для расщепления большого количества пероксида водорода требуется малое количество фермента. Как и в случае супероксиддисмутазы, скорость реакции определяется диффузией и не требует энергии для активации. Каталаза преимущественно находится в пероксисомах, внеклеточно каталаза находится в незначительных концентрациях. К факторам, понижающим каталазную активность, относят недостаточность витаминов группы В, фолиевой кислоты, рибофлавина, витамина А. Снижать активность каталазы могут различные вещества: цианиды, азиды, сульфиды (способны блокировать железо в гематиновой группе), нитраты, фосфаты, сульфаты, многие кислоты. Снижение активности каталазы также наблюдается при избытке метионина, тирозина, цистина, меди, цинка.

3. Пероксидаза

Пероксидазы (ЕС 1.11.17) включают группу ферментов, использующих в качестве окислителя пероксид водорода. К ним относятся: НАДН-пероксидаза, НАДФН-пероксидаза, глутатион-пероксидаза, гваякол-пероксидаза, аскорбат-пероксидаза и др.

Пероксидазы способны восстанавливать перекись водорода до воды, окисляя при этом различные соединения. Они катализируют следующую реакцию:



Пероксидаза является двухкомпонентным ферментом – гемпротеином, содержащим в простетической группе железопорфирин.

Очищенная кристаллическая растительная пероксидаза имеет молекулярную массу 44 000. Гематин составляет 1.48% этой массы. По аминокислотному составу белок пероксидазы имеет некоторые особенности: в нем отсутствуют триптофан и оксипролин, к тому же он неоднороден.

В основе механизма действия пероксидазы лежит ее способность вступать во взаимодействие с перекисью водорода с образованием промежуточных комплексов, которые обладают различными спектральными характеристиками.

Этот фермент в разных изоформах присутствует практически во всех клеточных компартментах, включая и клеточную стенку.

В настоящее время известно несколько видов пероксидаз, использующих в качестве окислителя пероксид водорода. Пероксидаза катализирует окисление перекисью водорода или молекулярным кислородом ароматических аминов, анилина, бензидина, тирозина, триптофана, индола, индолилуксусной кислоты, фенолов, ароматических кислот, таких соединений, как ферроцитохром с, $NADPH+H^+$, аскорбинат, нитраты. Пероксидаза, в отличие от каталазы, не окисляет перекись и этиловый спирт.

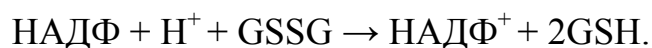
Источником активного кислорода при каталитическом действии пероксидазы могут наряду с перекисью водорода служить и органические перекиси.

Пероксидаза может использовать также перекиси ненасыщенных жирных кислот, образующиеся при действии липоксигеназы, а также перекиси каротина.

Наиболее распространенными субстратами, на которые действует пероксидаза в тканях растений, являются полифенолы в свободном состоянии или в форме различных сложных соединений (гликозиды, дубильные вещества) и ароматические амины.

Так называемая гваяколовая пероксидаза, участвующая в биосинтезе лигнина, окисляет фенольные соединения.

В ряду пероксидаз основное место занимает глутатион-пероксидаза - это самое распространенное сульфгидрильное соединение в клетках. Глутатион содержит нетипичную гамма-связь между Glu и Cys. Восстановителем является тиольная группа цистеинового остатка. Функцией фермента является поддержание активного состояния многих ферментов, самопроизвольное окисление которых приводит к образованию дисульфидной группы: глутатион восстанавливает сульфгидрильные формы. Окисленный глутатион восстанавливается флавопротеидом глутатионредуктазой, которая утилизирует H^+ из НАДФН+ H^+ . Две молекулы восстановленной формы (GSH) при окислении образует дисульфид (GSSG).



Разрушая гидроперекиси липидов, глутатионпероксидаза регулирует тем самым продукцию арахидоновой кислоты. Для эффективной работы фермента необходим селен, который входит в состав активного центра. Дефицит селена нарушает работу глутатионпероксидазы и других селеносодержащих ферментов. Имеется связь между селеном и витамином Е: они влияют на разные этапы образования органических перекисей: токоферолы подавляют перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот, а содержащая селен глутатионпероксидаза разрушает уже образовавшиеся перекиси липидов, перекись водорода. Глутатионпероксидаза, не содержащая селен, – глутатион-S-трансфераза – разрушает только перекись водорода (как и каталаза). Наибольшее количество селена содержится в белках с высоким содержанием цистина: образуются трисульфиды, которые подобно сульфгидрильным группам мембранных белков, регулируют стабильность и проницаемость

мембран. При дефиците селена и снижении активности глутатионпероксидазы повышается гемолиз эритроцитов вследствие действия перекиси водорода и липоперекисей. Восстановленный глутатион и глутатионпероксидаза превращают липоперекиси в менее токсичные оксикислоты и этим предупреждают повреждение биоструктур. Пополнение фонда глутатиона происходит за счет аминокислот, которые содержат серу.

Обнаружено, что пероксидазы обеспечивают нормальный ход окислительных процессов при различного рода неблагоприятных воздействиях на растение.

4. Супероксиддисмутаза

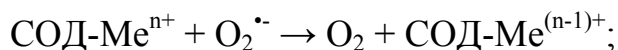
Супероксиддисмутаза (СОД, ЕС 1.15.1.1) – широко распространенный в природе фермент, он обязательно присутствует у всех аэробных организмов, а также найден у некоторых анаэробных бактерий. Супероксиддисмутаза является первым антиоксидантным ферментом, который выделили Манн и Кейлис в 1938 году.

Супероксиддисмутаза катализирует реакцию восстановления супероксид радикала до пероксида водорода:

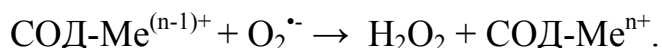


АФК находятся во всех клетках, потребляющих кислород. Скорость реакции чрезвычайно высока и лимитируется только скоростью диффузии $\text{O}_2^{\cdot-}$. Каталитический цикл ферментов этой группы включает восстановление и окисление иона металла на активном центре фермента. Супероксиддисмутаза осуществляет инактивацию радикалов кислорода, которые могут возникнуть в ходе биологических реакций переноса электронов или при воздействии металлов с переменной валентностью, ионизирующего, ультрафиолетового излучения, ультразвука, гиперборической оксигенации, различных заболеваний.

Механизм взаимодействия СОД с супероксидным радикалом точно не выяснен. Предполагается, что сначала одна молекула супероксида взаимодействует с активным центром фермента, при этом металл, входящий в активный центр, восстанавливается, а радикал окисляется до молекулярного кислорода:



Затем при участии второй молекулы $\text{O}_2^{\cdot-}$ происходит обратное окисление металла, при этом образуется пероксид водорода:



Дальнейшее превращение пероксида до воды и молекулярного кислорода происходит с участием глутатион-аскорбатного цикла, который осуществляется в результате сопряженного действия ряда ферментов, включая глутатионредуктазу (ГР).

Фермент состоит из двух одинаковых субъединиц, соединенных дисульфидными связями. Характеризуется тем, что в своем составе может иметь различные металлы переходной валентности: Cu, Zn, Mn, Fe, в то время как аминокислотный состав мало изменяется.

В растениях присутствуют несколько СОД, содержащих в активных центрах ионы Cu-Zn, Fe или Mn. Mn-СОД локализована в основном в митохондриях, Cu-Zn-СОД – в цитоплазме, хлоропластах и пероксисомах, Fe-СОД – в хлоропластах. Таким образом, наиболее повышена концентрация супероксиддисмутазы в хлоропластах. СОД является центральным соединением антиоксидантной системы и выполняет защитную роль клетки от активных форм кислорода.

5. Глутатионредуктаза

Глутатионредуктаза (ГР, ЕС 1.6.4.2) является важным ферментом системы антиоксидантной защиты растений. Она катализирует восстановление

окисленного глутатиона при участии НАДФН+Н⁺ в глутатион-аскорбатном цикле.

ГР у растений имеет 4 изоформы, которые ассоциированы с разными клеточными компартментами. Наибольшее количество этого фермента ассоциировано с хлоропластами, но также выявлены изозимы в цитозоле и митохондриях.

Пероксид водорода, возникающий при восстановлении супероксид радикала, разрушается в цитоплазме, хлоропластах и мембранах глиоксисом с участием аскорбатпероксидазы. При этом происходит окисление аскорбата:



Дегидроаскорбат восстанавливается аскорбатредуктазой с участием восстановленного глутатиона (GSH):



В свою очередь, окисленный глутатион (GSSG) регенерируется глутатионредуктазой путем НАДФН (Н⁺)-зависимого восстановления:



6. Изменение активности антиоксидантных ферментов при загрязнении среды обитания растений

Активность вышеперечисленных ферментов может сильно меняться в зависимости от того, в каких условиях находится растение. В настоящее время существует много публикаций, посвященных выяснению адаптаций растений к стрессу, вызванному тяжелыми металлами, при помощи систем ферментов антиоксидантной защиты.

Удобнее рассмотреть, как отдельные компоненты загрязнения влияют на активность изучаемых ферментов антиоксидантной защиты.

Одним из наиболее опасных поллютантов является кадмий. При действии на растения гороха кадмия в повышенных концентрациях активность СОД возрастала на 44%, а активность пероксидаз – на 24%. В этих опытах

активность возрастала во всех вариантах, отличных от контроля. В исследованиях Шевяковой на хрустальной травке показано, что в условиях Cd-стресса значительно возрастала активность гваяколовых пероксидаз.

Значительное количество публикаций посвящено действию на растительные организмы ионов меди. Деви и Прасад на *Brassica juncea* показали, что при обработке растений растворами меди возрастало перекисное окисление липидов – следовательно, металл индуцирует окислительный стресс. При этом наблюдалось возрастание активности таких ферментов, как пероксидазы (на 95-110%), каталазы (на 30-106%), СОД (на 9-16%). В опытах Холодовой при длительном выращивании хрустальной травки в среде с повышенным содержанием Cu и Zn отмечалось значительное возрастание активности гваяколовой пероксидазы. В ряде работ, в том числе выполненных *in vivo*, избыток меди стимулировал активность СОД, каталазы и пероксидаз. Однако не доказано, что данная стимуляция участвует в формировании толерантности к меди. Наоборот, по некоторым работам, увеличение концентрации СОД не приводило к изменению картины вызываемых медью токсических реакций. Показано также, что на фоне повышенного содержания меди активность СОД у толерантных и нетолерантных видов может не изменяться.

Никель, наряду с общими проявлениями токсичности, имеет ряд особенностей. При низкой концентрации его солей обнаружено повышение активности некоторых ферментов, не связанных с антиоксидантной защитой, например, уреазы. Действие ионов никеля на активность антиоксидантных ферментов растений-аккумуляторов и неаккумуляторов может сильно различаться. При выращивании негипераккумулятора *Alyssum maritimum* на среде с добавлением никеля, повышалась активность СОД, пероксидаз, тогда как у гипераккумулятора *A. argenteum* активность тех же ферментов была ниже. Можно полагать, что в этом случае у гипераккумуляторов существуют механизмы, обеспечивающие эффективную детоксикацию никеля, благодаря чему необходимость в активации антиоксидантных ферментов отпадает.

В опытах на *Potamogeton crispus* было показано влияние повышенных концентраций свинца на активность ферментов антиоксидантной защиты. При этом было отмечено ингибирование СОД, каталазы из-за взаимодействия свинца со специфическими группами белковых компонентов этих ферментов. Увеличение активности пероксидазы, по-видимому, отражает естественный ответ растения на избыток свободных радикалов при глубоком подавлении функций СОД и каталазы.

Существуют работы, в которых показано влияние лантана на работу ферментов-антиоксидантов. При небольших концентрациях активность СОД не изменялась по сравнению с контролем, при увеличении концентрации наблюдалось возрастание активности. Активности каталазы и пероксидазы изменялись сходно, но отлично от СОД: при повышении концентрации металла их активность снижалась.

Таким образом, можно сделать вывод, что наиболее распространенные ферменты системы антиоксидантной защиты – СОД, каталаза и пероксидаза – на самые разнообразные поллютанты реагируют немного по-разному. Исследования подобного рода проводятся, в модельных опытах. При этом в качестве поллютантов выбираются наиболее токсичные (кадмий, свинец, медь) в высоких, часто летальных концентрациях. Вместе с тем, активность ферментов антиоксидантной защиты растений из природных экосистем, обитающих долгое время при повышенном, но не летальном, содержании таких металлов, как никель, цинк, железо и марганец, изучена недостаточно.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Деви С.Р., Прасад М.Н. Антиокислительная активность *Brassica juncea*, подвергнутых действию высоких концентраций меди // Физиология растений. – 2005. – Т.52. – № 2. – С. 233-237.

2. Кулинский В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза вред и защита // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – С. 2-7.

3. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 9. – С. 20-26.

4. Рубин Б.А., Ладыгина М.Е. Физиология и биохимия дыхания растений. – М.: Изд-во МГУ, 1974. – 512 с.

5. Физиология растений: Учебник для студентов вузов /под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 640 с.

6. Ху Ц.Ц., Ши Г.С., Су Ц.С., Ван С., Юан Ц.Х., Ду. Воздействие Pb на активность антиоксидантных ферментов и ультраструктуру клеток *Potamogeton crispus* // Физиология растений. – Т. 54. – № 3. – С. 469-474.

7. Чиркова Т.С. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во С.-Пб. ун-та, 2002. – 244 с.

8. Ши П., Чен Г.С., Чж В.Хуан. Влияние La на активность ферментов, инактивирующих активные формы кислорода в листьях проростков огурца// Физиология растений. – Т. 52. – № 3. – С. 338-342.

9. Willekens H., Inze D., Van M. Montagu, M.van Camp. Catalases in plants // Molecular Breeding. – 1995. – V. 1. – P. 207-228.

Лекция 6. Низкомолекулярные компоненты системы антиоксидантной защиты растений

К низкомолекулярным компонентам системы антиоксидантной защиты растений относятся аскорбиновая кислота, токоферол, глутатион, полифенолы, каротиноиды и другие вещества.

1. Аскорбиновая кислота

L-Аскорбиновая кислота (аскорбат, витамин С) – необходимое вещество, которое находится в большом количестве в растительных тканях и играет очень важную роль. Она оказывает существенное влияние на некоторые физиологические процессы растений, включая рост, дифференциацию тканей и органов и метаболизм. Функция аскорбата – восстановление многих свободных радикалов и минимизация разрушений окислительного стресса.

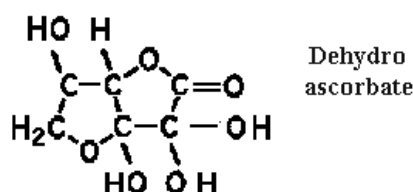
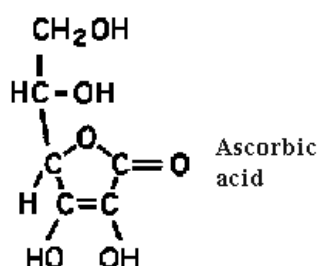
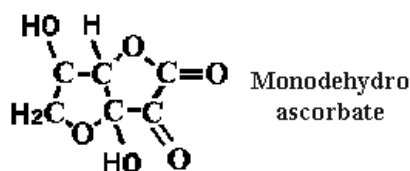
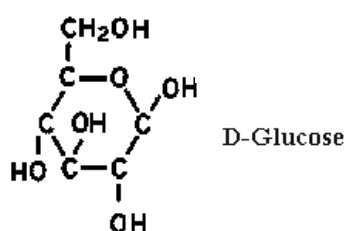
Ее синтез происходит в цитозоле из D-глюкозы в несколько стадий. Сначала происходит окисление 1С атома глюкозы, затем – формирование двойной связи между 2 и 3 атомами С.

Как антиоксидант аскорбат реагирует с супероксидом кислорода, перекисью водорода и радикалом токоферола, при этом окисляясь до монодегидроаскорбиновой кислоты (МДГА) или до дегидроаскорбиновой кислоты (ДГА). Окисленные формы превращаются в аскорбат с помощью редуктаз МДГА и ДГА соответственно. В первом случае используется восстановительный эквивалент $\text{NADPH} + \text{H}^+$, а во втором – глутатион.

Аскорбиновая кислота может прямо (без апофермента) и в качестве кофактора аскорбатоксидазы инактивировать свободные радикалы, выполняя сходную роль с супероксиддисмутазой:



а также косвенно принимать участие в детоксикации, восстанавливая токоферол.



Витамин С найден в хлоропластах, цитозоле, вакуолях и внеклеточных компартментах клетки. В клеточной стенке содержится аскорбатоксидаза, катализирующая реакцию с синглетным кислородом $^1\text{O}_2$:



В хлоропластах мезофилла листа находится около 20–40% аскорбата. Там же содержатся все ферменты регенерации восстановленной аскорбиновой кислоты из окисленных форм. Было выяснено, что H_2O_2 обезвреживается в хлоропластах в аскорбат-глутатионовом цикле при участии аскорбатпероксидазы (рис. 18). При воздействии стрессовых условий на растение за счет отдачи электронов аскорбатом на апофермент возможно усиление ее активности, что позволяет клеткам противостоять усилению окислительного стресса и обезвреживать АФК. Ферменты цикла присутствуют также и в цитозоле.

Этот цикл имеет наибольшее значение для хлоропластов. В процессе фотосинтеза образуются синглетные молекулы и супероксиды кислорода из триплетных. Они имеют высокую реакционную способность и окисляют липиды мембраны до перекисей, дестабилизируя ее.

Одна из функций этого пути – детоксикация H_2O_2 , которая может участвовать в реакции Фентона. Вторая – окисление NAD(P)H .

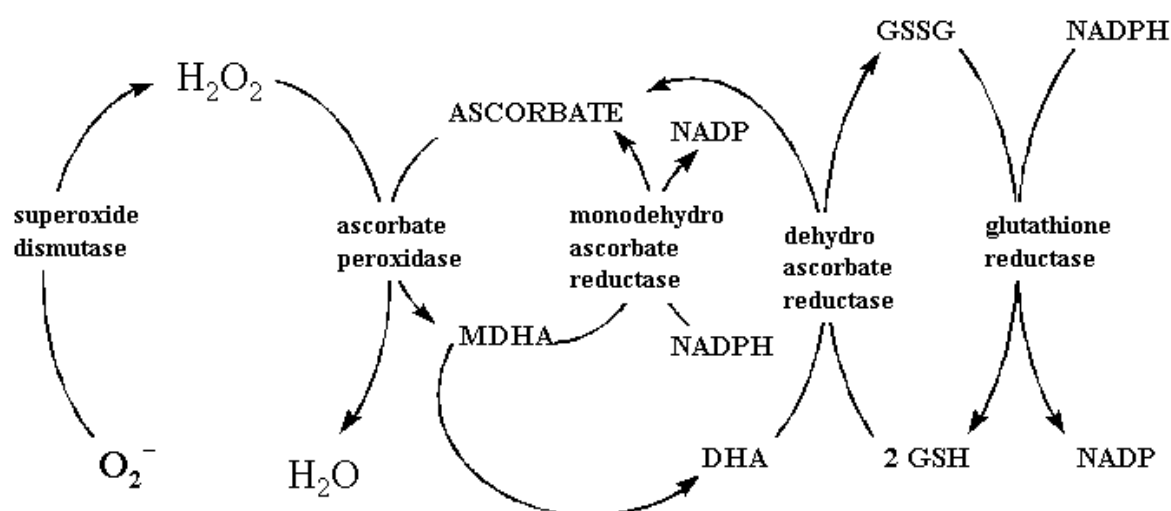
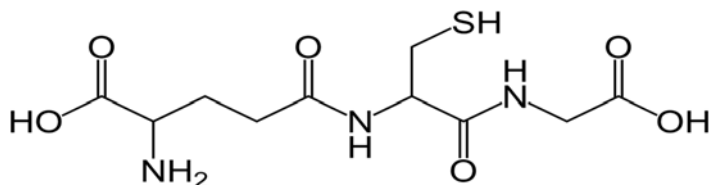


Рис. 18. Схема аскорбат-глутатионового цикла

2. Глутатион

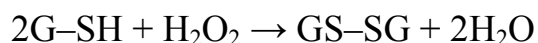
Глутатион – это маленький пептид, состоящий из трех аминокислотных остатков (γ -Глу, Цис, Гли), γ -глутамилцистеинилглицин. Необычный структурный элемент молекулы – амидная связь, образованная взаимодействием амидной группы цистеина и γ -карбоксильной группы глутаминовой кислоты.

Синтез глутатиона из глутамата, цистеина и глицина является АТФ-зависимым, двухстадийным процессом. Первая реакция образования γ -Глу-Цис из глутамата и цистеина катализируется γ -глутамилцистеинсинтетазой (ЕС 6.3.2.2), которая кодируется *gsh1* геном. Реакция, катализируемая этим ферментом, рассматривается в качестве лимитирующей стадии синтеза глутатиона. Вторая стадия синтеза глутатиона из γ -Глу-Цис и Гли катализируется глутатионсинтетазой (ЕС 6.3.2.3), которая кодируется геном *gsh2*.

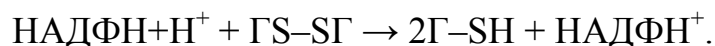


Важность глутатиона в [клетке](#) определяется его функциями. Он защищает тиольные группы белков, инактивирует радикальные частицы, разрушает перекисные соединения, реагирует с активными формами кислорода. Он может стабилизировать мембранные структуры, удаляя ацильные перекиси, образующиеся в ходе ПОЛ. При этом восстановленная форма глутатиона Г–SH превращается в окисленную GS–SG. Восстанавливается окисленный глутатион под действием [фермента глутатионредуктаза](#) (ГР).

Глутатион является [кофактором ферментов глутатионпероксидазы](#) (ГП) - восстанавливает H_2O_2 до воды при окислении глутатиона:



и глутатионредуктазы (ГР), которая постоянно находится в клетке в активном состоянии, катализируя восстановление окисленного глутатиона при участии НАДФН+Н⁺:



Глутатион участвует в восстановлении дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую в аскорбат-глутатионовом цикле:



Глутатион также может восстанавливать дегидроаскорбиновую кислоту без апофермента при pH>7 в клетке и концентрации глутатиона >1 мМ.

Способность глутатиона перехватывать свободные радикалы обуславливает его противодействие окислительному стрессу (GSH-пероксидазы используются в процессе регенерации перекисей липидов). Кроме того, в условиях стресса, вызванного тяжелыми металлами, растения синтезируют металлосвязывающие белки, такие как фитохелатины. Наличие γ-Глу связи в этих пептидах свидетельствует о том, что они не синтезируются через мРНК, а используют молекулы глутатиона в качестве мономеров. Это уменьшает пул GSH.

Снижение количества восстановленного глутатиона может также наблюдаться в результате недостатка глутатионредуктазы и/или снижения скорости синтеза. Это может приводить к сильным клеточным повреждениям. Уменьшение пула восстановленного глутатиона может свидетельствовать о его окислении до GS-SG, катализируемом тяжелыми металлами, либо использовании GSH-пероксидазами в процессе ферментативной регенерации перекисей липидов.

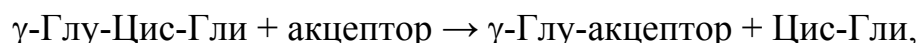
Использование GSH в антиоксидантной защите у разных видов может происходить по разным механизмам: с преобладанием процессов его ресинтеза или активного участия в окислительно-восстановительных процессах. Второй механизм метаболизма является более уязвимым, так как в условиях стресса при загрязнении ресурс глутатиона истощается. Это может привести к

нарушению функционирования глутатионзависимой антипероксидной системы клеток.

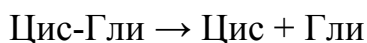
Еще один фермент, который участвует в выполнении цитопротекторных функций глутатиона, это глутатион S-трансфераза. Он играет важную роль у растений для нормального развития в стрессовых условиях. Этот фермент катализирует конъюгацию эндогенных или экзогенных электрофильных субстратов с глутатионом. Далее конъюгат транспортируется в вакуоль. Показано, что данный фермент вовлекается в механизмы устойчивости растений к различным биотическим и абиотическим факторам, в том числе и воздействию ТМ.

Не менее важен и процесс деградации глутатиона. Всего есть 2 пути распада. Они имеют два общих фермента и по одному специфичному.

Основной начинается с разрыва связи цистеином и глицином глутамилтранспептидазой, при этом переносится остаток глутамата на акцептор:



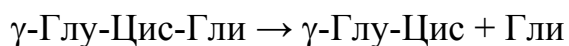
а оставшийся дипептид расщепляется глутамилциклотрансферазой:



γ -Глутамат с акцептором превращается в 5-оксопролин:



В альтернативном пути сначала происходит отщепление глицина при помощи глутамилциклотрансферазы, а расщепление оставшегося дипептида GSH-специфичной карбоксипептидазой:



Последняя стадия превращений одинакова у обоих путей. 5-оксопролин под действием 5-оксопролиназы переходит в глутамат:



Наличие альтернативного пути расщепления глутатиона у растений имеет очень большое значение. γ -Глу-Цис – наиболее общий интермедиат при синтезе и распаде трипептида. Таким образом, он может быть использован в качестве

участка регуляции содержания GSH в клетках. Так же дипептид используется при синтезе фитохелатинов.

3. Пролин

Пролин (про, про, P)– гетероциклическая аминокислота (иминокислота). У многих растений она накапливается в условиях биотического и абиотического стрессового воздействия. При этом пролин оказывает стабилизирующее действие на мембраны, уменьшает осмотический стресс, защищает белки от денатурации, участвует в передаче стрессового сигнала, регулирует redox-потенциал клетки. Есть также данные, что он участвует в инактивации свободных радикалов, образуя с ними долгоживущие конъюгаты.

Аккумуляция пролина индуцируется в условиях стресса за счет как увеличения синтеза, так и восстановления окисленной аминокислоты. Было показано, что большая часть накопленного пролина в условиях стресса является результатом увеличения его синтеза из глутамата. Есть еще другой путь синтеза – из аргинина и орнитина. При стрессе часто происходит уменьшение окисления пролина, что приводит к увеличению его уровня.

Синтез пролина в клетках происходит следующим образом (рис. 19):

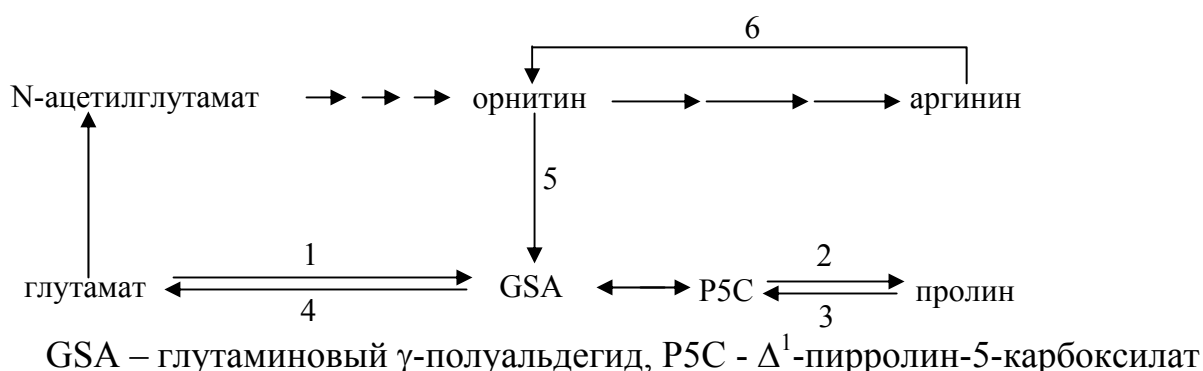


Рис. 19. Схема синтеза пролина в растительных клетках

Синтез может проходить в цитозоле, митохондриях и хлоропластах. Существует некоторая приуроченность пути синтеза к компартменту. Так, в

цитозоле синтез большей частью происходит из глутамата. При действии Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатсинтетазы (1) Глу превращается в GSA. При этом затрачивается молекула АТФ и NADPH. P5C является таутомером GSA, поэтому реакция протекает спонтанно в обе стороны. P5C восстанавливается до пролина под действием Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатредуктазы (P5CR, 2) при затрате еще одной молекулы NADPH.

Следует отметить, что конечное звено синтеза пролина и начальное звено его распада имеют разные ферменты, точно так же, как и синтеза/распада интермедиатов процесса.

Начальное звено окисления пролина катализируется FAD-зависимой пролиндегидрогеназой (PDG, 3). В результате реакции получается P5C, вода и FADH_2 . Дальнейшее окисление контролируется Δ^1 -пирролин-5-карбоксилатдегидрогеназой (P5CDG, 4), при этом снова образуется восстановленный NADPH и глутамат.

Альтернативный процесс синтеза происходит большей частью в митохондриях. Он начинается с аргинина. Его превращение в орнитин осуществляется при участии воды аргиназой (6). Орнитин δ -амино-трансфераза (OAT, 5) катализирует следующую стадию превращения – в GSA. Для этого необходим 2-оксоглутарат. Побочным продуктом данной реакции будет являться глутамат.

Выбор биосинтетического пути также зависит от азотного статуса растения. Чем выше концентрация N в клетках, тем больше предпочтение будет отдаваться синтезу через орнитин (N активирует OAT-генную экспрессию).

Оба фермента, PDG и P5CDG, связаны с внутренней мембраной митохондрий со стороны матрикса. При окислении пролина они ответственны за перенос электронов на первом участке электротранспортной цепи (ЭТЦ). Именно таким образом может регулироваться соотношение восстановленной и окисленной формы NADP. В хлоропластах синтез пролина может являться конечным акцептором электронов ЭТЦ.

На первой стадии окисления пролин может реагировать не только с атомарным кислородом, но и с $^1\text{O}_2$. Этим объясняется его антиоксидантная функция.

В большинстве случаев при действии на растение стрессоров, таких как Cu, Cr, Cd, Co, Zn, Ni, Al, уровень пролина повышается. Это можно объяснить увеличивающейся активностью OAT и P5CR и неизменяющейся PDG и P5CDG. Но наблюдаются случаи, когда при воздействии неблагоприятных условий (например, тяжелых металлов – Cd) уровень пролина уменьшается с увеличением нагрузки. Это связывают с недостатком потенциала его синтеза. Именно поэтому нельзя использовать уровень концентрации свободного пролина в клетке для определения уровня загрязненности среды обитания организма.

Хотя увеличение концентрации пролина в ответ на тяжелые металлы было описано многими авторами, физиологическое значение накопления этой аминокислоты в условиях стресса недостаточно хорошо объяснено.

4. Каротиноиды

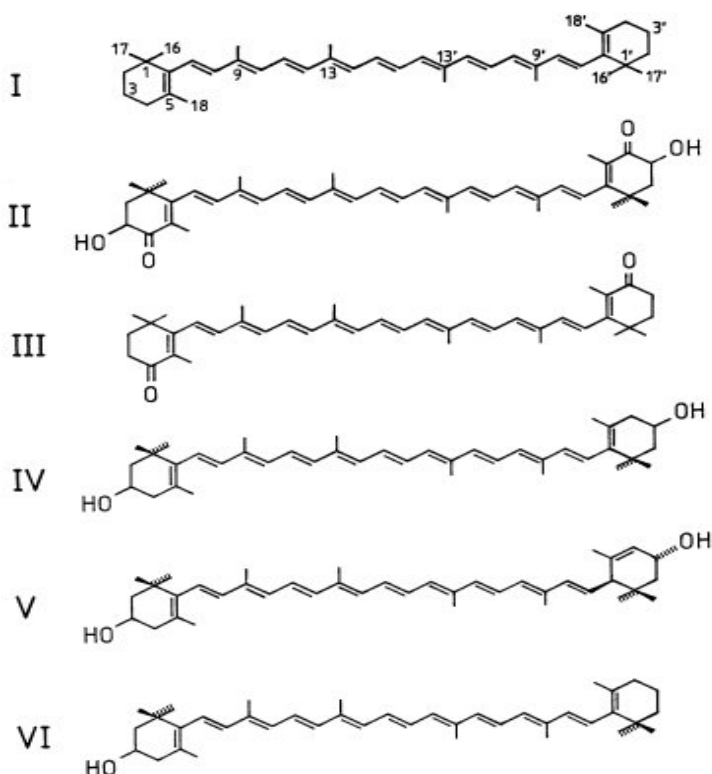
По химической природе каротиноиды относятся к классу тетратерпеноидов. Их углеводородная структура состоит из 8 изопренов (C_5 -углеводородов). Каротиноиды также относят и к классу изопреноидов; они состоят из длинных ветвящихся углеводородных цепей, содержащих несколько сопряженных двойных связей, заканчивающихся на одном (γ -каротин) или обоих концах (β -каротин) кольцевой циклической структурой – иононовым кольцом.

Длинная цепь сопряженных двойных связей образует хромофор всех каротиноидов, что позволяет отнести их к природным пигментам. Человеческому глазу каротиноиды с 7-15 конъюгированными двойными связями видятся в цвете от желтого до красного. Их хромофорные р-электронные системы находятся также под влиянием других дополнительных

двойных связей и различных функциональных групп (например, карбонильной, эпокси-группы и др.), которые также оказывают влияние на поглощение волн света определенных длин и, как следствие, на цвет молекул.

В зависимости от степени поглощения каротиноиды разделяются на 2 группы: каротины и ксантофиллы. Все незамещенные каротиноиды – каротины. Они не содержат атомов кислорода, являются чистыми углеводородами и обычно имеют оранжевый цвет. Наиболее известный представитель этой группы – β -каротин. Каротиноиды, окрашенные в цвета от желтого до красного, характеризуются наличием кислородсодержащих функциональных групп, и называются ксантофиллами.

Из-за многочисленных двойных связей, обычно циклического окончания молекул и наличия асимметричных атомов углерода, каротиноиды имеют разнообразные конфигурации и стереоизомеры с различными химическими и физическими свойствами. Большинство каротиноидов имеют цис- и трансгеометрические изомеры.



Структурные формулы некоторых каротиноидов. I – бета-каротин, II – астаксантин, III – кантаксантин, IV – зеаксантин, V – лютеин, VI – бета-криптоксантин (рис. с сайта <http://ethesis.helsinki.fi/>).

Каротиноиды хорошо растворяются в неполярных органических растворителях, а также в жирах. Именно поэтому они находятся в гидрофобном билипидном слое плазмалеммы, в составе светособирающих комплексов. Они выполняют ряд важнейших функций в процессе фотосинтеза.

1) **Антенная.** Как светопоглотители, каротиноиды разделяют с хлорофиллом ключевую роль в энергетическом метаболизме высших растений. Поглощая свет, они трансформируют захваченную световую энергию в реакционные центры пигментов, где она преобразуется в электрическую.

Следует отметить, что растения разных экологических групп отличаются по составу каротиноидов друг от друга. Это связано с тем, что доступный спектральный состав и интенсивность солнечного света различны. И в процессе эволюции растения разных местообитаний вырабатывали свой характерный состав пигментов, что позволяет им в различных условиях существования приспосабливаться и наиболее эффективно использовать доступный свет.

2) **Защитная (мембраностабилизирующая).** Благодаря наличию сопряженных двойных связей, каротиноиды могут связывать синглетный кислород и ингибируют образование свободных радикалов, предупреждая их негативное действие на организм. Они обеспечивают защиту от ультрафиолетового излучения, так как могут трансформировать энергию УФ-света в видимый свет, что проявляется в явлении флуоресценции; выступают в роли антиоксидантов, защищая чувствительные ткани и лабильные соединения от окисления.

3) **Фотопротекторная.** Они предохраняют реакционный центр от мощных потоков энергии при высоких интенсивностях света, реагируя с триплетным хлорофиллом, стабилизируют липидную фазу тилакоидных мембран, защищая ее от ПОЛ.

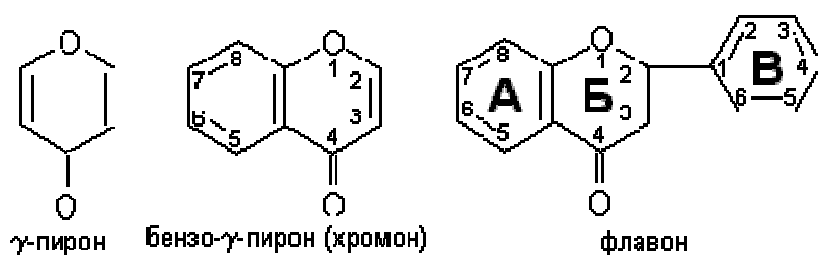
Две последние функции связаны с антиоксидантной защитой макромолекул клетки от свободных радикалов и активированных молекул (триплетный хлорофилл и синглетный кислород).

Каротиноиды отнимают избыток энергии у возбужденного хлорофилла или синглетного O_2 и рассеивают ее через процесс нерадиационной релаксации в виде тепла. Таким образом может быть предотвращен окислительный стресс. Они также могут переносить электрон с радикала и модифицировать его структуру, предотвращая дальнейшее развитие цепной реакции.

В условиях стресса у каротиноидов возрастает значение защитной функции. Они удаляют избытки свободных радикалов и активных форм кислорода, защищая липидный бислой и хлорофиллы от разрушения. У большинства растений в такой период увеличивается концентрация тетратерпенов. Но существуют случаи, когда их количество уменьшается. Причины этого пока не объяснены.

5. Флавоноиды

Флавоноидами называется группа природных биологически активных соединений – производных бензо-γ-пирона, в основе которых лежит фенилпропановый скелет, состоящий из $C_6-C_3-C_6$ – углеродных единиц. Это гетероциклические соединения с атомом кислорода в кольце.



При замещении в хромоне атома водорода в 2-положении на фенильную группу образуется 2-фенил-(2)-бензо-γ-пирон или флаван, который состоит из 2-х ароматических остатков А и В и трехуглеродного звена (пропановый скелет). Под термином **флавоноиды** (от лат. *flavus* – желтый, так как первые выделенные из растений флавоноиды имели желтую окраску, позднее установлено, что многие из них бесцветны) объединены различные соединения, генетически связанные друг с другом, и обладающие сходными свойствами. К настоящему моменту известно не менее 6467 флавоноидных структур.

Будучи постоянными и универсальными компонентами растительных тканей, флавоноиды несут значительную функциональную нагрузку:

- участвуют в процессах дыхания и онтогенеза;
- играют важную роль в окислительно-восстановительных и защитных реакциях;

- защищают растительные ткани от избыточной солнечной радиации;
- влияют на проницаемость мембран;
- являются субстратами ряда ферментов.

Защитная роль флавоноидов, как правило, выражается в повышении их биосинтеза в растительных тканях в ответ на воздействие на растение неблагоприятных факторов. Значительное повышение концентрации флавоноидов может свидетельствовать о наличии негативного воздействия на организм растения.

6. Токоферол

Токоферол (витамин E) играет важную роль в защите основных структурных компонентов биомембран, таких, как фосфолипиды и погруженные в липидный слой белки. Он обезвреживает свободные радикалы в жировом слое клеточных мембран. Из токоферолов наиболее биологически активным является α -токоферол. Он, как и витамин C, является донатором водородных ионов и является ограничителем свободнорадикальных реакций. Альфа-токоферол превращается в радикал, который может дальше реагировать с другим перекисным радикалом и в результате образуется нерадикальное соединение. Он стабилизирует мембранные структуры, в которых совершаются процессы свободнорадикального окисления путем нейтрализации свободнорадикальных радикалов в момент их образования. Молекулы витамина E локализуются во внутренних мембранах митохондрий. Они защищают их, а также лизосомы от повреждающего действия перекисей. Альфа-токоферол, располагающийся в липопротеиновом слое клеточных мембран и защищающий клеточные мембраны от перекисного окисления, является главным жирорастворимым антиоксидантом в организме. Он эффективно прерывает цепные свободнорадикальные реакции в процессе перекисления ненасыщенных жирных кислот в мембранах, предупреждает атерогенные изменения липопротеинов. Являясь донатором водородных

атомов, витамин Е может инициировать цепную реакцию пероксидации липидов. Его радикал незначительно активен в отношении свободных жирных кислот. Альфа-токоферол играет важную роль в обмене селена – составной части глутатионпероксидазы, которая защищает мембраны от пероксидных радикалов. Предотвращая аутоокисление липидов мембран, альфа-токоферол снижает потребность в глутатионпероксидазе.

7. Убихинон

Убихинон (коэнзим Q) необходим в клетке для течения процессов окисления и локализован преимущественно в мембранах митохондрий. Принимает участие в транспорте электронов по дыхательной цепи на участке между флавиновыми ферментами и цитохромами. Как и витамин Е, он является ингибитором радикалов фенольного типа, непосредственно реагирует с перекисными радикалами, уменьшает их концентрацию, стабилизирует мембрану. Витамин Е осуществляет первичную защиту от перекисного окисления, а убихиноны присоединяются к процессу после значительного использования витамина.

Токоферолы, убихиноны и витамины группы К наиболее близки по своему составу. В каждую из этих групп входят родственные соединения: хиноны, хинолы, хроменолы и хроманолы. Хинолы и циклические хроменолы и хроманолы являются восстановленными формами, хиноны – окисленными. Каждая группа антиоксидантов выполняет свою функцию и присутствует в липидах преимущественно в одной, выгодной для них форме.

Для убихинонов наиболее устойчивой является хинонная форма. Токоферолы находятся в липидах в основном в циклической форме – как в виде свободного токоферола, так и в виде его сложных эфиров. В организме эфирные формы с помощью ферментов легко гидролизуются до свободного токоферола. В окислительных реакциях токоферолы, выполняя функцию антиоксидантов, реагируют с перекисными радикалами, образуют

феноксильные радикалы, превращающиеся затем в хиноны, димеры, тримеры. Боковые цепи природных антиоксидантов различаются степенью ненасыщенности: у токоферолов нет двойных связей в боковых заместителях, у витаминов К – не насыщено первое изопентановое звено, цепь убихинонов содержит по одной двойной связи в каждом изопентановом звене. Таким образом, наличие длинных боковых заместителей является общим свойством данной группы природных антиоксидантов. Исследование разных форм этих веществ показало, что они могут непосредственно реагировать с перекисными радикалами углеводов, т.е. обладают антирадикальной активностью, причем наиболее эффективно с радикалами взаимодействуют восстановленные формы. Способность ингибировать реакции ПОЛ присуща только восстановленным формам природных антиоксидантов и связана с наличием в молекуле гидроксильной группы. Природные антиоксиданты имеют лабильную гидроксильную группу и сравнительно легко реагируют с перекисными радикалами углеводорода.

Таким образом, ингибирование радикалов осуществляется системой антиоксидантов. Начальную стадию аутоокисления в мембранах угнетают токоферол, полифенолы, супероксиддисмутаза. Радикалы токоферола, полифенолов регенерируются под влиянием аскорбиновой кислоты, находящейся в гидрофильном слое мембран. Окисленные формы аскорбиновой кислоты восстанавливаются глутатионом, которые в свою очередь получают атомы водорода от НАДФН+Н⁺. В ингибировании участвуют ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные превращения глутатиона и аскорбиновой кислоты- глутатионзависимая редуктаза и дегидрогеназа, а также каталаза и пероксидаза. Представленная система поддерживает свободнорадикальное окисление на чрезвычайно низком уровне. По мнению Ленинджера, аутоокисление липидов в организме полностью ингибируется витамином Е, аскорбиновой кислотой, различными ферментами. Функционирование цепи биоантиоксидантов и системы ферментов зависит от фонда атомов водорода (НАДФН+Н⁺). В свою очередь, этот фонд пополняется

за счет дегидрирования энергетических субстратов, т.е. при ферментативном окислении. Эти факты свидетельствуют о наличии связи между ферментативным окислением (окислительным фосфорилированием) и свободнорадикальным окислением. Длительная, а также часто повторяющаяся, интенсификация свободнорадикального окисления приводит к истощению антиоксидантной системы (дефициту витаминов Е, С, β -каротина, глутатиона, селена, снижению активности СОД, каталазы, глутатионпероксидазы и др.) Так как свободнорадикальные процессы совершаются не только в клеточных мембранах, но и в цитозоле, внеклеточном окружении, эффективная антиоксидантная защита возможна при одновременном действии жирорастворимых и водорастворимых антиоксидантов.

Полученные к настоящему времени данные показывают, что устойчивость растительных организмов к разнообразным воздействиям во многом определяется состоянием систем детоксикации АФК. Более устойчивые формы растений обладают более высоким содержанием аскорбата, α -токоферола, активностью СОД, каталазы, глутатионредуктазы и других ферментов, участвующих в элиминировании кислородных радикалов. Важным свойством растений является их способность к индукции активности своих антиоксидантных систем в неблагоприятных условиях. Обычно это происходит за счет увеличения активности отдельных компонентов этой системы (чаще всего СОД), но иногда индуцируются сразу несколько компонентов.

Таким образом, к настоящему времени достаточно хорошо известно защитное действие низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы растений. Однако механизмы их защитного действия выяснены недостаточно. Данные о том, какие факторы в природных местообитаниях вызывают повышение содержания антиоксидантов в растениях и каким образом эти ответные реакции проявляются у разных видов, весьма немногочисленны.

Образование АФК и последующие окислительные изменения органических веществ представляют собой неспецифические реакции. У растений, устойчивых к различным воздействиям, процессы генерации АФК

обычно заторможены, что во многом определяется активным функционированием у них систем детоксикации. Возможно, именно с этим связана в значительной мере и большая стойкость мембран устойчивых растений к стрессорам.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. – М.: Мир, 1986.– 422 с.
2. Кулинский В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – С. 2-7.
3. Лебедева Т.С., Сытник К.М. Пигменты растительного мира. – Киев: Наукова думка, 1986. – 86 с.
4. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 9. – С. 20-26.
5. Мецлер Д. Биохимия. – М.: Мир, 1980. – Т. 2. – 608 с.
6. Племенков В. В. Введение в химию природных соединений. – Казань, 2001. – 376 с.
7. Hare P. D., Cress W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulations in plants // Plant Growth Regulations. – 1997. – V. 21. – P. 79-102.

Раздел 3. Стрессоры физической природы и ответные реакции растений

Лекция 7. Водный дефицит и засухоустойчивость растений

1. Определение понятия засухи. Типы засухи

Засуха – неблагоприятное сочетание метеорологических условий, при которых растения испытывают водный дефицит. Различают атмосферную и почвенную засуху.

Атмосферная засуха возникает при недостаточной влажности воздуха. Может быть вызвана сухим и горячим ветром (суховеем). Продолжительная атмосферная засуха приводит к почвенной засухе.

Причины **почвенной засухи** – длительное отсутствие дождя, испарение воды с поверхности почвы и интенсивная транспирация, сильные ветры при пониженной влажности воздуха, – все это приводит к обезвоживанию корнеобитаемого слоя почвы.

Есть понятие **мерзлотной засухи**, которая возникает в условиях низких температур и низкой влажности почвы и воздуха.

Как известно, разнообразные глинистые минералы и гумусовые вещества почвы – коллоиды могут удерживать значительное количество воды. Кроме того, вода входит в состав многих сложных комплексов, образующихся в почве. Эта вода называется связанной и недоступна для растений. Доступна вода почвенного раствора, содержащаяся в капиллярах почвы, или капиллярная вода. Количество воды, которое почва способна удержать вследствие капиллярных взаимодействий и оводнения коллоидных частиц, называется полевой влагемкостью. Она характеризует максимальное количество почвенной влаги. После атмосферных осадков в почве помимо капиллярной воды бывает много так называемой гравитационной воды. Она тоже потребляется растениями, но довольно быстро уходит в нижележащие

почвенные горизонты. Почва среднего механического состава (супесчаная и суглинистая) имеет максимальную полевую влагоемкость. В глинистых почвах больше связанной воды, а в песчаных – гравитационной.

Дефицит влаги наблюдается в жаркое полуденное время, при этом увеличивается сосущая сила листьев, что активизирует поступление воды их почвы и раскрытие устьиц. Тургор листьев, потерянный днем, восстанавливается вечером и ночью. Такое состояние растений называется временным завяданием, а влажность почвы, приводящая к этому, – влажностью временного завядания. Когда запасы доступной воды в почве исчерпаны, развивается глубокое, или стойкое, завядание растений, в этом случае тургесцентность тканей утром не восстанавливается. Влажность почвы в этих условиях – это влажность стойкого завядания (40% от полной влагоемкости). Разность между полевой влагоемкостью и влажностью временного завядания отражает запас доступной воды в почве.

Большинство активно вегетирующих растений завядают при водном дефиците -1.5 МПа, а гибнут при -15 МПа. Пыльца растений выносит водный дефицит до -100, а семена до -150 МПа.

Различают 2 типа увядания – *временное* и *длительное*.

Временное увядание – наблюдается чаще при атмосферной засухе, когда днем транспирация увеличивается настолько, что поступающая из почвы вода не успевает восполнить ее потерю. Однако при уменьшении транспирации, например, ночью водный дефицит исчезает, тургор восстанавливается и возобновляется нормальная жизнедеятельность. Большого вреда временное завядание не приносит, но все же снижает урожай, т.к. какое-то время устьица были закрыты, а фотосинтез и рост останавливались. Временное увядание нередко наблюдается у сахарной свеклы, подсолнечника, тыквы.

Длительное увядание проявляется в тех случаях, когда почва не содержит доступной для растений воды. Возникший при этом в тканях растения водный дефицит не восстанавливается за ночь, и к утру клетки растения не могут нормально выполнять свои функции. В этом случае даже низкая транспирация

постепенно приводит к падению тургора во всех частях растения и к уменьшению водного потенциала клеток листьев. Увядающие листья начинают оттягивать воду из верхушечных меристем побегов и корней, даже из корневых волосков, которые отмирают. В результате нарушается не только поглощение солей, но и долго не восстанавливается нормальное поступление воды после полива растений. Образование и рост органов приостанавливаются, задерживается формирование новых цветков, а имеющиеся бутоны, цветки и плоды опадают.

2. Влияние засухи на метаболизм растений

При недостатке воды в растениях происходят значительные изменения в обмене веществ. Содержание свободной воды в клетках уменьшается, возрастает концентрация клеточного сока и цитозоля. Гидратные оболочки белков и других полимеров утоньшаются или утрачиваются. Потеря гидратных оболочек у белков приводит к нарушению их третичной и четвертичной структуры, и, в конечном счете, к денатурации. Активность ферментов снижается, а затем они инактивируются.

Проницаемость мембран возрастает. Вследствие дегидратации мембраны утрачивают бислойные структуры и в них обнаруживаются значительные конформационные изменения. Меняется и качественный состав мембран, уменьшается количество ненасыщенных жирных кислот в составе липидных компонентов мембран. Текучесть мембран уменьшается и ингибируется их функциональная активность. При увеличении проницаемости плазмалеммы она теряет кальций, при этом улучшается ее проводимость для воды. Одновременно с транспортом воды изменяется активность цАМФ и Ca^{2+} -зависимой протеинкиназы, которые участвуют в качестве мессенджерных систем в регуляции транспорта воды. Так, для удержания воды в клетке необходимо цАМФ-зависимое фосфорилирование белков мембран, которое возможно в присутствии определенного количества кальция.

Гидролиз различных органических веществ начинает преобладать над их синтезом. В результате происходит накопление низкомолекулярных белков, усиливается гидролиз полисахаридов и увеличивается концентрация растворимых углеводов. С одной стороны – это осмотически активные вещества, и увеличение их содержания способствует повышению концентрации вакуолярного клеточного сока и росту осмотического давления, а значит большему поступлению воды. С другой стороны, состав клеток меняется, значительная часть ионов выходит из клеток, что ведет к подавлению синтеза и инактивации ферментов. Гидролитические процессы активируются в первую очередь в старых листьях нижних ярусов. Интенсивный отток продуктов гидролиза в верхние более молодые листья и включение их в обмен веществ позволяют растению более экономно расходовать питательные субстраты, а опадение листьев уменьшает транспирирующую поверхность.

Снижается количество РНК. Наблюдается распад полирибосомных комплексов. Изменения, касающиеся ДНК происходят лишь при длительной засухе. В большинстве случаев суммарный фотосинтез снижается вследствие: недостатка CO_2 из-за закрывания устьиц, нарушения синтеза хлорофиллов, разобщения транспорта электронов и фотофосфорилирования, изменений в фотохимических реакциях и реакциях восстановления CO_2 , нарушения структуры хлоропластов, задержки оттока ассимилятов из листьев при длительном водном дефиците. У растений, не приспособленных к засухе, значительно увеличивается интенсивность дыхания, а затем снижается. Первоначальное повышение интенсивности дыхания связано с увеличением энергетических затрат на синтез осмотиков, защищающих белки от обезвоживания. При более продолжительном воздействии происходит спад интенсивности дыхания и снижается его энергетическая эффективность в результате повреждения дыхательных систем. В начале засухи благодаря временно увеличивающейся интенсивности дыхания образуется метаболическая вода – это один из способов приспособления к засухе.

При дефиците влаги происходит изменение соотношения гормонов – увеличивается содержание АБК и уменьшается содержание ауксинов и цитокининов. АБК вызывает закрывание устьиц, уменьшение интенсивности транспирации, фотосинтеза. У суккулентов, наоборот, происходит увеличение содержания ауксинов и некоторое снижение содержания АБК и этилена, что позволяет растениям быстро возобновить свой рост, когда появляются дожди.

Тормозятся клеточное деление и особенно растяжение, что приводит к формированию мелких клеток. Вследствие этого задерживается рост самого растения, особенно листьев и стеблей. Рост корней сначала ускоряется и снижается лишь при длительной засухе. Корни реагируют на засуху рядом защитных приспособлений: опробковением, суберинизацией экзодермы, ускорением дифференцировки клеток, выходящих из меристемы.

3. Экологические группы растений с разной устойчивостью к дефициту воды

По способности переносить условия засухи различают растения *гомойогидрические*, т.е. способные активно регулировать свой водный обмен, и *пойкилогидрические*, водный обмен которых определяется содержанием воды в окружающей среде. При засухе они пассивно теряют воду.

Большинство высших растений являются гомойогидрическими. Они обладают тонкими механизмами регуляции устьичной и кутикулярной транспирации, а также мощной корневой системой, обеспечивающей поставку воды. Поэтому даже при значительных изменениях влажности не наблюдается резких колебаний содержания воды в клетках.

Различают (по Вармингу, 1895):

1. Ксерофиты (греч. *xerox* – сухой) – растения засушливых мест – пустынь, саванн, степей, – где воды в почве мало, а воздух сухой и горячий.

2. Гигрофиты (греч. *hygros* – влажный) – наземные растения, обитающие в районах с большим количеством осадков и высокой влажностью воздуха. Гигрофитам близки гелофиты – растения болот, берегов водоемов.

3. Гидрофиты (греч. *gidro* – вода) – водные растения с листьями, частично или полностью погруженными в воду или плавающими.

4. Мезофиты (греч. *mesos* – средний, промежуточный) – растения, обитающие в условиях умеренной влажности.

Засухоустойчивость – это способность растений в течение онтогенеза переносить засуху и осуществлять в этих условиях рост и развитие благодаря наличию ряда приспособительных свойств.

Эволюционные (филогенетические) адаптации растений-ксерофитов к засухе шли по пути формирования следующих механизмов:

- поддержание необходимой для нормальной жизнедеятельности оводненности тканей;
- развитие приспособлений для нормального течения метаболизма в условиях дегградации;
- эффективное восстановление (репарация) клеточных структур и функций после сильного обезвоживания;
- быстрое завершение онтогенеза до наступления засушливого периода.

Ксерофиты делятся по механизму приспособления к засухе на следующие группы (По Генкелю, 1988):

1-я группа – суккуленты или псевдоксерофиты (кактусы, агавы, молодило, алоэ, очиток). Они запасают влагу в листьях, стеблях, покрытых толстой кутикулой, волосками. Эти органы становятся толстыми из-за сильно развитой водозапасающей паренхимы. После дождей в ней запасается вода, которая долгое время покрывает потребности растения. Например, колонновидный кактус цереус высотой около 10 м может содержать в стебле до 3000 л воды. У корневых суккулентов (сейба мелколистная) на корнях образуются вздутия диаметром до 30 см. В период дождей в их губчатой

середине накапливается вода. Некоторые суккуленты Сахары благодаря накопленной воде живут до 6 месяцев на полностью высохшей почве.

Другим общим признаком суккулентов является экономное расходование воды, которое достигается за счет низкой интенсивности транспирации. У кактусов небольшая интенсивность транспирации связана, во-первых, с сокращением испаряющей поверхности благодаря превращению листьев в колючки. При этом фотосинтетическую функцию листьев выполняют стебли. Во-вторых, у них не только мало устьиц, но днем они закрыты в течение длительного времени, а открываются ночью. В результате в отличие от других растений транспирация у суккулентов днем идет медленнее, чем ночью, тем более что ночью температура воздуха ниже, а влажность выше, чем днем.

Уменьшению интенсивности транспирации способствуют толстая кутикула и опушение стеблей и листьев. У суккулентов корневая система поверхностная, в почву уходит неглубоко. Траты воды сведены к минимуму, обезвоживание суккуленты переносят плохо. Эти растения способны использовать даже скудную влагу атмосферных осадков. К ним относят растения с САМ-типом фотосинтеза, которые эффективно используют воду. У таких растений мало устьиц, днем они обычно закрыты, что предотвращает потерю воды, а открываются ночью. Тогда CO_2 поступает в листья и в результате карбоксилирования ФЕП сохраняется в виде оксалоацетата, который, восстанавливаясь до малата, накапливается в вакуолях клеток листа. Использование внутренних резервов CO_2 происходит днем при закрытых устьицах. Малат из вакуоли поступает в цитоплазму, декарбоксилируется НАДФ-зависимым малик-энзимом, в результате чего образуется пируват и CO_2 . Углекислота поступает в хлоропласты и включается в цикл Кальвина.

В аридных условиях растения попадают в крайне сложное положение: с одной стороны, они должны экономить воду, с другой – им необходима углекислота, без которой невозможен фотосинтез. Поэтому разделение у суккулентов фиксации и ассимиляции CO_2 во времени экологически выгодно.

У этих растений дыхание ночью идет до образования только органических кислот, а днем – до образования CO_2 и воды, которая получила название – метаболической. Предполагают, что метаболическая вода может пополнять в тканях водные запасы суккулентов. Большое количество кислот в клеточном соке этих растений уменьшает его водный потенциал, и клетки легче удерживают воду, это особенно важно, когда устьица открыты. Углекислый газ, образованный при дыхании, полностью используется для фотосинтеза.

Из-за затрудненного газообмена фотосинтез и рост у этих растений идут медленно. По этой причине суккуленты не могут конкурировать с другими растениями за территорию. Вот почему они встречаются чаще всего в самых засушливых районах, где другие формы развиваться уже не могут. В период сильной засухи у кактусов отмирают боковые корни.

2-я группа – несуккулентные ксерофиты, которые по уровню транспирации делятся на **4 подгруппы**:

- *эуксерофиты или настоящие ксерофиты* (полынь) – жароустойчивы, с небольшими опушенными листьями, транспирация невысока, могут выносить сильное обезвоживание, осмотическое давление велико, корневая система разветвлена, находится на небольшой глубине. Для них характерно экономное расходование воды благодаря регуляции работы устьиц. Они переносят как обезвоживание, так и перегрев, однако при обилии воды в почве их рост активизируется. Эти растения могут переносить длительное увядание.

- *гемиксерофиты или полуксерофиты* (шалфей, верблюжья колючка). Отличаются интенсивной транспирацией благодаря деятельности глубокой корневой системы, достигающей до грунтовых вод; транспирация способствует самоохлаждению, число устьиц велико, хорошо развита система проводящих элементов. Вязкость цитоплазмы низкая. Полное обезвоживание без доступа корней к источнику воды гемиксерофиты переносят плохо. Например, верблюжья колючка имеет тонкие листья с большим количеством устьиц и проводящих пучков. Листья не имеют хорошо развитой кутикулы и склеренхимы, интенсивно транспирируют: в течение часа вода в тканях

несколько раз сменяется. Интенсивная транспирация понижает температуру растения. Большой расход воды восполняется ее активным поступлением. Длинные корни до 10 м и более достигают грунтовых вод и непрерывно снабжают побеги водой. Устьица широко открыты даже в очень жаркие дни, поэтому фотосинтез идет быстро. Высокая концентрация клеточного сока обуславливает низкий водный потенциал. Несмотря на хорошее водоснабжение и интенсивный фотосинтез, надземные органы растут медленно, т.к. большая часть ассимилятов расходуется на образование корней. Листья часто покрыты волосками, защищающими хлорофилл от интенсивного света.

- *стипаксерофиты* (степные злаки, ковыль) – быстро используют влагу кратковременных дождей, хорошо переносят перегрев, но лишь недолгое обезвоживание. У них жесткие кожистые листья с небольшим количеством устьиц. У ряда представителей этого типа сильно развита кутикула или опушение.

- *пойкилоксерофиты* (лишайники, мхи, ряд цветковых растений) не способны регулировать водный режим, поэтому теряют воду, вплоть до перехода в воздушно-сухое состояние, и при засухе впадают в анабиоз. Водный дефицит вызывает у них постепенное снижение интенсивности обмена веществ. Клетки, отдавая воду, постепенно уменьшаются в объеме.

3-я группа – эфемеры – растения, которые уходят от засухи. У них короткий онтогенез. Они успевают прорасти, зацвести и дать зрелые плоды в тот короткий отрезок времени, когда идут весенние или осенние дожди, влажность почвы высокая и нет экстремальных температур. Некоторые эфемеры Сахары плодоносят через 8-15 дней после прорастания. Остальную часть года, неблагоприятную для жизнедеятельности, эфемеры переносят или в состоянии зрелых семян, которым не страшно глубокое высушивание, или у них есть специальные органы, запасавшие воду – луковицы. По существу эфемеры являются мезофитами, они просто уходят от засухи. Например, растения степей – тюльпаны, маки, вероники.

4-я группа – эпифиты. Эти растения поселяются на стволах и побегах других растений, используя их для своего прикрепления. Они часто попадают в условия недостатка воды, потому что могут использовать только воду, стекающую по стволу, поглощать ее из влажного воздуха и собирать во время дождя в специальные органы – бульбусы. Поэтому их относят к ксерофитам. Воду они расходуют экономно.

Таким образом, можно выделить 2 генеральных пути эволюции растений в экстремальных условиях. Один направлен на обеспечение ухода растений от засухи (пассивная адаптация), другой – на формирование механизмов устойчивости (активная адаптация). Однако в процессе эволюции не появились растения, которые бы любили засуху. Есть лишь растения, выживающие в условиях жесткого водного дефицита.

Мезофиты, произрастающие в умеренном климате, более требовательны к воде и менее устойчивы к засухе, чем ксерофиты. Эти растения оказываются в условиях засухи при длительном отсутствии дождей, могут выносить кратковременный водный дефицит и перегрев и характеризуются сбалансированным водным обменом.

Мезофиты могут приспосабливаться к временной засухе, при этом у них выявляются признаки ксерофитов. Например, верхние листья у мезофитов, которые хуже снабжаются водой, отличаются мелкоклеточностью. У них большое количество мелких устьиц на единицу поверхности, которые остаются дольше открытыми. Сеть проводящих пучков гуще, палисадная паренхима развита лучше. Явление ксероморфизации верхних листьев известно как закон Заленского. Благодаря открытым устьицам фотосинтез поддерживается на высоком уровне, образуется значительное количество ассимилятов, что способствует увеличению концентрации клеточного сока и оттягиванию воды от ниже расположенных листьев. Таким образом, возникновение ксероморфной структуры служит анатомическим приспособлением к засухе.

4. Механизмы устойчивости растений к водному дефициту

Механизмы устойчивости к водному дефициту делят на способы избежания стресса и механизмы толерантности, позволяющие функционировать при дегидратации.

Избежание высыхания обеспечивается высоким водным потенциалом за счет добывания воды, ее удержания и экономного расходования. Для этих растений характерно:

- 1) Глубокое проникновение корней вплоть до грунтовых вод и большая скорость роста (гемиксерофиты).
- 2) Хорошая устьичная регуляция (суккуленты).
- 3) Меньшее количество устьиц, погруженные устьица (суккуленты, ксерофиты).
- 4) Определенная ориентация листьев и их скручивание (гемиксерофиты, стипаксерофиты).
- 5) Уменьшение размеров листьев, их опушенность, многослойный эпидермис и палисадная паренхима (мезофиты, ксерофиты).
- 6) Толстая кутикула для снижения кутикулярной транспирации, которая может составлять от 5 до 20% и даже 50% от полной транспирации у приспособленных видов (ксерофиты).
- 7) Большое число крупных сосудов ксилемы (гемиксерофиты).
- 8) Высокое содержание осмотически активных веществ (ксерофиты).
- 9) Опадение листьев, поскольку листопадность деревьев возникла как приспособление не только холодного времени года, но и сухих сезонов (мезофиты, ксерофиты). Если вслед за сухим периодом наступает сезон дождей, то могут появиться новые листья, что повторяется несколько раз в году.
- 10) Уход от засухи (эфемеры).

Механизмы устойчивости функционируют на уровне клетки, организма и популяции. На уровне клетки большую роль в обеспечении высокого водного потенциала играет осмотическая регуляция. Осмолиты образуют группу

химически разнообразных низкомолекулярных органических соединений. Они хорошо растворяются в воде, нетоксичны и не вызывают изменений в метаболизме, поэтому получили название совместимых веществ. У совместимых веществ существует тенденция быть нейтральными при физиологических значениях pH. В цитоплазме они находятся в недиссоциированной форме, либо в форме молекул, несущих положительный и отрицательный заряды, которые пространственно разделены. Некоторые осмолиты являются амфифильными соединениями. Они несут как неполярные (гидрофобные), так и полярные (гидрофильные) группы. Общая функция осмолитов – участие в процессе осморегуляции. Роль таких веществ играют различные моно- и олигосахариды, аминокислоты, в первую очередь, пролин, производные аминокислот – бетаины и многоатомные спирты (маннитол, пинитол, сорбитол, арабитол).

Наряду с осморегуляцией совместимые вещества выполняют еще одну очень важную функцию. Это защитная, или протекторная по отношению к цитоплазматическим биополимерам. Поэтому осмолиты называют еще осмопротекторами. Считается, что осмолиты не разрушают гидратные оболочки биополимеров. Например, ионы Na^+ , Cl^- , могут проникать через гидратную оболочку белков и влиять на нековалентные связи, которые поддерживают структуру белковой молекулы. В отличие от ионов натрия и хлора осмолиты, такие как пролин и глицин-бетаин, не проникают через гидратную оболочку и не вступают в прямой контакт с белком, но создают препятствие для разрушения ионами гидратной оболочки белка и его денатурации.

Некоторые низкомолекулярные органические соединения, синтез которых индуцируется стрессорным воздействием, образуются в клетках в количествах, явно недостаточных для выполнения осморегуляторной функции. Тем не менее они играют важную роль при стрессах как протекторы биополимеров. Это диамин путресцин ($\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$), и образующиеся из

него полиамины – спермидин ($\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-NH-(CH}_2\text{)}_4\text{-NH}_2$) и спермин ($\text{H}_2\text{N-(CH}_2\text{)}_3\text{-NH-(CH}_2\text{)}_4\text{-NH-(CH}_2\text{)}_3$).

Полиамины широко распространены в растениях. Они стимулируют реакции, вовлеченные в синтез ДНК, РНК и белков. Полиамины обладают высоким сродством к биомолекулам, несущим отрицательные заряды, в частности к ДНК, РНК, фосфолипидам и кислым белкам, а также анионным группам компонентов мембран и клеточных стенок. В растениях полиамины вовлечены во многие физиологические процессы, включая клеточное деление, формирование цитоскелета, инициацию роста корней эмбриогенез и созревание плодов.

Полиамины предотвращают повреждения биомолекул, вызываемые засухой, засолением, низкими температурами и озоном. Структуры ДНК, РНК, рибосом, а также мембран, находящихся в комплексе с полиаминами, стабилизируются. Снижая активность РНКаз и протеаз, увеличенные в стрессовых условиях, полиамины повышают точность считывания информации при синтезе белков и тормозят лизис клеточных структур.

Пролин – стрессовый метаболит, содержание которого сильно возрастает при засухе, что связывают с распадом хлорофилла, белков. Установлена связь пролина и АБК, поскольку последняя увеличивает его содержание. Пролин образуется из органических кислот – интермедиатов дыхания и азота нитратов, которые особенно интенсивно накапливаются в сосудистых пучках и эпидермисе. Исходным веществом для синтеза пролина является либо глутамат, либо орнитин.

Глицин-бетаин образуется в клетках многих водорослей и высших растений. Он образуется в хлоропластах из холина, входящего в состав фосфолипидов. Накопление глицин-бетаина в клетках способствует повышению засухо- и солеустойчивости растений. Такие растения поддерживают относительное содержание воды и тургорное давление на более высоком уровне, а также осуществляют фотосинтез с большей скоростью, чем растения, не накапливающие глицин-бетаин. Поэтому были сделаны попытки

повысить засухо и солеустойчивость ряда растений путем получения трансформантов с генами ферментов, отвечающих за синтез глицин-бетаина. Например, трансгенные растения табака.

Важную роль выполняют сахара. Сахароза образует комплексы с ИУК, в результате гормон теряет активность, что является одной из причин торможения роста и повышает устойчивость.

Таким образом, подобное увеличение концентрации осмотически активных соединений без изменения объема клеток и падения тургора называют *осмотическим регулированием* или *эджасментом*.

5. Роль стрессовых белков при засухе

В условиях водного дефицита активируется синтез различных стрессовых белков, в том числе и белков, удерживающих воду и ионы. Так, в клетках при засухе накапливается *осмотин*. Его содержание может составлять 12% от общего содержания белка. Он локализован в вакуолях и везикулах тонопласта.

При обезвоживании синтезируются белки-дегидрины *семейства LEA* или *белков позднего эмбриогенеза*. В настоящее время выделено 5 групп этих белков, каждая из которых характеризуется определенными особенностями первичной структуры. Все LEA-белки локализованы преимущественно в цитоплазме и содержат гидрофильные аминокислоты, т.е. обладают повышенной способностью удерживать молекулы воды. Многие из них обогащены аланином и глицином и лишены цистеина и триптофана. Они активно связывают ионы, концентрация которых сильно возрастает в условиях обезвоживания, что позволяет защищать ферменты от повреждающего действия увеличивающихся концентраций солей в клетках. Отдельные белки заменяют молекулы воды вблизи мембран, тем самым сохраняя их нативную структуру.

LEA-белки 1 группы характеризуются высоким содержанием заряженных аминокислот и глицина, что позволяет им эффективно связывать воду.

Предполагается, что белки 2 группы выполняют функции шаперонов. Образуя комплексы с другими белками, они предохраняют последние от повреждений в условиях деградации клетки. Некоторые LEA-белки (группы 3 и 5) участвуют в связывании ионов, которые концентрируются в цитоплазме при потере клетками воды. LEA-белки 4 группы могут замещать воду в примембранной области и этим поддерживать структуру мембран при дегидратации.

Шапероны и ингибиторы протеаз. Шаперонами называют белки, которые связывают полипептиды во время их сворачивания, т.е. при формировании третичной структуры, и сборки белковой молекулы из субъединиц, т.е. при формировании четвертичной структуры. Взаимодействуя с полипептидами, шапероны предотвращают ошибки в сворачивании и сборке и этим препятствуют агрегации полипептидных цепей. Некоторые шапероны играют роль ремонтных станций, исправляющих неверное сворачивание. Одна из главных функций шаперонов – сворачивание и разворачивание, а также сборка и разборка белков при их транспорте через мембраны. Полипептидная цепь может пройти через пору в мембране лишь в развернутом виде. Некоторые шапероны взаимодействуют с вновь синтезированными полипептидными цепями и поддерживают их линейную структуру, так что полипептидные цепи могут сразу транспортироваться в нужный компартмент клетки. Другие шапероны связываются с аминокислотами полипептидной цепи, как только она покажется на другой стороне мембраны, и осуществляют сворачивание. При дегидратации клеток тенденция к повреждениям и денатурации белков усиливается, поэтому защитная роль шаперонов в этих условиях возрастает. Стрессовые условия активируют биосинтез шаперонов в клетках.

При осмотическом стрессе происходит индукция биосинтеза ингибиторов протеаз, препятствующих протеолитическому расщеплению белков, которые при дегидратации клетки сохраняют свою структуру и функциональные свойства.

Протеазы и убиквитины. При обезвоживании клеток, несмотря на действие защитных соединений и шаперонов, часть клеточных белков

подвергается денатурации. Денатурированные белки должны быть гидролизованы. Эту функцию выполняют протеазы и убиквитины, экспрессия генов которых также индуцируется стрессорами. Убиквитины – это низкомолекулярные (8.5 кД) высококонсервативные белки. Присоединяясь к N-концу денатурированного белка, они делают белок доступным для действия протеаз. Таким образом осуществляется селективная деградация денатурированных белков.

Аквапорины. Трансмембранное движение воды происходит в основном через водные каналы, образованные белками аквапоринами. За счет изменения числа водных каналов в мембране и их проводимости осуществляется быстрая регуляция трансмембранных потоков воды, это особенно важно при водном дефиците. Показано, что поглощение воды клетками в ответ на увеличение внутриклеточных концентраций осмолитов, сопровождающееся восстановлением тургора при засухе, происходит через водные каналы. Во время засухи содержание аквапоринов возрастает не только в плазматической мембране, но и тонопласте. Это способствует увеличению водной проводимости тонопласта. Изменение активности уже существующих в мембране водных каналов играет важную роль в регуляции водной проводимости мембран при стрессах. Одним из механизмов такой регуляции является фосфорилирование и дефосфорилирование аквапоринов.

Для синтеза стрессовых белков и успешного восстановления обмена после засухи важно сохранение ненарушенным генетического аппарата клетки. Защиту нуклеиновых кислот от засухи обеспечивают шапероны. Они в состоянии долгое время поддерживать целостность ДНК даже при абсолютном обезвоживании. Повреждение ДНК происходит лишь при сильной и длительной засухе. На этом этапе главную роль играют системы репарации повреждений.

6. Влияние засухи на фотосинтез, дыхание, углеводный и азотный обмен

Интенсивность фотосинтеза для растений в условиях засухи играет важную роль. Этот вопрос изучался и изучается многими исследователями. Имеются данные, что ксерофитные растения по сравнению с мезофитными отличаются повышенным уровнем фотосинтеза. В выявлении внутренних структурных изменений вследствие засухи большую роль сыграли исследования Тарчевского. Им установлено, что происходящие во время атмосферной и почвенной засухи изменения температурного и водного режима листа приводят к нарушению тонкой структуры хлоропластов, конфигурации макромолекул белка, степени агрегации пигментов, адсорбированных белком. Эти изменения снижают интенсивность фотосинтеза. Отмечены значительные изменения в направленности фотосинтетического метаболизма углерода. Происходит снижение интенсивности регенерации, акцептора CO_2 , уменьшение доли C^{14} в составе высокополимерных соединений, и повышение метки в аланине (аланиновый эффект).

Под влиянием засухи изменяется количественный и качественный состав пигментов. Содержание хлорофилла уменьшается. Некоторые авторы наблюдали увеличение содержания зеленых пигментов при снижении влажности почвы до определенного уровня. Этот эффект рассматривают как «защитную фазу торможения», в течение которой происходит интенсивное обновление клеточных структур, в том числе хлорофилла. При более сильном воздействии засухи наблюдается разрушение пластид, что приводит, естественно, к уменьшению содержания хлорофилла. Каротиноиды выполняют защитную роль, их количество при засухе может возрастать.

У многих растений, промежуточных между C_3 и C_4 или C_3 и САМ-семействами, под действием засухи происходит индукция C_4 или САМ-фотосинтеза. Это обусловлено экспрессией главных ферментов указанных альтернативных путей фиксации углекислоты: ФЕП-карбоксилазы и НАДФ-

малик-энзима. Например, при недостатке воды обнаружена пятикратная активация гена изоформы ФЕП-карбоксилазы, которая обычно в молодых растениях проявляет низкую экспрессию. В результате в условиях засухи в 100 раз увеличивается содержание мРНК и активность САМ-специфичной ФЕП-карбоксилазы, т.е. происходит индукция САМ пути, способствующая увеличению эффективности использования воды.

Что касается дыхания, то при засухе возрастает доля пентозофосфатного пути. Усиливается активность немитохондриальных систем окисления в результате ослабления переноса электронов в ЭТЦ митохондрий при засухе, что связано с обеспечением детоксикации продуктов распада.

У растений с поверхностной корневой системой наблюдается наиболее ранняя и усиленная реакция процесса дыхания на засуху. Породы с более совершенным водно-термическим режимом имеют повышенный и стабильный уровень дыхания. Падение интенсивности дыхания после наступления максимума протекает постепенно у более приспособленных растений, и значительно более резко у менее приспособленных.

Углеводный обмен. Известно, что растворимые сахара выполняют определенную роль в устойчивости и приспособленности растений. Установлено, что содержание растворимых сахаров в листьях растений увеличивается в знойные периоды лета у разных экологических типов в неодинаковой степени: у мезофитов во время засухи общая сумма сахаров выше, чем у ксерофитов.

При затяжной и продолжительной засухе постоянный гидролитический распад приводит к истощению запаса углеводов, а в дальнейшем и макромолекул и прежде всего белков. Поэтому возрастание количества растворимых сахаров является в известной мере индикатором, указывающим на наступление напряженного периода в жизни растений.

Азотный обмен. Во время засухи происходит значительное изменение в азотном обмене растений. Установлено, что нарушения в обмене азотсодержащих веществ, связанные с распадом белка, под влиянием сильного

обезвоживания и высокой температуры, приводят к сильной дезорганизации обмена веществ в клетке. По данным многочисленных исследователей, под влиянием водного дефицита наблюдается закономерное уменьшение общего содержания азота и суммарного количества белкового азота.

Передача сигнала. Сигнал засухи воспринимается осмосенсорами, которыми могут быть механические изменения плазмалеммы или состояния цитоскелета, окислительный взрыв, т.е. накопление активных форм кислорода. В цитоплазме имеются белковые факторы транскрипции (трансфакторы), DREB, связывающиеся с элементами дегидратации – регуляторными элементами (промоторами) генов в ядре.

Трансдукция сигнала из цитоплазмы в ядро связана с участием ионов кальция, инозитольного цикла, фосфорилированием, которое осуществляется Са- или MAP-зависимыми протеинкиназами. В результате передачи сигнала в ядро происходят изменения экспрессии генов, которые влекут за собой биохимические и физиологические изменения – синтез стрессовых белков и повышение устойчивости.

Индуктором синтеза белков в условиях засухи или засоления, холода, высокой температуры, т.е. при нарушении осмотической регуляции, может быть АБК. В результате синтезируются АБК-чувствительные или Rab-белки. При обычном водоснабжении их нет в листьях, но недостаток воды вызывает накопление в листьях АБК, которое индуцирует синтез этих гидрофильных белков, устойчивых к дегидратации.

Таким образом, к клеточным механизмам устойчивости относятся:

- Осмотическая регуляция.
- Стабилизация клеточных мембран.
- Перестройки в процессе фотосинтеза и дыхания.
- Детоксикация токсических продуктов обмена.
- Изменение гормональной регуляции обмена веществ.
- Перестройки в работе генетического аппарата, направленные на регуляцию синтеза стрессовых белков.

7. Защитные механизмы на органном и организменном уровнях

Помимо механизмов устойчивости к действию обезвоживания на клеточном уровне включаются защитные реакции и на уровне организма, в которых участвует трофическая система. Нарушение работы фотосинтетического аппарата должно приводить к ингибированию оттока ассимилятов и нарушению донорно-акцепторных взаимодействий в организме. Однако выяснилось, что передвижение ассимилятов существенно ингибируется только при очень сильном водном дефиците. Эта относительная нечувствительность передвижения ассимилятов позволяет растениям мобилизовать и использовать их резервы, например, для роста семян, даже при довольно сильном воздействии. Способность поддерживать транспорт углеводов является ключевым фактором устойчивости растений к засухе.

К механизмам устойчивости на органном и организменном уровне относятся способы сокращения потери воды, часть из которых мы с вами уже рассматривали.

Одним из таких механизмов является торможение дальнейшего увеличения листовой поверхности. Существует прямая связь между размером транспирирующей поверхности и интенсивностью обезвоживания: чем больше площадь листьев, тем быстрее растение теряет воду. Поэтому одной из самых быстрых адаптивных реакций растения на водный дефицит является остановка дальнейшего увеличения испаряющей поверхности путем ингибирования роста клеток. Рост клеток листа в основном осуществляется за счет растяжения, а растяжение зависит от величины тургорного давления. При наступлении засухи в растении развивается водный дефицит, это приводит к падению тургорного давления, следствием чего является сильное торможение растяжения листьев. Этот механизм весьма эффективно сокращает потери растением воды в условиях засухи, однако он работает лишь в формирующихся листьях. При засухе наблюдается ингибирование не только размера листьев и их числа, но и роста стебля и боковых побегов. Таким образом, быстрое ингибирование

растяжения, а затем и деление клеток является адаптивной реакцией, направленной на сокращение потерь воды растением в условиях засухи.

Второй механизм сокращения потери воды – это уменьшение площади уже существующей у растения листовой поверхности. В основе этого явления лежит индуцированное водным дефицитом частичное или полное сбрасывание листьев, индуцированное работой гормонов – этилена и ауксина. Данный механизм реализуется лишь в условиях длительной засухи. Более быстрое и менее вредное для растения сокращение транспирирующей поверхности связано со способностью листьев некоторых растений сворачиваться в трубочку, причем сильнее испаряющая сторона листа оказывается внутри этой трубки.

Более тонким механизмом поддержания водного статуса растения является уменьшение потери воды за счет закрывания устьиц. Открытие и закрытие устьиц определяется водным статусом замыкающих клеток. При высокой оводненности замыкающих клеток устьица открыты, при низкой – закрыты.

Механизмы устьичных движений делят на гидропассивные и гидроактивные. **Гидропассивный механизм** закрытия устьиц обусловлен потерей воды непосредственно замыкающими клетками и падением в них тургорного давления. Возникший водный дефицит в замыкающих клетках компенсируется за счет поступления воды из соседних эпидермальных клеток. **Гидроактивный механизм** закрывания устьиц действует, когда в состоянии дегидратации находятся не отдельные клетки, а целый лист, и определяется метаболическими процессами, протекающими в замыкающих клетках. Конечным результатом дегидратации является падение тургора замыкающих клеток, что в свою очередь, определяется потерей этими клетками осмолитов. Важную роль в регуляции гидроактивного закрытия устьиц играет АБК. Как только клетки мезофилла начинают испытывать слабый водный дефицит, АБК освобождается из хлоропласта, передвигается в апопласт и с транскрипционным током доставляется к замыкающим клеткам, вызывая

закрытие устьиц. Одновременно усиливается новообразование АБК, также включающейся в регуляцию устьичных движений.

Механизмы защиты на популяционном уровне также участвуют в формировании устойчивости растений, поскольку выживают именно те растения, у которых норма реакции находится в широком диапазоне экстремальных факторов.

8. Повышение устойчивости растений к засухе

Для повышения устойчивости к водному дефициту в практических целях необходимо знание механизмов устойчивости к засухе. Например, при учете гормональных перестроек, которые происходят в обмене веществ в указанных условиях, можно использовать обработку растений экзогенно вводимыми гормонами. Так, действие АБК ведет к уменьшению клеток, количества устьиц на листе, увеличению опущения листьев и в результате к снижению реагирования организма на водный дефицит. Внесение же цитокинина, гиббереллина, ауксина во время засухи усугубляет ее отрицательный эффект. Однако после воздействия в период репарации состояние растений значительно улучшается. Повышает устойчивость и обработка семян до засухи цитокининовыми препаратами.

Обработка гормонами важна и в целях повышения деятельности белок-стимулирующих систем. При предпосевной закалке к засухе функциональная активность рибосом стимулируется, что также определяется большей устойчивостью белок синтезирующих систем. У закаленных растений сохраняется способность к синтезу белка при частичном обезвоживании. Закалке к засухе способствует также предпосевное намачивание и высушивание семян. Полученные из таких семян растения отличаются ксероморфной структурой и повышенной засухоустойчивостью.

Стойкость к засухе возрастает при достаточном обеспечении калием, который улучшает поглощение и использование воды, снижает транспирацию в

результате более эффективной регуляции работы устьичного аппарата, усиления связывания воды. Благодаря калийным обработкам лучше развиваются и глубже проникают в почву корневые системы. Улучшается работа фотосинтетического аппарата, также повышается отток ассимилятов в репродуктивные органы, поскольку калий участвует в транспорте сахарозы. Калий является кофактором многих реакций фотосинтеза и дыхания, поэтому он оказывает стимулирующее действие на поддержание основных физиологических процессов.

Таким образом, закалке или акклимации к осмотическому стрессу, способствует обработка защитными веществами (сахарами, АТФ, пролином), гормонами и калием.

В связи с выявлением четкой зависимости устойчивости к засухе от содержания осмотиков в последние годы используется введение в геном растений генов, кодирующих энзимы, которые катализируют образование осмотически активных продуктов. Эти методы генной инженерии позволяют получить устойчивые к засухе трансгенные растения. Например, трансгенные растения табака продуцировали в 10-18 раз больше пролина и общей биомассы по сравнению с контрольными объектами. Повышение концентрации осмотика способствовало увеличению осмотического потенциала и облегчению выживания в условиях водного дефицита. Трансгенные растения, у которых удалось экспрессировать СОД, также оказались более толерантными к дефициту воды.

Таким образом, повышение осмотического потенциала трансгенных растений за счет активирования синтеза защитных осмофильных веществ или ферментов системы детоксикации токсических веществ является новым и перспективным способом повышения устойчивости растений к засухе.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. – М., 1988. – 280 с.
2. Козюкина Ж.Т. Устойчивость растений к отрицательным факторам среды: Уч. пособ. по спецкурсу «Устойчивость растений». – Днепропетровск: ДГУ, 1980. – 104 с.
3. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учеб. для вузов. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.
4. Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция // Физиол. раст. – 1999. – Т. 46. – Вып. 2. – С. 305–320.
5. Лархер В. Экология растений. – М.: Мир, 1978. – С. 252-263.
6. Медведев С.С. Физиология растений: Учебник. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2004. – 335 с.
7. Рекославская Н.И. Адаптационные изменения в белковом и аминокислотном обмене у растений в условиях водного стресса // Стрессовые белки растений. – Новосибирск: Наука, 1989. – С.113-142.
8. Усманов И.Ю., Рахманкулова З.Ф., Кулагин А.Ю. Экологическая физиология растений: Учебник. – М.: Логос, 2001. – 224 с.
9. Физиология растений: Учебник для студентов вузов /под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 640 с.
10. Чернядьев И.И. Влияние водного стресса на фото-синтетический аппарат растений и защитная роль цитокининов: (обзор) // Приклад. биохим. и микроб. – 2005. – Т. 41. – № 2. – С. 133-147.
11. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2002. – 244 с.
12. Шевякова Н.И. Метаболизм и физиологическая роль пролина при водном и солевом стрессе // Физиол. раст. – 1983. – Т. 30. – С. 768–783.

Лекция 8. Избыточное увлажнение. Гипоксия и аноксия

1. Понятие гипо- и аноксии

Способность организмов переносить условия *гипо-* и *аноксии*, т.е. временный дефицит или отсутствие кислорода, широко распространена в природе, но на растениях изучена меньше, чем у животных. При затоплении или заболачивании почвы воздух вытесняется из нее водой. Диффузия его в воде происходит примерно в 10000 раз медленнее, чем в газовой среде. Так, в торфяно-болотных почвах количество кислорода составляет менее 1%, в глине на дне прудов 0.035%, а ниже грунтовых вод падает до нуля. Наиболее часто в условиях дефицита кислорода оказываются озимые хлеба, а также соя, рис, хлопчатник, некоторые древесные растения.

Явления гипоксии и аноксии имеют много общего, т.к. при гипоксии некоторые ткани испытывают недостаток кислорода, особенно в активно функционирующих органах. Например, для нормальной жизнедеятельности кончиков корней необходимо не менее 20% кислорода в среде. Однако у разных по устойчивости к гипо- и аноксии растений могут быть неодинаковые потребности в кислороде. Согласно мнению итальянских ученых Бертани и Бромбилла, в корнях риса переход на анаэробный тип обмена начинается при содержании кислорода 5-10%, а у менее приспособленной к дефициту кислорода пшеницы – при концентрациях более 10%. Полностью на анаэробный режим растения переключаются при 1%-ном содержании кислорода в среде. Своеобразие потребностей в кислороде характерно и для разных процессов обмена веществ. Так, рост корней тормозится обычно при более высоком содержании кислорода, чем дыхание.

Вместе с тем при гипоксии, в отличие от аноксии, отключаются только системы, обладающие низким сродством к кислороду. При малом содержании кислорода способна насыщаться только цитохромоксидаза. В отличие от нее флавиновые ферменты обладают низким сродством к кислороду, они требуют

для активации значительно более высокого парциального давления кислорода в среде.

Низкое сродство к кислороду характерно также для полифенолоксидазы, аскорбатоксидазы, микросомальных окислительных систем. Поэтому при гипоксии определяющей оказывается цитохромоксидаза, т.е. ЭТЦ митохондрий способна частично работать. При аноксии ЭТЦ полностью отключается.

Одни растения погибают при переувлажнении очень быстро, другие способны существовать в условиях не только дефицита, но и отсутствия кислорода.

Вред от затопления, даже временного, заключается прежде всего в том, что нарушается аэрация почвы, исчезает кислород, увеличивается концентрация CO_2 . В результате в клетках прекращается транспорт электронов и окислительное фосфорилирование, не происходят реакции цикла Кребса, а идут лишь гликолиз, спиртовое и молочно-кислое брожение. В результате из каждой молекулы гексозы образуется лишь 2, а не 36 молекул АТФ. Растение испытывает дефицит энергии для поддержания метаболических процессов. Одновременно накапливаются продукты неполного окисления дыхательного субстрата – органические кислоты и спирты. Они увеличивают проницаемость клеточных мембран, из клеток выделяются водорастворимые вещества, нарушается гомеостаз.

Аккумуляция лактата при остром дефиците кислорода способствует закислению внутриклеточной среды, а недостаток АТФ и нарушение работы H^+ -АТФ-азы сопровождается интенсивным выходом протонов из вакуоли. Падение величины рН цитоплазмы называют клеточным ацитозом. Когда он наступает, происходят необратимые нарушения метаболизма и гибель клеток.

Уменьшение количества АТФ приводит к ухудшению поглощения солей, следовательно, в клетки поступает меньше воды. Недостаточно эффективное поглощение корнями минеральных элементов и их слабый транспорт в побеги сопровождается реутилизацией азота, фосфора и калия из более старых листьев в более молодые. Следствием этого является быстрое старение и гибель

закончивших рост листьев. Недостаточное поглощение минеральных элементов, особенно азота, приводит к тому, что на болотах встречается много насекомоядных растений. Дефицит воды и минеральных элементов становится причиной торможения роста, снижения водного потенциала листьев и их увядания. Уменьшается интенсивность транспирации и газообмена.

Кроме прямого, недостаток кислорода оказывает на корни и косвенное влияние. В этих условиях в почве прекращаются нормальные окислительные процессы, вызываемые деятельностью аэробных бактерий, и развиваются анаэробные процессы, при этом накапливаются CO_2 , органические кислоты и другие вещества, многие из которых очень вредны для корней, поэтому их называют болотными токсинами. Корни начинают отмирать. Загнивание корней при затоплении ведет к гибели побегов.

2. Морфолого-анатомические приспособления к корневой гипоксии

При ограничении доступа кислорода к корням в результате затопления или переувлажнения растения пытаются сохранить необходимый для выживания уровень его в тканях. Этому способствуют разнообразные морфолого-анатомические и физиологические приспособления.

В условиях ограниченной аэрации отмечаются определенные морфологические изменения корней. Они укорачиваются, утолщаются, не образуют достаточного количества корневых волосков. Некоторые виды растений способны переносить периоды затопления благодаря поверхностной корневой системе или развивающимися дополнительными корнями, когда основные погибают при погружении в воду.

Для представителей болотной флоры типичны также глубокие структурные изменения в анатомическом строении тканей – образование непрерывной системы воздухоносных полостей (аэренхимы), по которой воздух идет от надземных частей растений к корням. Возникновение аэренхимы при ограничении доступа кислорода к корням происходит не только

у водных растений, но и мезофитов: кукурузы, ячменя, пшеницы. Увеличение объемов воздухоносных полостей наблюдается в дополнительно образующихся адвентивных корнях. У видов, устойчивых к недостатку кислорода, полости межклетников гораздо больше, чем у неустойчивых.

Гидрофиты наиболее приспособлены к жизни в условиях затопления. Наличие воздухоносной ткани помогает поступлению атмосферного кислорода в органы, расположенные в воде. Кроме того, кислород, образующийся в процессе фотосинтеза, расширяясь при нагревании листьев солнечными лучами, накачивается по этим полостям в корни и поддерживает их дыхание. Аэренхима позволяет листьям этих растений плавать. У гидрофитов не развивается механическая ткань. Отсутствие механических тканей компенсируется плавучестью отдельных органов, например, листьев. У погруженных в воду растений на поверхности не образуются кутин и суберин, благодаря чему они могут поглощать питательные вещества всей поверхностью дополнительно к тому, что поглощает корневая система. У погруженных в воду листьев отсутствует транспирация, а у плавающих она интенсивна. Восходящий ток воды поддерживается у этих растений благодаря корневному давлению и выделению воды через гидатоды – водяные устьица. Эти растения не выносят даже небольшого обезвоживания.

Некоторые тропические болотные и прибрежные виды имеют дыхательные корни (пневматофоры), которые растут вертикально вверх и поднимаются над поверхностью почвы. Корневые чечевички у них настолько мелкие, что пропускают только воздух, но не воду. Во время прилива, когда пневматофоры полностью покрываются водой, кислород, содержащийся в межклетниках, расходуется на дыхание, а CO_2 улетучивается; создается пониженное давление. Как только при отливе корни появляются над водой, в них начинает засасываться воздух. Таким образом, в пневматофорах происходит периодическое изменение содержания кислорода, синхронное ритму приливов и отливов. При отливе содержание кислорода почти равно 20%, а во время прилива падает до 10% и ниже.

Из культурных растений лишь очень немногие способны расти на переувлажненных почвах. Важнейшим из таких растений является рис. Первичная кора корня и стебля дифференцируется у риса в аэренхиму. По ее межклетникам происходит транспорт кислорода во все ткани. В воздушные полости корней риса кислород непрерывно поступает из надземных органов, в том числе это может быть и кислород, образующийся при фотосинтезе. Днем, когда идет фотосинтез, содержание кислорода в воздушных полостях листьев всегда больше, чем в атмосфере. Благодаря передвигающемуся из листьев воздуху в воздушных полостях корней поддерживается высокая концентрация кислорода. Некоторая часть кислорода диффундирует из корня в почву и, очевидно, способствует улучшению почвенных условий, участвуя, например, в окислении токсичных веществ.

Из надземной части наибольшую роль в снабжении корневой системы кислородом играют листья. Для нормального существования гигрофитов в среде обитания важны не только морфолого-анатомические особенности, но и метаболические адаптации листьев к поглощению дополнительного кислорода и транспорта его в корни. У неустойчивых к гипоксии растений приобретение листьями функции передачи кислорода корням служит кратковременным приспособлением. У древесных растений, сбрасывающих листья в условиях умеренного климата на 6-7 месяцев в году, снабжение корней атмосферным кислородом осуществляется не только через листья, но и чечевички ветвей. В той или иной степени используются и внутренние запасы кислорода. Например, у лобелии имеются огромные вместилища газов, откуда воздух транспортируется по растению.

У растений мезофитов аэренхима в норме отсутствует. Она формируется в основании стебля и во вновь развивающихся корнях в ответ на недостаток в тканях кислорода. Формирование этой ткани в стебле вызывает этилен, который обычно образуется из 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК). В кончиках корней гипоксия стимулирует активность двух ферментов АЦК-синтазы и АЦК-оксидазы. АЦК-синтаза обеспечивает образование

предшественника этилена – АЦК (1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты), которая в свою очередь окисляется до этилена АЦК-оксидазой. Образование этилена является сигналом для гибели клеток первичной коры корня и стебля, вместо них образуются полости, используемые для транспорта кислорода из надземных органов в корневую систему. Помимо этилена в запуске гибели клеток участвуют ионы кальция. Этот процесс называют апоптозом или программируемой смертью клеток. Биологический смысл его состоит в том, чтобы ценой гибели части клеток спасти жизнь всего организма.

В случае сильной гипоксии в корнях образуется лишь АЦК, которая поднимается с пасоккой в листья, где и превращается в этилен. Причина заключается в том, что в отличие от АЦК-синтазы, АЦК-оксидаза не образуется в анаэробных условиях.

У растений, растущих в условиях переувлажнения, корневая система располагается в поверхностных слоях почвы, ее масса и поглощающая поверхность могут уменьшиться на 50% и более из-за плохого развития корней второго порядка и корневых волосков. Это также влияет на поглощение веществ и поступление воды.

Выживаемость некоторых растений, например сахарного тростника, при затоплении связывают с их способностью образовывать придаточные корни на узлах, расположенных выше уровня воды. Образование придаточных корней также стимулирует этилен. Эти корни снабжают побеги цитокининами.

Конечным результатом недостаточного снабжения водой надземных органов может быть формирование ксероморфной структуры, как при засухе.

3. Метаболические и молекулярные механизмы адаптации к дефициту кислорода

Помимо механизмов ухода от недостатка кислорода растения используют метаболические и молекулярные адаптивные реакции. Прежде всего, следует

говорить о дыхании, липидном и гормональном обмене, а также о новообразовании белков аноксии (рис. 20).

Многим растениям, устойчивым к недостатку кислорода, свойственна низкая интенсивность дыхания даже в нормальных для них условиях обитания. Она характерна для плавающих и особенно погруженных листьев полупогруженных растений по сравнению с воздушными, для корневищ гигрофитов, для корней ряда устойчивых растений в отличие от неустойчивых. Низкая интенсивность дыхания отражает, вероятно, пониженную интенсивность обменных процессов и более экономное потребление кислорода, что позволяет растению стабилизировать процесс дыхания, сохраняя его почти без изменений в условиях кислородного дефицита.

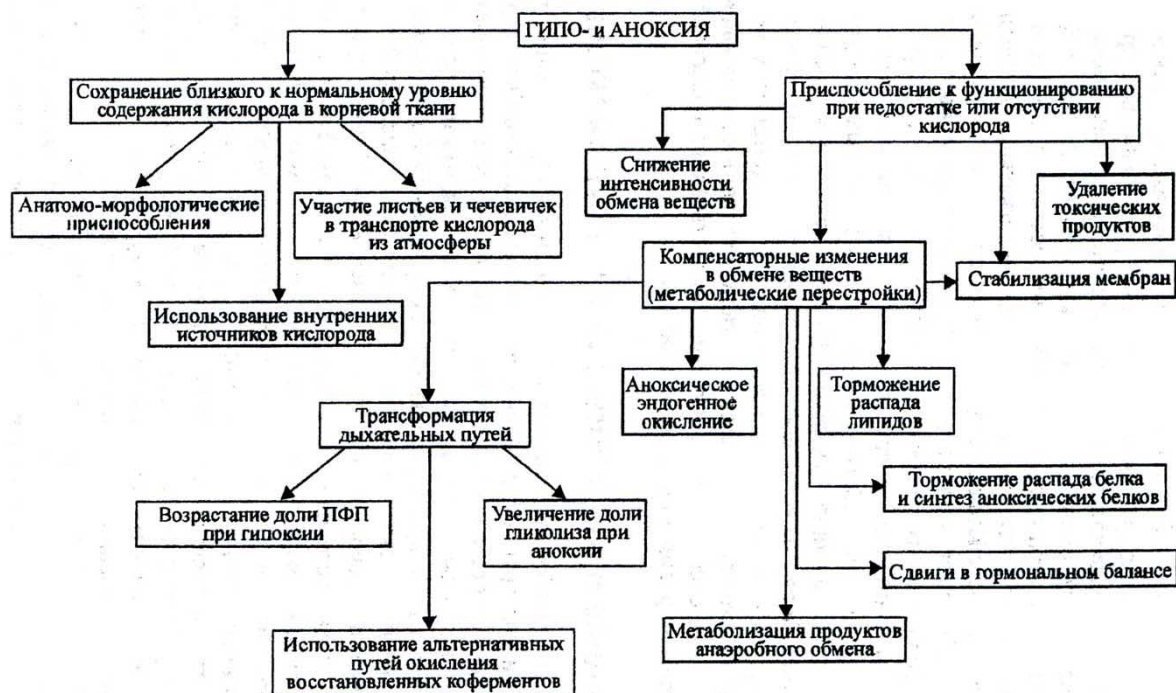


Рис. 20. Пути приспособления растений к гипо- и аноксии
(по Чирковой, 1988)

Качественные перестройки дыхания играют важную роль в обмене веществ. Они должны обеспечивать образование высокоэнергетических соединений, достаточного количества промежуточных веществ для биосинтезов и биологических восстановителей. Как уже говорилось раньше,

основной путь распада глюкозы в бескислородной среде – гликолиз. Однако скорость переключения на этот путь, его предельный уровень и динамика различаются у растений, контрастных по устойчивости к гипоксии. У неустойчивых объектов резкое увеличение доли и активности гликолиза наблюдается в первые часы анаэробного воздействия, но оказывается весьма кратковременным. У приспособленных растений при меньшей интенсивности этот процесс осуществляется продолжительное время, что определяет более надежную поставку энергии (рис. 21).

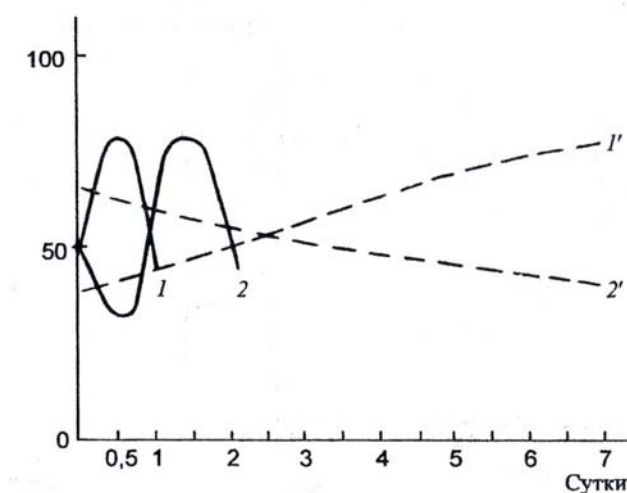


Рис. 21. Изменения под влиянием анаэробноза соотношения гликолиза (1, 1') и пентозофосфатного пути (2, 2') растений, неустойчивых (1, 2) и устойчивых (1', 2') к недостатку кислорода (по Чирковой, 2002)

Так, например, в эмбрионах риса при аноксии в гликолизе образуется количество АТФ, достаточное для поддержания ряда синтетических реакций и высокого уровня энергетического заряда. Содержание АТФ, скорость включения метки в него, величина энергетического заряда в проростках риса в бескислородной среде держатся на более высоком уровне значительно дольше, чем в проростках пшеницы. Например, уровень АТФ в листьях проростков пшеницы снижался уже через сутки пребывания в темноте в условиях аноксии, тогда как у риса изменения содержания АТФ были значительно менее резкими.

Восстановление содержания АТФ после переноса растений в нормально аэрируемую среду у пшеницы был неполным, в отличие от риса.

В результате гликолиза молекула глюкозы расщепляется на две 3-углеродные молекулы пировиноградной кислоты (ПВК) (рис. 22). Образуются 2 молекулы АТФ, а НАД^+ восстанавливается до НАДН. Чтобы гликолиз продолжался в отсутствие митохондриального дыхания, необходимо постоянно регенерировать НАД^+ . Регенерация осуществляется в последующих реакциях ферментации. Существует 2 пути превращения ПВК, рис.22. Первый путь связан с декарбоксилированием ПВК и последующим восстановлением продукта декарбоксилирования – ацетальдегида.

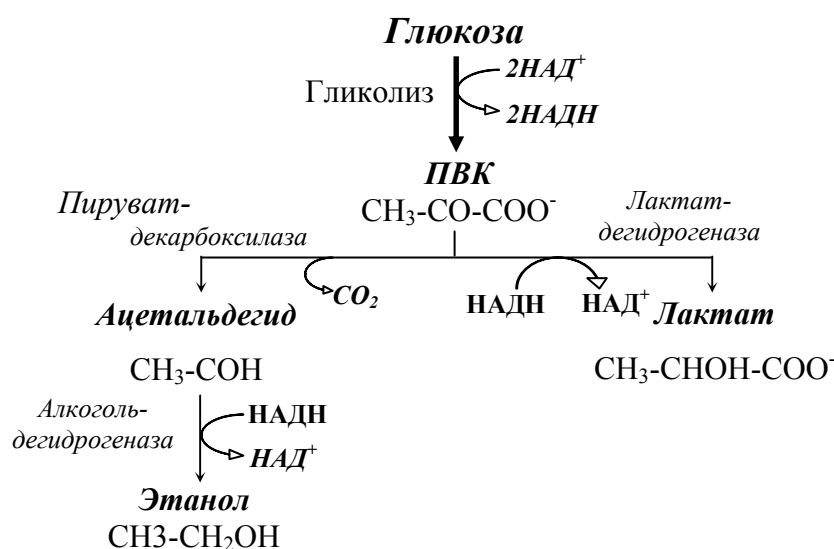


Рис. 22. Образование этанола и молочной кислоты из конечного продукта гликолиза – пировиноградной кислоты (ПВК) в условиях кислородного дефицита

В этих превращениях участвуют 2 фермента: пируватдекарбоксилаза и алкогольдегидрогеназа. Конечным продуктом этих двух реакций является этиловый спирт. Второй путь осуществляется лактатдегидрогеназой, которая восстанавливает ПВК до молочной кислоты (лактата). Доля двух путей в превращениях ПВК различна в зависимости от вида растений, его устойчивости к недостатку кислорода, ткани, а также от продолжительности и степени дефицита кислорода. Оба пути ведут к регенерации НАД^+ , однако образование

лактата связано с нежелательным явлением – закислением цитозоля, тогда как при образовании этанола рН цитозоля не изменяется. В связи с этим можно считать, что важная роль в устойчивости растений к дефициту кислорода принадлежит способности клетки предотвращать закисление цитозоля.

Согласно гипотезе Дэвиса-Робертса, регуляция рН цитозоля при анаэробном метаболизме зависит от соотношения активностей лактатдегидрогеназы и пируватдекарбоксилазы. Лактатдегидрогеназа имеет оптимум активности при физиологических значениях рН цитоплазмы. При образовании лактата цитоплазма закисляется. По мере снижения рН лактатдегидрогеназа прогрессивно ингибируется, тогда как пируватдекарбоксилаза, включенная в образование этилового спирта, активируется, поскольку ее оптимум смещен в кислую область. Таким образом, аккумуляция лактата стимулирует превращение ПВК в ацетальдегид, который далее восстанавливается алкогольдегидрогеназой до этанола. В отличие от лактата, молекула этанола не несет заряда и может легко диффундировать через цитоплазму в среду. В результате рН цитозоля стабилизируется на уровне слабокислых значений.

Недавно было обнаружено, что при аноксии АТФ как энергетический источник может замещаться пирофосфатом. Предполагается, что вакуолярная H^+ -пирофосфатаза может восполнять функцию вакуолярной H^+ -АТФ-азы в поставке водородных ионов в вакуоль. В проростках риса вакуолярная пирофосфатаза под влиянием анаэробнобиоза активировалась в 75 раз, увеличивалось и пирофосфатзависимое поступление протонов в везикулы тонопласта. Однако насколько существен вклад пирофосфата в энергетику клеток при аноксии, покажут дальнейшие исследования.

Работа пентозофосфатного пути (ПФП) при пониженном содержании кислорода также вполне реальна при условии окисления НАДФН, что наблюдается, например, в присутствии нитратов или во время образования шикимовой кислоты. Ускорение работы ПФП является неспецифической реакцией на различные неблагоприятные воздействия, которая, однако, при

нарастании силы стрессора необратимо подавляется. У неприспособленных растений кратковременное возрастание доли ПФП наблюдалось вслед за увеличением доли гликолиза, а у приспособленных – или в начале анаэробного воздействия, или лишь при некотором ограничении доступа кислорода.

При гипо- и аноксии происходит накопление не только малата и сукцината, но и других метаболитов (прежде всего аланина, а также шикимата, глицерина и аспартата), сопряженное с окислением восстановленных коферментов (рис. 23).



Рис. 23. Различные пути окисления восстановленных коферментов в условиях гипо- и аноксии у растений (по Чирковой, 2002).

ФГА – фосfogлицериновый альдегид, ФГК – фосfogлицериновая кислота, ФЕП – фосфенолпируват, ФПН₂ – флавопротеин восстановленный, ФП – флавопротеин окисленный

Такие реакции, в большей мере характерные для устойчивых растений, не заменяют гликолиз, но дополняют его, обеспечивая не только окисление НАД(Ф)Н, но и образование нетоксичных интермедиатов.

Интересно, что при аноксии у растений часть митохондрий увеличивается в 50-100 раз, превращаясь в одну гигантскую разветвленную митохондриальную структуру. Эти митохондрии могут выступать в роли

аккумуляторов энергии гликолиза и системы, транспортирующей ее в различные участки клетки.

В устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям существенна также роль липидов. Под влиянием гипо- и аноксии содержание липидов и фосфолипидов, а также интенсивность их обмена снижаются. За счет распада липидов растет количество свободных жирных кислот. У растений, устойчивых к гипоксии, нарушение липидного метаболизма выражено в меньшей степени, чем у неустойчивых. Оказалось, что перестройки касаются, прежде всего, жирных кислот фосфолипидов. У приспособленных растений, особенно в митохондриях, их содержание сохраняется близким к контролю в течение всей экспозиции в бескислородной среде, в то время как у неустойчивых растений оно резко снижается. Синтез жирных кислот при этом тормозится, значит поддержание высокого уровня жирных кислот у приспособленных растений определяется торможением их распада.

Деградация жирных кислот способствует перекисное окисление липидов (ПОЛ), интенсивность которого возрастает. Под влиянием анаэробноза уровень ПОЛ повышается в основном после воздействия – при возвращении растений на воздух, хотя активные формы кислорода, например перекись, образуются и при аноксии, поскольку для этого процесса необходимы лишь следы кислорода. У приспособленных объектов уровень ПОЛ ниже в нормальных условиях аэрации и в постаноксический период. Это определяется более существенной ролью у этих растений защитных антиоксидантных соединений, особенно токоферола.

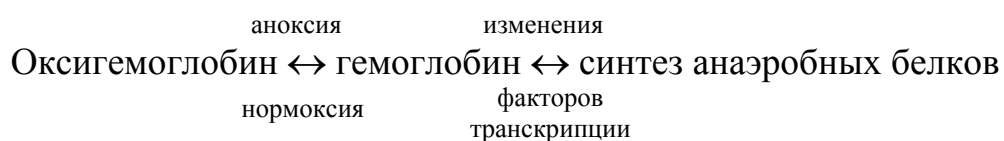
При аноксии помимо распада жирных кислот наблюдаются изменения и в соотношении различных групп жирных кислот. Под воздействием анаэробноза не отмечается повышения содержания ненасыщенных жирных кислот, поскольку для их синтеза необходим кислород, однако в митохондриях устойчивых растений количество ненасыщенных компонентов остается близким к контрольным значениям при аэрации, в то время как у неустойчивых объектов существенно снижается.

При более длительных сроках воздействия уровень ненасыщенности жирных кислот митохондрий снижается, что указывает на увеличение микровязкости мембран. О нарушении текучести мембран свидетельствует и возрастание содержания стерина, более существенное у неустойчивых растений. Общим интегральным показателем устойчивости является стойкость к гипо- и аноксии мембран. Целостность и функциональная активность плазмалеммы, тонопласта, мембран митохондрий, хлоропластов у устойчивых растений дольше сохраняется в бескислородной среде.

Подобно реакции растений на тепловой шок и водный дефицит, растения отвечают изменением дифференциальной экспрессии генов в ответ на недостаток кислорода. Так, растения кукурузы отвечали на аноксию быстрым кратковременным транзитным синтезом отсутствующих ранее полипептидов, так называемых белков аноксии. В течение этого времени также наблюдается резкое торможение синтеза белков аэробного метаболизма. Функция белков аноксии точно не известна. Предполагается, что эти белки являются компонентами системы шокового ответа.

Через 1.5 часа действия аноксии в растении синтезируется 15-20 новых белков. Существенно, что некоторые из них представляют собой изоформы ферментов гликолиза, таких как алкогольдегидрогеназа, глюкозофосфатизомераза, енолазы, а также сахаросинтазы, амилазы, ферменты азотного метаболизма, антиоксидантных систем и т.д. Эти ферменты призваны обеспечить энергетические потребности растения с помощью гликолиза при подавленном кислородном дыхании, а также защитить клеточный метаболизм от агрессивных форм кислорода.

Важную роль при аноксии играет гемоглобин. Считают, что он участвует в запуске анаэробной транскрипции:



Гем гемоглобина может быть компонентом всех растений и роль гемоглобина состоит или в облегчении диффузии кислорода, или в функционировании его как O_2 -сенсорного механизма. Гем связывает кислород и переходит в неактивную окисленную форму. Функция гемоглобина, таким образом, состоит в индикации кислорода и переводе метаболизма с окислительного пути на брожение.

Затопление ведет к торможению роста как надземных, так и подземных органов, причем гипоксия всего растения оказывает более сильное воздействие, чем корневая. Она вызывает замедление роста побега, преждевременное старение и опадение органов. У проростков в условиях корневой гипоксии прекращается рост первичного корня, он отмирает, корневые волоски не образуются. При затоплении у большинства растений помимо торможения роста происходит уменьшение сухой массы. Остановка роста при аноксии у неприспособленных растений происходит раньше, чем у приспособленных.

4. Гормональная регуляция при гипо- и аноксии

Все изменения в клетках растений связаны с гормональным балансом. При аноксии, как и при других воздействиях, уровень стимуляторов роста растений (ИУК, ГБ, ЦК) падает, а ингибиторов (АБК, этилена, жасмоновой кислоты) возрастает.

Накопление АБК происходит и при корневой гипоксии, но в большей мере при аноксии. АБК подавляет синтез мРНК аэробных белков и индуцирует работу генов, кодирующих анаэробные белки. У приспособленных растений первоначальное повышение количества АБК сменяется его снижением в результате интенсивного выделения в окружающую среду, что рассматривается как приспособление для снятия торможения обмена веществ в анаэробных условиях. Происходит также перераспределение АБК по органам растений: у риса ее становится меньше в coleoptilyah и больше в листьях и корнях, что хорошо согласуется с прекращением роста последних.

Содержание этилена увеличивается при корневой гипоксии, причем в большей степени у неустойчивых растений. Этилен избирательно подавляет синтез нуклеиновых кислот в апексе побегов, усиливая его в субапикальной зоне и отделительном слое. Он способствует дезинтеграции микротрубочек и останавливает деление и растяжение клеток. В результате не происходит удлинение стеблей и листьев большинства наземных растений.

Легко диффундируя по растению, этилен вызывает эпинастию черешков листьев, неравномерно стимулируя растяжение их клеток. Это ведет к опадению листьев и ускоряет старение тканей.

Роль ауксинов в анаэробном росте coleoptилей риса пока не определена. Ауксин, вероятно, действует не только на ростовые процессы. Сам по себе или совместно с этиленом он регулирует формирование придаточных корней, аэренхимы.

Содержание цитокинина при анаэробном воздействии может снижаться или не меняться, а в корнях даже повышаться, возможно, вследствие торможения его ксилемного транспорта. Данные об изменении содержания гиббереллинов также не однозначны и различаются в зависимости от органа растения, а также степени его приспособленности. Так, в побегах риса и устойчивого вида щавеля уровень гиббереллинов увеличивается при затоплении, тогда как у чувствительного к гипоксии вида он не меняется. У томатов затопление вызывает снижение уровня гиббереллинов в надземной части и прекращение их ксилемного транспорта.

Таким образом, в условиях гипо- и аноксии происходят комплексные изменения гормонального баланса, которые приводят либо к адаптации, либо к гибели растения.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Вартапетян Б.Б. Учение об анаэробном стрессе растений – новое направление в экологической физиологии, биохимии и молекулярной биологии

растений. 2. Дальнейшее развитие проблемы // Физиол. раст. – 2006. – Т. 53. – № 6. – С. 805-836.

2. Ершова А.Н., Еремина Н.А. Действие гипоксии и CO₂-среды на активность молекулярных форм β -глюкозидазы проростков гороха // Организация и регуляция физиол.-биохимич. проц. – ВГУ, 2004. – Вып. 6. – С. 54-59.

3. Козюкина Ж.Т. Устойчивость растений к отрицательным факторам среды. Уч. пособ. по спецкурсу «Устойчивость растений». – Днепропетровск: ДГУ, 1980. – 104 с.

4. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учеб. для вузов. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.

5. Медведев С.С. Физиология растений: Учебник. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2004. – 335 с.

6. Топунов А.Ф., Колупаев Ю.Е. Регуляция кислородного режима в клубеньках бобовых и классическая концепция стресса // Физиол. раст. – 1997. – Т. 44. – № 5. – С. 671-675.

7. Усманов И.Ю., Рахманкулова З.Ф., Кулагин А.Ю. Экологическая физиология растений: Учебник. – М.: Логос, 2001. – 224 с.

8. Физиология растений: Учебник для студентов вузов /под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 640 с.

9. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2002. – 244 с.

Лекция 9. Действие высокой температуры на растения и их жароустойчивость

1. Определение жароустойчивости растений

Диапазон температур, действующих в природе на растения, достаточно широк: от –77°С до +55°С, т.е. составляет 132°С. Наиболее благоприятными

для жизни большинства наземных организмов являются температуры +15-+30°C. Из цветковых растений наиболее устойчивы суккуленты. Некоторые кактусы и представители семейства толстянковых могут выдерживать нагревание солнечными лучами до +55-+65°C. Из культурных растений жароустойчивостью обладают теплолюбивые растения южных широт – сорго, рис, хлопчатник, клеверина. Наиболее устойчивы к высоким температурам некоторые сине-зеленые водоросли и бактерии, живущие в горячих источниках при температуре +70°C и выше. Для каждого вида имеется интервал температур, когда интенсивность физиологических процессов максимальна. Большинство растений повреждается при температуре +35-+40°C. В покое клетки могут переносить экстремально высокие температуры. Пребывание семян даже несколько часов при температуре около 100°C часто не приводит к значительному снижению их жизнеспособности.

Растения относят к *пойкилотермным организмам*, у которых температура тела меняется в зависимости от температуры окружающей среды. Однако в действительности растения являются ограниченными пойкилотермами, поскольку способны частично регулировать температуру своих тканей за счет транспирации. Иногда температура тканей растения может быть выше температуры окружающего воздуха. Например, днем при нагревании солнечными лучами температура листьев при безветренной погоде обычно бывает выше температуры воздуха на 4-7°C. Некоторые кактусы могут нагреваться на солнце до температуры +50-+57°C.

Организмы в зависимости от их температурного оптимума можно разделить на *термофильные* (выше 50°C), *теплолюбивые* (25-50°C), *умеренно теплолюбивые* (15-25°C) и *холодолюбивые* (5-15°C). Среди высших растений термофильных организмов нет. Для большинства культурных растений интервал между максимальной и минимальной температурами, при которых растения способны к интенсивному росту, составляет приблизительно 30°C. Под влиянием внешних факторов устойчивость растений к температурному

фактору может меняться. Повреждающее действие во многом определяется не только абсолютным значением, но и продолжительностью действия высоких температур. Кратковременное влияние очень высоких температур (+43-45°C) может быть таким же губительным, как и продолжительное действие более низких (+35-40°C).

Устойчивость растений к высоким температурам называют *жароустойчивостью или термотолерантностью*. Повышенная температура особенно опасна для растений при сильной освещенности. Существует определенная связь между условиями жизни растений и их жароустойчивостью. Чем суше местообитание и чем выше температура воздуха, тем больше жароустойчивость организма. Жароустойчивость изменяется в ходе онтогенеза у растений. Молодые, активно растущие растения менее устойчивы, чем старые. Органы растений различаются по своей жароустойчивости: наиболее устойчивы побеги и почки, менее устойчива корневая система.

2. Влияние высокой температуры на каталитические свойства ферментов

Прежде всего, температура влияет на скорость диффузии, и как следствие, на скорость химических реакций (прямое влияние). Кроме того, она вызывает изменение структуры белковых макромолекул (косвенное влияние). Это приводит не только к изменению активности ферментов, но и к увеличению проницаемости мембран, нарушению гомеостаза, изменению взаимодействия между липидами, комплементарными цепями нуклеиновых кислот и белками, гормонами и рецепторами. Денатурация белков и нарушения структуры мембран являются первыми звеньями повреждения клеток при высокой температуре.

С увеличением температуры скорости ферментативных реакций возрастают. Зависимость скорости реакции от температуры носит

экспоненциальный характер, что описывается уравнением Аррениуса:

$$k = Ae^{-E_a/RT},$$

где k – константа скорости реакции; E_a – энергия активации реакции; R – газовая постоянная; T – абсолютная температура; A – коэффициент пропорциональности.

Из уравнения следует, что энергия активации наряду с температурой определяет скорость реакции. Скорость реакции тем выше, чем ниже энергия активации. Функция ферментов состоит в снижении энергии активации ферментативных реакций. Чем выше эффективность фермента, тем до более низкого значения снижается энергия активации.

У пойкилотермных организмов, обитающих при пониженных температурах, ферменты характеризуются более эффективным катализом, т.е. более низкими значениями энергии активации реакций. У организмов, обитающих в условиях теплого климата, наоборот, ферменты менее эффективны, т.е. энергия активации катализируемых ими реакций имеет более высокие значения. Энергии активации ферментативных реакций изменяются также при акклимации организмов к новым температурным условиям: при понижении температуры они снижаются, а при повышении – возрастают.

Изменения каталитических свойств ферментов, т.е. их энергий активации, являются одним из важнейших типов приспособительных реакций организмов к изменяющимся температурным условиям и происходят в результате модификаций молекул ферментов.

Конформационные изменения фермента в ходе каталитической реакции сопровождаются разрывом или образованием слабых связей (водородных, электростатических, ван-дер-ваальсовых и гидрофобных), при этом освобождается или поглощается энергия. Энергетические сдвиги, связанные с изменением конформации, лежат в основе различий в величинах энергий активации ферментативных реакций.

Для конформационных изменений ферментов с более гибкой структурой при катализе требуется меньше энергии. У фермента с жесткой структурой

конформационные изменения невозможны. Он был бы стабильным и долговечным, но нереакционноспособным. Фермент может сохранять свою структурную целостность и в то же время функционировать, когда между его стабильностью и гибкостью существует равновесие. Ферменты организмов, приспособленных к высоким температурам, для сохранения структурной целостности и функциональной активности должны иметь более жесткую структуру. Для ферментов организмов, приспособленных к низким температурам, необходима повышенная гибкость.

Стратегия приспособления к тому или иному температурному диапазону состоит в изменении числа или типа слабых взаимодействий в молекуле фермента. Приспособление к более высоким температурам связано с приобретением одной или нескольких дополнительных слабых связей. Дополнительные связи повышают термостабильность белка и в то же время снижают его каталитическую эффективность (увеличивают энергию активации). Разновидности ферментов, осуществляющих эффективный катализ при изменении температурных условий, появляются в результате модификаций их первичной структуры.

Другим типом приспособительных реакций растений к изменяющимся температурным условиям является поддержание относительно постоянного соотношения между константой Михаэлиса (K_m) и концентрацией субстрата (S).

Как показали эксперименты на выделенных ферментах, изменения температуры приводят к изменениям константы Михаэлиса. Она растет при повышении температуры. Известно 2 пути поддержания постоянства этой константы. Первый – за счет изменений первичной структуры белка, второй – за счет изменения среды, в которой фермент функционирует.

Изменения первичной структуры белка могут происходить в эволюционном масштабе времени и приводить к появлению новых форм белка и соответственно новых признаков (адаптация). Новые разновидности фермента с кинетическими свойствами, отвечающими новым температурным

условиям, могут появиться также в результате индукции стрессовых генов при акклимации растения к температурному сдвигу. В результате появляются новые изоформы фермента, которые позволяют растениям приспосабливаться к диапазону температур.

Важное значение имеет рН среды, в которой фермент функционирует. При повышении температуры в клетках растений снижается рН цитоплазмы.

Многие растения способны компенсировать влияние температуры на скорость биохимических реакций путем изменения содержания ферментов в клетках. В первую очередь это относится к ферментам, лимитирующим скорость ключевых процессов метаболизма, например, фотосинтеза и дыхания.

Существуют организмы, способные жить в среде с температурой около 100°C. К таким организмам относятся термофильные бактерии. Их белки очень устойчивы к тепловой денатурации. Высокая структурная и функциональная устойчивость белков термофильных бактерий объясняется особенностями их аминокислотного состава. Повышение термостабильности обеспечивается всего одной или двумя дополнительными электростатическими связями. Увеличение числа солевых мостиков служит универсальным механизмом повышения термоустойчивости.

Сравнительные исследования трехмерной структуры белков, проведенные с помощью рентгеноструктурного анализа, показали, что термоустойчивость белкам термофильных бактерий придают также некоторые другие особенности их структуры. Гидрофобность внутренних частей белка у термофилов больше, чем у мезофилов. Поскольку при повышении температуры гидрофобные взаимодействия стабилизируются, структура такой белковой молекулы становится более прочной. У белков термофилов боковые цепи алифатических аминокислот удлинены, что усиливает гидрофобные взаимодействия. Устойчивость к высоким температурам придают термофилам также протекторные соединения. Аппарат белкового синтеза у них защищен от денатурации полиаминами. Обнаружены также структурные модификации тРНК и рибосомальных РНК. Они содержат больше Г-Ц-пар оснований, чем

гомологичные РНК мезофилов. Пары оснований Г-Ц более термостабильны, чем А-У.

3. Влияние высокой температуры на физиологические процессы в клетке

Непосредственной реакцией на температурное воздействие является изменение текучести мембран. Под влиянием высокой температуры в мембранах увеличивается количество ненасыщенных фосфолипидов. При этом водородные и электростатические взаимодействия между полярными группами белков внутри жидкой фазы мембраны падают, а интегральные белки сильнее взаимодействуют с липидной фазой. В результате состав и структура мембраны изменяются, и как следствие, происходит увеличение проницаемости мембран и выделение из клетки водорастворимых веществ. Повышенная текучесть мембранных липидов при высокой температуре может сопровождаться потерей активности связанных с мембранами ферментов и нарушением работы переносчиков электронов.

Растет вязкость цитоплазмы, поэтому движение цитоплазмы тормозится, возрастает концентрация клеточного сока. Происходит активация гидролиза основных полимеров органических веществ. Гидролиз оказывается более мощным, чем в условиях засухи, поэтому распад белков, например, может идти вплоть до токсичного для растений аммиака. Нарушается транспорт воды, поглощение веществ корнем, отток ассимилятов из листьев.

Тормозится фотосинтез, как световая фаза, так и фиксация углекислоты. Наиболее чувствителен к высокой температуре транспорт электронов в фотосистеме II. Однако денатурация отдельных ферментов фотосинтеза происходит при более высокой температуре, чем ингибирование фотосинтеза, т.е. наиболее ранние стадии повреждения фотосинтеза скорее связаны с изменениями в составе мембран и с нарушением энергозависимых процессов в хлоропластах, чем с разрушением ферментов.

Наступает временная активация дыхания, которая быстро сменяется инактивацией. Увеличивается доля альтернативного пути дыхания, в котором энергия окисления рассеивается в виде тепла.

Усиливается микросомальное окисление, особенно растет перекисное окисление липидов. В результате происходит расточительное расходование субстратов, еще большее нарушение целостности мембран, что в совокупности с активацией альтернативного пути дыхания усугубляет процессы деструкции.

Различные функции организма нарушаются при разных температурах. Так, фотосинтез ингибируется при более низкой температуре, чем дыхание, что приводит к дефициту субстратов для дыхания. В результате при высокой температуре теряются, например, сахара в овощах и фруктах, которые становятся менее сладкими. Дисбаланс между фотосинтезом и дыханием выступает одной из основных причин повреждающего действия температурного стресса, что особенно характерно для C_3 растений.

Продолжительное действие или действие очень высокой температуры вызывает **тепловой шок**. Происходит термоинактивация ферментов. В клетках начинается плазмолиз. Клеточный сок выходит из вакуоли, что заканчивается коллапсом клетки. На листьях появляются некротические пятна – «ожоги».

Высокая температура нарушает опыление и оплодотворение, что приводит к недоразвитию семян. У многих растений высокие температуры в период цветения вызывают стерильность цветков и опадение завязей.

4. Механизмы приспособления растений к высоким температурам

В процессе эволюции были сформированы генетические механизмы, повышающие устойчивость растений к высоким температурам. Как и при других воздействиях, при высоких температурах работают защитные механизмы двух типов: избежание перегрева и приспособление к существованию в условиях высоких температур. Избежание перегрева достигается:

1. С помощью анатомических приспособлений.

Листья имеют ксероморфную структуру, могут быть свернуты, ориентированы вертикально, покрыты волосками или воском. Они кожистые, имеют мало устьиц, часто устьица погружены. В листьях много слоев палисадной паренхимы, эпидермис тоже многослойный. Некоторые кустарники пустынь меняют листья в зависимости от сезона: зимой они зеленые и почти лишены волосков, а летом белые и сильно опушенные. Все эти приспособления обеспечивают отражение интенсивной солнечной радиации и снижение потерь воды при испарении.

2. Усиленная устьичная транспирация.

Растения от действия высокой температуры предохраняет интенсификация испарения воды в ходе устьичной транспирации. Растение активизирует поглощение воды, ее транспорт и испарение, в результате лист охлаждается.

Существование растений в условиях высоких температур достигается с помощью биохимических адаптаций. Жаростойкие растения отличаются:

а) значительным содержанием прочносвязанной воды, что приводит к высокой вязкости цитоплазмы;

б) наличием тех же осмотически активных веществ, что и у засухоустойчивых растений: пролина, бетаинов, многоатомных спиртов, углеводов и гидрофильных олигопептидов;

в) повышенным содержанием органических кислот, которые связывают аммиак;

г) способностью длительно поддерживать стабильный уровень дыхания в широком диапазоне изменения температур, что необходимо для энергетического обеспечения обмена веществ, в частности для синтеза органических кислот, участвующих в детоксикации продуктов, которые накапливаются при перегреве;

д) обезвреживанием продуктов ПОЛ с помощью системы антиоксидантов;

е) стабильностью липидов и белков мембран, что поддерживает их функциональную активность.

Приспособление к высоким температурам коррелирует с возрастанием степени насыщенности жирных кислот мембранных липидов. Хорошо известно, что мембранным липидам в нормальных условиях присуще жидкокристаллическое состояние. Поддержание этого состояния имеет решающее значение для функционирования локализованных в мембране белков: ферментов, водных и ионных каналов, различного вида переносчиков, компонентов ЭТЦ и т.д.

Повышение температуры до некоторых критических пределов приводит к сверхвысокой текучести липидов и дезинтеграции мембран, поэтому у термоустойчивых растений модификации липидов направлены на повышение структурной прочности бислоя и повышение температуры фазового перехода липидов.

Температура фазового перехода и сопровождающее его изменение вязкости зависят от длины углеводородных цепей и числа двойных связей жирных кислот (ЖК), входящих в состав липидов. Наличие двойных связей уменьшает энергию стабилизации бислоя, т.е. делает мембрану более текучей.

Основной механизм регуляции температуры фазового перехода, следовательно, и поддержания нужной вязкости бислоя при изменении температурных условий, состоит в изменении жирнокислотного состава липидов. Для того чтобы мембрана не затвердевала при понижении температуры, липиды должны содержать ЖК с меньшим числом углеродных атомов и с большим числом двойных связей. Приспособление к повышенным температурам связано, напротив, с включением в липиды ЖК с более длинными углеводородными цепями и с меньшим числом двойных связей. Указанные способы сохранения надлежащей вязкости мембран при адаптации и акклимации к изменяющимся температурным условиям обнаружены не только у растений, но и животных, а также прокариот.

Изменение степени ненасыщенности жирных кислот и длины ацильных

цепей в липидах контролируется с помощью ряда ферментов. К ним относятся десатуразы, тиюэстеразы и элонгазы.

Десатуразы жирных кислот образуют семейство ферментов, катализирующих превращение одинарной связи между атомами углерода – $\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—}$ в двойные связи —CH=CH— в ацильных цепях жирных кислот. Предполагается, что десатуразы связывают трехвалентное железо, которое формирует активный комплекс с атомами кислорода Fe—O—Fe . Реакции, катализируемые десатуразами, называют реакциями десатурации, образующиеся двойные связи между атомами углерода – ненасыщенными связями, а жирные кислоты с несколькими ненасыщенными связями – полиненасыщенными жирными кислотами. Десатурация требует молекулярного кислорода и протекает в аэробных условиях.

Липидный состав мембран и степень ненасыщенности жирных кислот варьируют в широких пределах при изменении температуры, водного потенциала, ионного состава среды и т.д. Десатуразы у растений играют важную роль в адаптации и акклимации к изменяющимся условиям среды. В настоящее время клонированы гены некоторых десатураз растительного происхождения.

Помимо десатураз важную роль играют тиюэстеразы и элонгазы, определяющие число углеродных атомов в цепях жирных кислот. Тиюэстеразы отвечают за терминацию удлинения ацильной цепи и обеспечивают преимущественное накопление C_{8-10} , C_{12} , C_{14} и C_{16-18} жирных кислот. Элонгазы осуществляют удлинение цепи жирных кислот до 20, 22 и 24 углеродных атомов.

5. Белки теплового шока и устойчивость растений

Впервые белки теплового шока (БТШ) у растений были обнаружены в 1980 г. БТШ растений, как и других организмов, множественны. Они представлены группами высокомолекулярных (60-110 кД) и

низкомолекулярных (15-35 кД) белков. При двухмерном электрофорезе каждая группа БТШ делится на несколько представителей. Это определяется, с одной стороны, тем, что каждое семейство БТШ кодируется, как правило, несколькими генами (семейством близких генов), различающимися главным образом регуляцией их активности, а с другой стороны, модификациями БТШ после завершения их синтеза. К числу таких модификаций относится, например, обратимое фосфорилирование.

Синтез БТШ происходит, когда температура поднимается на 8-10°C выше нормальной. В клетках растений мРНК, кодирующие синтез БТШ, обнаруживаются через 3-5 минут после действия стрессора. Тепловой шок вызывает не только репрограммирование генома и, следовательно, изменение состава вновь синтезируемых мРНК, но и репрограммирование рибосом – распада тех полисом, которые синтезируют белки, типичные для нормальных условий обитания, и формирование полисом, синтезирующих БТШ.

Почти все обнаруженные БТШ хлоропластов кодируются в ядре, синтезируются в цитоплазме и потом транспортируются в хлоропласт, где и выполняют защитную функцию во время теплового шока. Возникающие при повышении температуры сигналы воспринимаются внутриклеточными рецепторами. Это способствует изменению экспрессии генов и индукции или репрессии синтеза специфических мРНК, или их трансляции, что приводит к изменению синтеза специфических полипептидов. В индукции ответа растений на тепловой шок центральное место отводится фосфорилированию-дефосфорилированию транскрипционного фактора, воспринимающего температурный сигнал и приобретающего способность связываться с промоторными участками генов теплового шока и активировать их работу.

Включение генов БТШ при высокой температуре определяется регуляторными элементами генов БТШ (РЭ БТШ), т.е. специфическими нуклеотидными последовательностями ДНК в промоторной (регуляторной) зоне этих генов. У генов разных БТШ РЭ сходны, они высокоомологичны у всех эукариот. РЭ БТШ включают гены после взаимодействия со

специфическими регуляторными белками – факторами транскрипции или трансфакторами этих генов. Трансфакторы присутствуют в цитоплазме при нормальных условиях. Тепловой шок вызывает их модификацию, например они фосфорилируются, после чего проникают в ядро и взаимодействуют с РЭ генов БТШ, включая активность этих генов.

Максимальное содержание БТШ наблюдается через 0.5-3.5 ч. При этом каждая клетка синтезирует десятки тысяч копий различных молекул белков теплового шока, затем их количество начинает уменьшаться, т.е. синтез БТШ имеет кратковременный характер.

После окончания теплового шока синтез БТШ прекращается и возобновляется синтез белков, характерных для клетки в нормальных условиях. При этом мРНК БТШ быстро разрушаются, тогда как белки могут сохраняться существенно дольше, обеспечивая устойчивость клеток к нагреву.

Длительное пребывание клеток в условиях высокой температуры обычно приводит к ослаблению или прекращению синтеза БТШ. В этом случае включаются механизмы регуляции экспрессии генов БТШ по принципу обратной связи. Накопление в клетках БТШ выключает активность их генов, т.е. клетка поддерживает количество БТШ на необходимом уровне, препятствуя их сверхпродукции.

В настоящее время выделяют 5 групп белков теплового шока, которые обозначаются по молекулярным массам их основных компонентов: БТШ-90, БТШ-70, БТШ-60, БТШ-20 и БТШ-8.5.

Защитная роль практически всех групп БТШ описывается моделью молекулярного «шаперона». В соответствии с этой моделью БТШ повышают термоустойчивость клеток, обеспечивая следующие процессы:

- 1) АТФ-зависимую стабилизацию нативной пространственной структуры белков, необходимую для проявления их биологической активности;
- 2) правильную сборку олигомерных структур в условиях гипертемии;
- 3) стабилизацию при стрессе ферментов и мРНК, участвующих в синтезе белков «нормального» клеточного метаболизма;

4) транспорт веществ через мембраны, например, хлоропластов, митохондрий;

5) дезагрегацию неправильно собранных макромолекулярных комплексов;

6) «освобождение» клетки от денатурированных макромолекул и реутилизацию входивших в них мономеров с помощью убиквитинов.

Так, БТШ-70, присоединяются к другим белкам, вызывая их разворачивание, и препятствуют их агрегации, которая помешала бы белку приобрести нативную конформацию, необходимую для функциональной активности. Разворачивание белков с помощью БТШ-70 необходимо для проникновения через мембраны хлоропластов, митохондрий, ЭПР. Агрегация белков резко усиливается при повышении температуры. Активация синтеза БТШ-70 в этих условиях должна защищать белки от необратимого повреждения. Эти белки относят к группе шаперонов. БТШ-60 тоже относятся к шаперонам. Эти белки обеспечивают правильную сборку четвертичной структуры клеточных белков. К шаперонам относят и БТШ-90. Они играют важную роль в образовании комплекса стероидных гормонов с их рецептором. Например, БТШ-90 образуют комплексы с некоторыми протеинкиназами, контролируя их активность. Таким образом, БТШ-90, БТШ-70, БТШ-60, защищают клеточные белки от повреждения во время теплового шока, изменяя их структуру и функции.

К БТШ относится также убиквитин. После присоединения этого белка к N-концу полипептида последний становится мишень для разрушения протеазами. Это «метка смерти» для белков, и при ее помощи происходит выбраковка поврежденных, недостроенных и функционально неактивных полипептидов. Ассоциированные с убиквитином белки подвергаются ферментативной модификации. После этого они опознаются специальными нелизосомальными протеазами и гидролизуются в особых мультикомпонентных комплексах, протеасомах.

На электронно-микроскопических снимках в цитоплазме и некоторых

органеллах, например хлоропластах, при высокой температуре, как и при поранениях, осмотическом стрессе, засолении, гипоксии обнаруживаются гранулы теплового шока (ГТШ). В состав ГТШ входят высокомолекулярные (68, 70 кД) и низкомолекулярные (15-40 кД) БТШ, а также мРНК, синтез которой происходил в нормальных температурных условиях. Поэтому предполагают, что ГТШ предохраняют «дошоковые» мРНК, что дает возможность использовать их для синтеза белка после окончания шока. Теплоустойчивость может и не сопровождаться образованием ГТШ.

Специфичность реакции на тепловой шок относительна, разные факторы (аноксия, высокая, низкая температура, химические реагенты, засоление, поранение, голодание и т.д.) вызывают сходные изменения в экспрессии генов. На примере белков кукурузы рассмотрим общность и различие в синтезе БТШ и анаэробных белков. В ответ на оба воздействия синтезировался уникальный для каждого из них набор белков, подавление обычного белкового синтеза происходило на уровне трансляции. При незначительной силе воздействия ответы были обратимыми и восстановление нормальных условий приводило к репарации синтеза белков. Различия сводились к следующему. Синтез БТШ наблюдали во всех исследованных органах и тканях, включая листья и корни, синтез же анаэробных белков был обнаружен в корнях и не отмечался в листьях. Синтез БТШ отмечался через считанные минуты после начала действия шоковых температур, а при аноксии сначала синтезировался комплект переходных белков молекулярной массой 33 кД и лишь через 5-6 часов пребывания растений в атмосфере аргона анаэробный белковый синтез достигал максимального уровня. Электрофоретические спектры полипептидов, синтезируемых в корнях кукурузы при аноксии и тепловом шоке, были различными, т.е. стрессовые белки обладали определенной специфичностью.

Таким образом, белки теплового шока играют важную роль в защите растений от высоких температур.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Веселов А.П., Курганова Л.Н., Ручкова О.В. Влияние теплового шока на цитоплазматическую белоксинтезирующую систему гороха *Pisum sativum* L. // Биохимия. – 1997. – Т. 62. – Вып. 5. – С. 569-574.
2. Войников В.К., Иванова Г.Г., Гудиковский А.В. Белки теплового шока растений // Физиол. раст. – 1984. – Т.31. – С. 970-979.
3. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учеб. для вузов. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.
4. Козюкина Ж.Т. Устойчивость растений к отрицательным факторам среды. Уч. пособ. по спецкурсу «Устойчивость растений». – Днепропетровск: ДГУ, 1980. – 104 с.
5. Кулаева О.Н., Микулович Т.П., Хохлова В.А. Стрессовые белки растений // Современные проблемы биохимии / Под ред. Г.К. Скрыбина, М.С. Одинцовой. – М.: Наука, 1991. – С.174-190.
6. Кулаева О.Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу // Соросовский образов. журнал. – 1997. – № 2. – С. 5-13.
7. Медведев С.С. Физиология растений: Учебник. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2004. – 335 с.
8. Физиология растений: Учебник для студентов вузов /под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 640 с.
9. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПб ун-та, 2002. – 244 с.

Лекция 10. Действие на растения низкой температуры

1. Определение холодоустойчивости растений

Понятие ***низкотемпературного стресса (cold shock)*** включает в себя всю совокупность ответных реакций растений на действие холода или мороза,

причем реакций, соответствующих генотипу растений и проявляющихся на разных уровнях организации растительного организма от молекулярного до организменного.

Холодоустойчивость – способность теплолюбивых растений переносить действие низких положительных температур. Холодостойкими называются растения, которые не повреждаются и не снижают своей продуктивности при температуре от 0 до +10°C.

Для большинства сельскохозяйственных культур низкие положительные температуры почти безвредны. Отдельные органы теплолюбивых растений обладают разной устойчивостью к холоду. У кукурузы и гречихи быстрее всего отмирают стебли, у риса менее устойчивы листья, у сои сначала повреждаются черешки, а затем листовые пластинки, у арахиса наиболее чувствительна к холоду корневая система.

2. Влияние низких положительных температур на физиологические процессы у растений

При воздействии холода происходит потеря тургора листьями вследствие нарушения доставки воды к транспортирующим органам, что ведет к уменьшению содержания внутриклеточной воды. Усиливаются гидролитические процессы, в результате накапливаются небелковый азот (пролин и другие азотистые соединения), моносахара. Увеличиваются гетерогенность и количество белка, особенно низкомолекулярного (26, 32 кД).

Повышается проницаемость мембран. Эта реакция относится к первичным механизмам воздействия холода. Изменение состояния мембран при низкой температуре в значительной мере связано с потерей ионов кальция. У озимой пшеницы, если воздействие не слишком сильное, мембраны клеток теряют ионы кальция, проницаемость увеличивается; различные ионы, в первую очередь калия, а также органические кислоты и сахара из цитоплазмы выходят в клеточную стенку или межклетники. Ионы кальция тоже выходят в

клеточную стенку, но повышается их концентрация и в цитоплазме, при этом активируется H^+ -АТФ-аза. Активный транспорт протонов запускает вторичный активный транспорт, и ионы калия возвращаются в клетку. В результате увеличивается поглощение воды и тех веществ, которые вышли из клетки, т.е. клеточный сок из экстраклеточного пространства входит в нее, что ведет к восстановлению ее состояния после повреждения (рис. 24а).

При действии более низкой температуры потеря мембранами ионов кальция очень велика. В результате сильного воздействия количество ионов кальция в цитоплазме увеличивается, и мембранные структуры нарушаются, также как и функции мембраносвязанных энзимов. H^+ -АТФ-аза инактивируется, а фосфолипиды, наоборот, активируются, что вызывает утечку ионов и стимулирует деградацию мембранных липидов. В этом случае повреждения становятся необратимыми (рис. 24б).

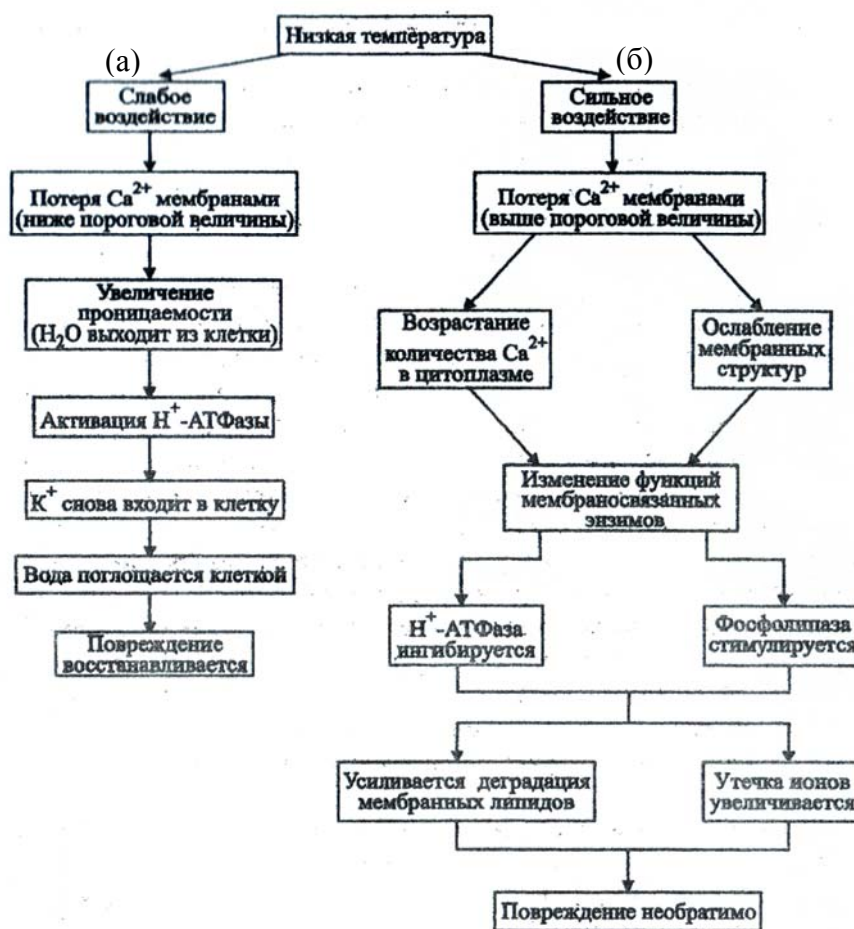


Рис. 24. Влияние низкой температуры на мембраны в зависимости от силы воздействия (по Чирковой, 2002)

Изменение проницаемости мембран связано также со сдвигами в жирнокислотных компонентах: насыщенные жирные кислоты из жидкокристаллического состояния переходят в состояние геля раньше, чем ненасыщенные. Поэтому чем больше в мембране насыщенных жирных кислот, тем она жестче, т.е. менее лабильна. При увеличении уровня ненасыщенных жирных кислот удавалось снизить чувствительность к понижению температуры.

Дезинтеграции мембран способствует и увеличение содержания свободных радикалов, свидетельствующее об усилении перекисного окисления липидов (ПОЛ). Так, например, у риса при 2°C снижалась активность в тканях антиоксидантного фермента СОД и возрастало содержание малонового диальдегида (МДА) – конечного продукта ПОЛ. При обработке токоферолом количество МДА убывало.

Нарушение целостности мембран ведет к распаду клеточных структур: митохондрии и хлоропласты разбухают, в них уменьшается число крист и тилакоидов, появляются вакуоли, ЭПР образует концентрические круги, в том числе и из тонопласта внутри вакуоли. Это неспецифические изменения.

Вследствие дезинтеграции тилакоидных мембран хлоропластов нарушается фотосинтез, что касается и ЭТЦ, и ферментов цикла Кальвина. Повреждение процесса дыхания также наблюдаются при холодовом воздействии, снижение энергетической эффективности связано с дополнительными затратами на поддержание обмена веществ. Возрастает активность альтернативного пути дыхания. В некоторых случаях, например у ароидных, интенсификация этого пути способствует повышению в холодную погоду температуры цветов, что необходимо для испарения эфирных масел, привлекающих насекомых. Изменяется и соотношение путей дыхания в пользу пентозофосфатного пути.

У теплолюбивых растений полное ингибирование фотосинтеза наступает при 0°C, т.к. происходит нарушение мембран хлоропластов и разобщение транспорта электронов и фотосинтетического фосфорилирования. У

нехолодостойких сортов кукурузы через 20 ч после действия температуры $+3^{\circ}\text{C}$ происходит распад хлоропластов и разрушение пигментов. У холодостойких гибридов, например кукурузы действие температуры $+3^{\circ}\text{C}$ не влияет на состав пигментов и структуру хлоропластов.

Влияние температуры на фотосинтез зависит от освещенности. Образование хлорофилла в листьях огурца при закаливающей температуре ($+15^{\circ}\text{C}$) ингибируется меньше при более слабой освещенности.

Тормозится рост, изменяется баланс фитогормонов – возрастает содержание АБК (преимущественно у устойчивых сортов и видов), а ауксина – убывает. Понижение температуры ведет к изменениям и в транспортных процессах: поглощение NO_3 ослабевает, а NH_4 усиливается, особенно у приспособленных растений. Самым уязвимым при действии низкой температуры оказывается транспорт NO_3 из корней в листья.

Продолжительное действие низких температур приводит растение к гибели. Основные причины отмирания растений состоят в необратимом увеличении проницаемости мембран, повреждения метаболизма клетки, накопления токсических веществ.

3. Механизмы устойчивости растений к низким положительным температурам

Повышение устойчивости к низким температурам связано с предотвращением или устранением указанных выше причин повреждения и гибели растений. Мембраны устойчивых растений более стабильны, чем неустойчивых, поэтому потери кальция и нарушение их проницаемости меньше. Предохранение от дезинтеграции мембран достигается, прежде всего, длительным поддержанием ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов, что может быть следствием активации или поддержания активности десатураз жирных кислот.

Ферменты холодоустойчивых растений активны в широком диапазоне температур, и оптимальная температура у них ниже, чем у ферментов теплолюбивых видов. В результате довольно долго поддерживается интенсивность синтетических процессов, в том числе и синтез ненасыщенных жирных кислот, для нормального протекания которого необходимо достаточное количество НАДФН. Роль основного поставщика НАДФН в условиях гипотермии выполняет ПФП, который активируется у приспособленных растений, в отличие от неприспособленных, лишенных подобных компенсаторных перестроек дыхания.

Повреждения фотосинтеза у холодоустойчивых растений также наблюдаются при большей продолжительности в силе воздействия. Транспорт метаболитов в листьях поддерживается в широком диапазоне температур, и дольше сохраняются донорно-акцепторные отношения. Кроме того, холодоустойчивые растения имеют достаточно большой запас сахаров, что позволяет длительное время поддерживать дыхание, различные биосинтезы, а также использовать сахара для защиты от повреждения холодом.

В ходе холодового воздействия синтезируются и стрессовые белки холодового шока. Так, в проростках озимой пшеницы трехчасовая гипотермия ($+3^{\circ}\text{C}$) индуцирует синтез большого набора стрессовых низкомолекулярных и гидрофильных белков. К протекторным белкам относятся и десатуразы.

Устойчивые растения успешнее справляются и с детоксикацией токсических продуктов распада. Аммиак связывается у них органическими кетокислотами, образование которых в процессе дыхания стимулируется при стрессе.

4. Морозоустойчивость. Влияние низких отрицательных температур на физиологические процессы у растений

Устойчивость к низким отрицательным температурам – это один из показателей зимостойкости, т.е. способности растений переносить

неблагоприятные условия перезимовки (вымерзание, выпревание, ледяную корку, выпирание и др.). В этом случае к названным выше повреждающим факторам добавляется образование льда и вызванный им сильный дефицит воды.

Гибель растений при низких отрицательных температурах связана с образованием льда в клетках и межклетниках. В экспериментальных условиях быстрое понижение температуры ведет к образованию льда внутри клеток (в цитоплазме, затем в вакуолях), что определяет их гибель. Правда, даже когда в цитоплазме образуется лед, вся она полностью не замерзает.

В случае образования межклеточного льда при температуре ниже 0°C начинается его гетерогенная нуклеация. Она происходит обязательно при наличии нуклеаторов любой природы. Ими могут быть даже сапрофитные бактерии.

Гомогенная нуклеация льда отличается от гетерогенной тем, что она присуща только абсолютно чистой воде и растворам, и в этом случае нуклеация начинается при температуре около -40°C за счет самозарождения мелких кристаллов льда.

Показано, что сами по себе сахара, липиды и белки не вызывают образование зародышей льда. Более того, выявлено, что высокоразветвленные молекулы полисахаридов могут функционировать в качестве антинуклеаторов и снижать температуру нуклеации льда в растворах до минус 7°C.

Установлено, что нуклеатором льда в листьях озимой ржи является комплекс фосфолипида, углевода и белка, характеризующийся наличием дисульфидных связей и отсутствием сульфгидрильных групп. Такие нуклеаторы льда, как сапрофитные бактерии *Pseudomonas syringae* и *Erwinia herbicola*, представляют собой мембраносвязанный комплекс, состоящий из белков, фосфатидилинозитолов и сахаров в виде маннозы, глюкозамина и галактозы.

У древесных культур, например, у рододендронов, нуклеаторы льда имеют очень высокую степень активности снаружи чешуек цветочных почек, в

связи с чем начавшаяся в этих местах нуклеация льда предохраняет меристематические ткани почек от замерзания.

Нуклеаторы льда у устойчивых к морозу растений могут различаться по составу и изменяться в течение года как по количеству, так и по активности. Эти характеристики – доказательство того, что нуклеация льда не является следствием неспецифической активности компонентов клеточных стенок, а связана с появлением комплексов, инициирующих этот процесс.

Ученых всего мира давно интересовал вопрос: где же образуется лед в растениях?

Предполагают 3 типа образования льда у морозоустойчивых растений: внутриклеточный, внеклеточный и внеорганный. Благодаря использованию метода замораживающих столиков микроскопа стало известно, что лед может образовываться внутри клеток, но внутриклеточное образование льда всегда одинаково летально не только теплолюбивых и холодостойких, но и морозоустойчивых растений. Причиной гибели их клеток является механическое разрушение клеток под влиянием образовавшихся кристаллов льда. В своей эволюции растения имели три пути адаптации к отрицательным температурам. Внутриклеточное образование льда – это тупиковый путь, при котором все растения должны вымерзнуть.

Наиболее распространено в природе внеклеточное образование льда. Эта основа морозоустойчивости всех зимующих растений, хотя оно тоже не безвредно. Однако внеклеточное образование льда – единственно возможный путь для выживания растений после длительного зимнего периода. Есть еще один путь образования льда в растениях, названный внеорганным, который присущ только меристематическим тканям, не имеющим внеклеточных пространств. Помимо этого, меристематические клетки не имеют вакуолей и как следствие являются менее оводненными по сравнению с дифференцированными клетками. Все это создает условия транспорта воды из меристематических клеток к центрам кристаллизации льда в других тканях. Примером могут служить почки зимующих растений, находящихся в состоянии

покоя, в которых образование льда происходит в нижних чешуях. Такой путь образования льда наиболее безопасен.

Таким образом, основные причины гибели клетки при низких отрицательных температурах состоят в обезвоживании и механическом сжатии льдом, повреждающим клеточные структуры. Обезвоживание возникает вследствие оттягивания воды из клеток образующимися в межклетниках кристалликами льда. Это иссушающее действие льда, особенно опасное при длительном действии низких температур, сходно с обезвоживанием при засухе. При длительном действии мороза кристаллы вырастают до значительных размеров и могут не только сжимать клетки, но и повреждать плазмалемму.

Признаки повреждения выражаются в потере тургора, инфильтрации межклетников водой, вымывании ионов и сахаров из клеток в результате повреждения мембранных систем активного транспорта – АТФ-аз тонопласта и плазмалеммы. Нарушение целостности мембран ведет к деградации структуры белковых и липидных компонентов мембран. Происходит денатурации мембранных белков, связанная с дегидратацией и высаливанием макромолекул, что способствует инактивации активного транспорта. Мембранно-связанные ферментативные системы являются наиболее чувствительными в клетке. Их инактивация вызывается накоплением вплоть до токсических концентраций неорганических и органических веществ, образующихся вследствие дегидратации клеток в процессе замерзания.

Ингибирование ферментов служит причиной повреждения метаболизма клеток: нарушается фото- и окислительное фосфорилирование, усиливается гидролиз фосфолипидов, повышается активность фосфолипаз. В результате повреждения мембраны теряют свойства полупроницаемости, ускоряется выход веществ из клеток. Это определяет дальнейшие повреждения клеток.

5. Механизмы приспособления растений к низким температурам

Переход в состояние покоя

Формирование физиологического механизма устойчивости к перезимовке складывается из 2х этапов. **Первый этап** – уход от воздействия путем перехода в состояние покоя. Обезвоженные ткани, например, семена, споры грибов, могут сохраняться при температуре около абсолютного нуля (-273°C). Оводненные вегетативные ткани также удастся сохранить жизнеспособными, если заморозить их очень быстро, до момента образования крупных кристалликов льда, которые могут разрушать внутриклеточные структуры. Мелкие кристаллики льда, которые все-таки образуются при быстром замораживании, не оказывают механических повреждений.

Переход в состояние покоя (первый этап) определяется изменениями параметров факторов окружающей среды: уменьшением длины дня, изменением спектрального состава света, понижением температуры, увеличением перепада температур в дневные и ночные часы. В рецепции изменений освещенности основную роль играет фитохром. Он участвует в активации генов, которые кодируют белки, связанные с переходом в состояние покоя. При этом ослабляются ростовые процессы, но фотосинтез осуществляется. Чтобы избежать его торможения, активируется накопление запасных веществ в паренхиме ствола и корней. В конце вегетативного периода все почки переходят в состояние покоя.

Уменьшение длины дня способствует ослаблению синтеза фитогормонов – стимуляторов роста: ауксинов и гибберелинов, тогда как синтез АБК и этилена усиливается. Они вызывают еще большее торможение роста и его полную остановку. Обработка в этот период растений ингибиторами роста, например ретардантом хлорхолинхлоридом, особенно при добавлении ингибитора транспорта ауксина – трийодбензойной кислоты, повышает устойчивость растений, а ИУК и гибберелины понижают ее.

У древесных растений покой наступает в начале осени и в первую фазу закаливания лишь усугубляется, у травянистых переход в состояние покоя происходит одновременно с первой фазой закаливания. При действии низкой температуры у древесных формируются почки возобновления. Почечные

чешуи, молодые листья и осевые части внутри почек накапливают АБК и фенольные ингибиторы роста. Прекращается деятельность камбия и феллогена. Клетки ксилемной паренхимы, находящиеся вблизи сосудов, врастают в них через поры и образуют тиллы, закупоривающие сосуд. В тиллах происходит отложение крахмала, солей кальция и смолистых веществ. Желтеют и опадают старые листья, причем увеличение уровня АБК и этилена активируют этот процесс. Снижается интенсивность дыхания, происходят его метаболические перестройки. В период покоя дыхательная способность убывает, возрастает удельный вес анаэробного дыхания, которое наиболее четко выражено у зимостойких пород, в частности у хвойных. Именно у них повышается содержание этанола, восстановительная способность ферментных систем клетки, синтез восстановленных соединений эфирных масел, смол, липидов. Таким образом, с одной стороны, происходит торможение обменных процессов, как приспособление к выживанию в условиях низкотемпературного стресса, а с другой – идет такая перестройка дыхательного обмена, которая способствует накоплению метаболитов, участвующих в повышении зимостойкости. Переход на анаэробный тип дыхания наблюдается не только при низкой температуре, но и при кислородной недостаточности, засухе.

Естественное закаливание

Второй этап – возникновение физиологических и биохимических приспособлений в ходе естественного закаливания в осенний период. По теории Туманова закаливание происходит на свету в 2 фазы: при низких положительных температурах, а затем медленное охлаждение в условиях отрицательных температур. Закаливание направлено на предотвращение образования льда внутри клетки и повышение устойчивости к внутриклеточному льду (если он все-таки образовался) для уменьшения обезвоживания и механической деформации протопласта. Каждый этап включения механизма устойчивости осуществляется многими физиолого-биохимическими процессами, охватывающими все уровни организации растений – от молекулярного до организменного.

Таким образом, второй этап подготовки к зиме – это первая фаза периода закаливания. Она начинается при температурах $+5-0^{\circ}\text{C}$. Озимые злаки проходят ее за 6-20 дней, древесные – за 30 дней. Подготовительные процессы закаливания не должны осуществляться быстро. Необходимо длительное, постепенное охлаждение, поскольку растение лучше успевает приспособиться к изменению температурного режима.

Что происходит в первую фазу закаливания при понижении температуры до 0°C ? Необходимо, чтобы свободная вода из клетки быстро транспортировалась в межклетники. Это обеспечивается поддержанием высокой проницаемости мембран. Увеличению проницаемости, потере воды способствует трансформация белков и мембранных белков-ферментов. Однако определяющими становятся особенности липидного состава мембран растений.

Изменяются физические и химические свойства мембран в направлении возрастания содержания ненасыщенных жирных кислот. Чем устойчивее растение, тем выше индекс ненасыщенности двойных связей жирных кислот липидов. При закаливании повышается содержание липидов, мембранных фосфолипидов и увеличивается их ненасыщенность. Накапливаются криопротекторы. Снижается точка замерзания цитоплазмы.

Увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот обуславливает снижение температурного фазового перехода липидов из жидкокристаллического состояния в гель. У морозостойких растений она лежит ниже точки замерзания, а у неустойчивых она выше 0°C . Благодаря фазовым переходам мембран из жидкостно-кристаллического в твердое состояние снижается проницаемость мембран. Поэтому понижение температуры фазового перехода липидов у морозоустойчивых растений способствует сохранению высокой проницаемости мембран при замораживании.

При понижении температуры происходит активация фосфолипазы A_2 , что приводит к накоплению свободных жирных кислот и вызывает изменения в энергетике клетки. Жирные кислоты в митохондриях становятся не только

основными субстратами окисления, но и важнейшим регулятором – разобщителем дыхания и фосфорилирования, упрощающим превращение энергии субстратов в тепло (рис. 25).

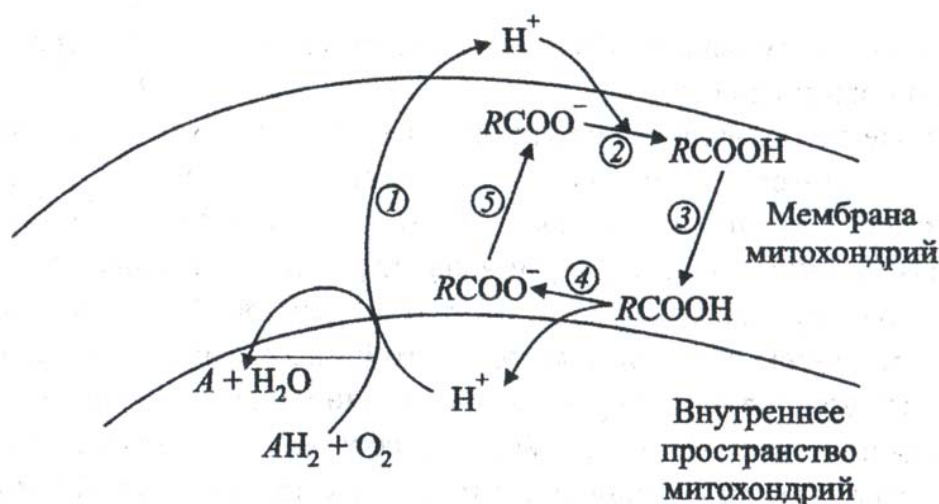


Рис. 25. Роль свободных жирных кислот в генерации тепла в митохондриях при низкой температуре (по Скулачеву, 1998). $RCOOH$, $RCOO^-$ – жирная кислота и ее анион, AH_2 – дыхательный субстрат, A – продукт дыхания.

В обычных условиях откачивание H^+ из внутреннего объема митохондрий наружу посредством ферментов ЭТЦ сопряжено с окислением дыхательных субстратов в продукты (1). При пониженной температуре откачанные из митохондрий ионы водорода на внешней поверхности мембраны присоединяются к анионам жирных кислот $RCOO^-$ (2).

Получающаяся при этом протонированная форма жирной кислоты диффундирует через мембрану (3) и диссоциирует на ее внутренней поверхности, давая $RCOO^-$ и H^+ (4). Протоны компенсируют внутри митохондрий нехватку ионов водорода, удаляемых оттуда дыхательной цепью. Образующийся анион $RCOO^-$ возвращается наружу (5) при участии митохондриальных белков – анионных переносчиков, в частности АТФ/АДФ-антипортера. Его главная функция состоит в обмене аниона внешнего (цитозольного) АДФ на внутримитохондриальный анион АТФ, образованный

H^+ -синтазой. Антипортер хорошо различает гидрофильные анионы, например АДФ и ГДФ. Однако в отношении гидрофобных анионов такой избирательности не наблюдается. Поэтому АТФ/АДФ-антипортер оказывается способным к транспорту анионов жирных кислот. Разобщающий белок митохондрий, близкий к АТФ/АДФ-антипортеру, в отличие от последнего неспособен транспортировать нуклеотиды, но сохранил способность переносить анионы жирных кислот. При адаптации к низкой температуре разобщающий белок включается наряду с АТФ/АДФ-антипортером в транспорт анионов жирных кислот через митохондриальную мембрану. В результате конкурентного блокирования АТФ/АДФ-антипортера жирными кислотами транспорт АДФ и АТФ через внутреннюю мембрану митохондрий ингибируется, повышается активность альтернативного пути транспорта электронов и усиливается рассеивание энергии в виде тепла. Поэтому в тканях растений зимостойкой озимой пшеницы митохондрии генерируют тепло. Температура побегов пшеницы в течение некоторого времени остается более высокой, чем температура окружающей среды. Альтернативный путь в этот период выполняет защитную функцию, способствующую ускорению окисления.

В ходе закаливания происходит более масштабная перестройка дыхания: снижаются интенсивность поглощения кислорода и дыхательный коэффициент, увеличивается активность дегидрогеназ, что сопровождается появлением новых изоферментов (пероксидаз, каталаз, полифенолоксидаз, цитохромоксидаз). Понижение интенсивности дыхания происходит в меньшей степени у морозоустойчивых сортов. Повышение активности дегидрогеназ связано с усилением их роли в поставке НАДН, необходимых для усиливающихся в это время синтетических процессов, обмена и накопления защитных веществ (сахаров, аминокислот, белков).

Закаливание ведет также к появлению необычных форм митохондрий (гантелевидных, чашевидных, вплоть до образования митохондриального ретикулума), с которыми связывают высокий уровень энергетического обмена.

У растений с ретикулярным типом организации митохондрий отмечена эффективная метаболическая адаптация, направленная на синтез криозащитных веществ.

Физиологические и молекулярные механизмы адаптации к отрицательным температурам

❖ *Накопление криопротекторов – сахаров и других совместимых осмолитов.*

Известно, что при низкой температуре крахмал превращается в сахарозу, при потеплении происходит обратное превращение. Это превращение идет в клетках коры зимующих деревьев, в клубнях и корневищах. Сахара накапливаются в клеточном соке, органеллах, особенно в хлоропластах. Чем выше концентрация раствора, тем ниже точка его замерзания, поэтому при накоплении сахаров уменьшается количество образующегося льда. Сахара также препятствуют образованию или уменьшают количество токсических веществ, образующихся при обезвоживании клеток из-за образования льда. Сахара являются главным дыхательным субстратом, являющимся источником энергии для синтезов, происходящих в первый период закаливания. Зимой сахара составляют 50-60% сухой массы в цитоплазме и органеллах.

К полимерам-криопротекторам относятся также молекулы гемицеллюлоз (ксиланы, арабиноксиланы). Накапливаясь в клеточной стенке, они обволакивают кристаллы льда и тормозят их рост.

К криопротекторам относятся и многоатомные спирты: глицерол, сорбитол, маннитол; аминокислоты, например, пролин. Образование этих соединений приводит к снижению точки замерзания цитоплазмы.

❖ *Изменение состава мембранных липидов и увеличение текучести мембран.*

Защитной реакцией является увеличение количества ненасыщенных жирных кислот в липидах, т.е. происходит активация десатураз.

❖ *Ограничение роста внеклеточного льда и синтез антифризных белков.*

Растения могут синтезировать антифризные белки, которые тормозят рост кристаллов льда, не влияя при этом на температуру замерзания раствора. Низкие температуры вызывают синтез антифризных белков, которые связываются с кристаллами льда, предотвращая или замедляя их дальнейший рост. Эти белки аккумулируются прежде всего в апопласте во время адаптации к холоду. Например, у растений озимой ржи обнаружено 6 антифризных белков с молекулярной массой от 16 до 35 кД. У чувствительных к морозу растениях такие белки обычно не обнаруживаются.

❖ *Синтез стрессовых белков холодового ответа.*

В настоящее время идентифицировано несколько генов и кодируемых ими белков холодового ответа, которые часто обозначают как COR-белки. Наиболее изучены COR-белки арабидопсиса, кодируемые четырьмя семействами генов. Промоторы всех этих генов имеют одинаковый регуляторный элемент CRT/DRE, с которым связывается транс-фактор CBF1. Этот регуляторный белок может запускать экспрессию сразу всех COR-генов. Кодируемые этими генами белки крайне гидрофильны и сохраняют свою стабильность даже при кипячении. Один из COR-генов арабидопсиса экспрессируется в ответ на низкую температуру, засуху и АБК. Кодируемый этим геном белок синтезируется в цитоплазме и затем транспортируется в хлоропласт. Этот белок повышает криостабильность плазмалеммы, а также хлоропластных мембран, но не влияет на морозоустойчивость целого растения. Повышение устойчивости к низким температурам всего растительного организма зависит от одновременной работы всех имеющихся COR-генов.

При адаптации к морозу синтезируются также аналоги LEA-белков, которые важны также при адаптации растений к водному дефициту. Помимо этого синтезируются молекулярные шапероны, являющиеся гомологами БТШ-90 и БТШ-70 и предотвращающие денатурацию белков при действии отрицательных температур.

Среди белков холодового стресса есть и ферменты антиоксидантной защиты, различные гидролазы, а также ферменты биосинтеза веществ-криопротекторов.

Во время второй фазы закаливания, когда происходит постепенное понижение температуры до $-10-20^{\circ}\text{C}$ и ниже со скоростью $2-3^{\circ}\text{C}$ в сутки, в межклетниках образуется лед и начинают функционировать механизмы защиты от обезвоживания, подготовленные в течение первой фазы.

Осуществляются 2 основных приспособления. Во-первых, транспорт оставшейся после прохождения первой фазы закаливания свободной воды из клетки. Основную роль в транспорте свободной воды из клеток к местам внеклеточного образования льда играют мембраны. Высокая проницаемость мембран при замораживании обеспечивается увеличением содержания ненасыщенных жирных кислот. Во-вторых, повышение устойчивости клетки к обезвоживанию. Водоудерживающие силы увеличиваются за счет криопротекторов. Закаленные клетки не повреждаются концентрированным клеточным соком, т.к. в этот период они находятся в химически инертном состоянии.

По мере усиления морозов объем клеток вследствие оттока воды уменьшается, а потом остается без изменений, несмотря на продолжение образования льда в межклетниках. Возможно, в этот период происходит замещение воды клеток воздухом, которое имеет большое значение для выживания растений, т.к. предохраняет клетки от деформации.

Когда наступает оттепель, растения утрачивают свойства, приобретенные во время закаливания, и уровень их морозостойкости резко падает, причем происходит это всего за 1-2 дня. При последующем понижении температуры растения опять проходят вторую фазу закаливания и уровень их морозостойкости снова повышается. Однако если температура понизится очень быстро, растение может погибнуть. Поэтому перенесение растением зимнего периода определяется не только способностью выживать в условиях очень низких температур, но и зимостойкостью в целом, т.е. возможностью

адаптироваться к повторяющимся оттепелям и заморозкам. Таким образом, механизм морозостойкости состоит в обратимой физиолого-биохимической и структурной перестройке на всех уровнях организации растения.

Данные литературы свидетельствуют о существенных адаптационных изменениях в процессе низкотемпературного закаливания ультраструктуры клеток морозоустойчивых растений. Среди них особо важную роль отводят разрастанию цитоплазмы, уменьшению объема вакуоли и повышению ее электронной плотности, увеличению мембранных элементов клетки.

В опытах Труновой и Астаховой показано, что доля площади, занимаемой вакуолью на срезе клетки, при закаливании озимой пшеницы к морозу уменьшается почти наполовину. Это чрезвычайно важный фактор, свидетельствующий о меньшем содержании воды в клетке, и, следовательно, о меньшей опасности фазового перехода воды в лед и сильного обезвоживания. Также выявлено, что в хлоропласте закаленных растений исчезают крахмальные зерна. При подсчете тилакоидов показано, что их количество в каждом хлоропласте увеличивается по крайней мере в 1.5 раза. Количество хлоропластов и занимаемая ими площадь на срезе клетки значительно возрастают. В конечном счете это приводит к тому, что клетка становится закаленной. Она приобретает способность предотвращать образование льда внутри клеток при отрицательных температурах.

Теплолюбивые растения не обладают такой способностью к реорганизации клеток. Наоборот, под действием холода в клетках и органеллах наблюдаются деструктивные изменения, выражающиеся в разбухании стромы хлоропластов, разрыве их ламелл и оболочки, уменьшении количества рибосом и нарушении интактности тонопласта. Более того, многие изменения ультраструктуры клеток теплолюбивых растений соответствуют генетической программе апоптоза устойчивых к холоду видов растений.

6. Почвенно-климатические факторы зимне-весеннего периода

Выпревание

Такое явление происходит в нехолодные зимы с толстым снежным покровом. Находясь под слоем мокрого снега при температуре около нуля, растения довольно интенсивно дышат, расходуя при этом запасы сахаров. Количество сахаров снижается с 20-25% до 2-4%. Морозоустойчивость снижается, растения становятся подвержены грибковым заболеваниям. Более устойчивыми к выпреванию являются сорта с меньшей интенсивностью дыхания при пониженных температурах и накапливающие в тканях больше сахаров.

Вымокание

Это явление наблюдается преимущественно весной, когда на поверхности почвы скапливается талая вода, не впитываемая в замерзающую почву. Гибель растений происходит от недостатка кислорода (гипоксия), усиливаются анаэробные процессы и блокируется аэробное дыхание.

Ледяная корка

Ледяная корка возникает, когда после оттепели возникает мороз. В этом случае вода замерзает над растением. Лед непроницаем для кислорода, хорошо проводит тепло, растение вымерзает.

Выпирание

Выпирание происходит, когда во время оттепели вода успевает впитаться в почву, а затем замерзает при понижении температуры. При этом на некоторой глубине на границе с не оттаявшими слоями почвы образуется ледяная прослойка. Вода при замерзании расширяется и приподнимает верхний слой почвы, что приводит к разрыву корней.

Зимняя засуха

Зимняя засуха происходит при сильных и продолжительных ветрах, при нагреве солнечными лучами. К концу зимы побеги могут потерять до 50% воды и погибнуть от высыхания. Осенний листопад у деревьев – это приспособление к зимней засухе. Почечные чешуи также защищают от зимнего высыхания, которое угрожает надземным органам. У хвойных и других вечнозеленых

растений образуется очень толстая кутикула, делающая листья жесткими и защищающая их от потери воды.

Зимне-весенние ожоги

Зимне-весенние ожоги наблюдаются в районах с солнечной зимой. На южной стороне ветвей и молодых стволах появляются ожоги. У неопробковевших частей растений клетки под влиянием солнечных лучей нагреваются, теряют в зимнее время морозоустойчивость и не выдерживают ночных морозов. В образующиеся раны попадает инфекция.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Войников В.К. и др. Белок холодового шока 310 кД разобщает окислительное фосфорилирование в растительных митохондриях // Физиол. раст. – 2001. – Т. 48. – № 1. – С. 89-94.

2. Климов С.В. и др. Особенности донорно-акцепторных отношений у аллоцитоплазматического гибрида озимой пшеницы в связи с устойчивостью к низкотемпературному стрессу // Известия Академии наук. Сер. биол. – 2007. – № 4. – С.413-419.

3. Козюкина Ж.Т. Устойчивость растений к отрицательным факторам среды. Уч. пособ. по спецкурсу «Устойчивость растений». – Днепропетровск: ДГУ, 1980. – 104 с.

4. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учеб. для вузов. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.

5. Лось Д.А. Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений // Вестник Российской Академии Наук. – 2005. – Т. 75. – № 4. – С. 338-345.

6. Полевой В.В. Физиология растений. М.: Высш. шк., 1989. – 464 с.

7. Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. – М.: Наука, 2006. – 143 с.

8. Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс / Отв. ред. Вл.В. Кузнецов; Ин-т физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. – М.: Наука, 2007. – 54 с.

9. Усманов И.Ю., Рахманкулова З.Ф., Кулагин А.Ю. Экологическая физиология растений: Учебник. – М.: Логос, 2001. – 224 с.

10. Физиология растений: Учебник для студентов вузов /под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 640 с.

11. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2002. – 244 с.

Лекция 11. Действие на растения радиации

1. Общие представления о радиации и ионизирующем излучении

Под ***радиацией*** в широком смысле этого слова понимают радиоактивное излучение. Основными видами радиации является солнечная радиация и проникающая радиация.

Радиоактивность – это самопроизвольный распад атомных ядер некоторых элементов, приводящий к изменению их атомного номера и массового числа. Радиоактивный распад осуществляется с определенной скоростью, он не может быть остановлен или ускорен. Распад радиоактивных элементов сопровождается потоками ионизирующих излучений, каждый из которых характеризуется своими физико-химическими свойствами.

Ионизирующие излучения – любые излучения, взаимодействия которых со средой приводят к образованию электрических зарядов разных знаков. Видимый свет и ультрафиолетовое излучение к ионизирующим излучениям не относятся.

Среди различных типов излучения, действующих на биоту, **ионизирующему излучению** принадлежит особая роль. Это связано с особенностями его воздействия на живое вещество, большой проникающей

способностью и особым способом разрушения вещества посредством ионизации его молекул и образования свободных радикалов.

Источники ионизирующего излучения могут быть естественного и искусственного происхождения.

Можно выделить 5 типов ионизирующих излучений, различающихся по величине энергии и способности проникать в ткани живых организмов (α -, β -, γ -, нейтронное и рентгеновское излучения):

альфа (α)-излучение отклоняется в магнитном поле в сторону Севера, представляет собой поток положительно заряженных частиц (атомов гелия), движущихся со скоростью около 20000 км/с;

бета (β)-излучение отклоняется в магнитном поле в сторону Юга, представляет поток отрицательно заряженных частиц (электронов), движущихся со скоростью света;

гамма (γ)-излучение – коротковолновое магнитное излучение, близкое по свойствам к рентгеновскому. Распространяется со скоростью света, в магнитном поле не отклоняется, характеризуется высокой энергией – от нескольких тысяч до нескольких миллионов электрон-вольт;

нейтрон – электрически нейтральная элементарная частица, которая вместе с протоном входит в состав атомных ядер (кроме ядра водорода). Нейтроны выбрасываются элементами, которые распадаются в результате самопроизвольного расщепления. В тканях нейтроны вызывают ионизацию не прямо, а путем выброса протона из ядра водородного атома и путем активации элементов через нейтронный захват, приводя в дальнейшем к γ -излучению. Благодаря их большой массе и отсутствию заряда нейтроны имеют большую кинетическую энергию и проникающую способность;

рентгеновское излучение, как и γ -излучение, не имеет массы и электрического заряда. γ -лучи испускаются ядром, обычно в комбинации с α - или β -эмиссией, в то время как рентгеновские лучи исходят от электронной оболочки. γ - и рентгеновские лучи имеют короткие длины волн и высокую проникающую способность.

Описанные выше ионизирующие излучения обладают способностью проходить через различные вещества живой и неживой природы. При этом они возбуждают их атомы и молекулы. Такое возбуждение заканчивается вырыванием отдельных электронов из электронных оболочек нейтрального атома, который превращается в положительно заряженный ион. Так происходит первичная ионизация объекта воздействия излучений. Освобожденные электроны, обладая определенной энергией, взаимодействуют со встречными атомами и молекулами, создавая новые ионы – происходит вторичная ионизация. Могут образовываться и свободные радикалы, которые являются чрезвычайно реакционными благодаря неспаренным электронам, и поэтому могут также приводить к ионизации. Ионизация так активизирует молекулу, что она быстро принимает участие в химической реакции, превращая теоретически обратимое замещение электрона в необратимое, и поэтому может приводить к необратимым изменениям.

Наиболее опасными для живых клеток последствия облучения вызываются радиационными повреждениями их ядер. Ионизация молекулы ДНК приводит к потере способности данной клетки к делению и к опасным для нее мутациям.

Различают непосредственно ионизирующие и косвенно ионизирующие излучения. К первым относятся излучения заряженных частиц (α -, β - и др.), которые, попадая в облучаемую среду, сами ионизируют ее атомы и молекулы. Косвенно ионизирующие излучения (рентгеновское, γ -, нейтронное и др.) сами не производят ионизацию. При попадании в среду они взаимодействуют с атомом (атомным ядром или электронами его оболочки), передают энергию электрону (так называемому вторичному электрону) или атомному ядру (так называемому ядру отдачи). В дальнейшем ионизацию производят вторичный электрон или ядро отдачи.

За счет ионизации облучаемых биологических объектов в них происходят изменения, характер которых зависит от вида излучения, длительности и количества радиационного воздействия.

2. Радиационный фон Земли

Все живые организмы, начиная от простейших оргазмов и заканчивая человеком, в течение всей своей жизни непрерывно подвергаются высокоэнергетическому облучению земного и космического происхождения.

Радиационный фон Земли складывается из трех основных компонентов:

- космическое излучение;
- естественные радионуклиды, содержащиеся в почве, воде, воздухе и других объект ах окружающей среды;
- искусственные радионуклиды, образовавшиеся в результате человеческой деятельности (например, при ядерных испытаниях), радиоактивные отходы, отдельные радиоактивные вещества, используемые в медицине, технике, сельском хозяйстве.

Космическое излучение

Космическое излучение характеризуется потоком различных частиц, приходящим на Землю из космического пространства. Подразделяется на первичное и вторичное. В свою очередь, первичное излучение включает первичное галактическое излучение, первичное солнечное излучение и излучение заряженных частиц, захваченных магнитным полем Земли (радиационный пояс Земли). Первичное галактическое излучение состоит на 90% из протонов высоких энергий и на 10% – ионов гелия. Первичное солнечное излучение происходит в виде вспышек на Солнце, что сопровождается освобождением большого количества энергии в области видимого, ультрафиолетового и рентгеновского спектров излучения. Наиболее сильные вспышки сопровождаются выбросом большого количества заряженных частиц, главным образом протонов и α -частиц. Первичное солнечное излучение обладает относительно низкой энергией, поэтому не приводит к существенному увеличению дозы внешнего излучения на поверхности Земли. Радиационный пояс Земли состоит из протонов и

электронов с небольшим содержанием α - частиц, которые захватываются магнитным полем Земли и двигаются по спирали вокруг его силовых линий.

В целом первичное космическое излучение почти полностью исчезает на высоте 20 км, его высокоэнергетические частицы взаимодействуют с ядрами атомов воздуха, образуя нейтроны, протоны и мезоны.

Вторичное космическое излучение является следствием образования космогенных радионуклидов. Последние возникают при взаимодействии частиц вторичного космического излучения с ядрами различных атомов, присутствующих в атмосфере.

Мощность дозы космического излучения определяется двумя величинами: интенсивность ионизации в воздухе и плотность потока нейтронов, что является предметом специального рассмотрения.

Космическое излучение, достигающее поверхности Земли, составляет около 30% естественного фона ионизирующих излучений. Земная атмосфера поглощает значительную часть космического излучения. Остальные 70% обусловлены α -, β - и γ -излучениями радиоактивных элементов – тория, урана, радия и продуктов их распада, находящихся в рассеянном виде в земных породах, почве, атмосфере и воде.

Естественные радионуклиды

К естественным радионуклидам относятся указанные выше космогенные радионуклиды, главным образом ^3H , ^7Be , ^{14}C , ^{23}Na , ^{24}Na и радионуклиды, присутствующие в объектах окружающей среды с момента образования Земли. Основным источником облучения человека и загрязнения пищевых продуктов являются ^{40}K , ^{238}U , ^{232}Th – радионуклиды земного происхождения.

Искусственные радионуклиды

Испытание ядерного оружия – один из самых опасных источников радиоактивного загрязнения окружающей среды.

Наряду с испытанием ядерного оружия, источниками загрязнения окружающей среды могут быть:

- добыча и переработка урановых и ториевых руд;

- обогащение урана изотопом ^{235}U , т.е. получение уранового топлива;
- работа ядерных реакторов;
- переработка ядерного топлива с целью извлечения радионуклидов для нужд народного хозяйства;
- хранение и захоронение радиоактивных отходов.

К настоящему времени естественный радиационный фон существенно повысился под влиянием технологической деятельности человека, связанной с увеличением добычи урановых руд, работой ядерных реакторов, переработкой ядерного топлива с целью извлечения радионуклидов для нужд народного хозяйства. Химизация земледелия также влечет за собой дополнительное включение в систему почва-удобрение-растение радионуклидов. Примерно 25% всего вносимого с удобрениями в почву сельскохозяйственных угодий урана, тория, радия содержится в фосфорных удобрениях.

Пути поступления радионуклидов в растение достаточно сложны и разнообразны. Различают поверхностное (воздушное) и структурное загрязнение радионуклидами. Поверхностное загрязнение сопровождается оседанием радиоактивных веществ, переносимых воздушной средой, на поверхности объектов; оно относительно легко удаляется даже через несколько недель. Структурное загрязнение сопровождается накоплением радиоактивных веществ в растениях, преимущественно у растений с хорошо развитой глубокой корневой системой. Наиболее часто это явление наблюдается на загрязненных территориях.

3. Повреждающее действие радиации на растение

В зависимости от интенсивности ионизирующей радиации она может оказывать на растительные организмы стимулирующее, угнетающее или летальное воздействие. Характер и интенсивность ответных реакций живых организмов на действие ионизирующей радиации зависит от многих факторов. У растений чувствительность к радиации зависит от числа хромосом, их

размера, длительности и стадии митотического цикла, типа клетки или ткани, стадии клеточной дифференцировки, условий питания, концентраций загрязняющих элементов, вида растения и т.д. В зависимости от дозы, типа радиации, времени могут наблюдаться разные эффекты влияния на растительные организмы. При этом могут происходить генетические, физиологические изменения, изменения роста и развития растений, ускорение процесса старения, различные заболевания или смерть.

Первичный радиационный эффект может быть прямым и косвенным.

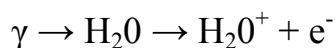
Прямое действие состоит в радиационно-химических превращениях молекул в месте поглощения энергии излучения. Прямое попадание в молекулу переводит ее в возбужденное или ионизированное состояние. Поражающее действие связано с ионизацией молекулы. Для клетки наиболее опасно нарушение облучением уникальной структуры ДНК. При прямом действии излучения на молекулу ДНК происходят разрывы связей сахар-фосфат, дезаминирование азотистых оснований, образование димеров пиримидиновых оснований (чаще других – тимина) и т.д. Эти повреждения могут накапливаться.

Другие изменения касаются радиационных влияний на ядерную мембрану и хроматин. На структуре хроматина сказываются депротенинизация участков ДНК и активация ДНКаз. Облучение может также инактивировать ферменты, участвующие в репарации повреждений молекулы ДНК. Эти и другие повреждения как на уровне ДНК, так и хроматина в конечном счете выражаются в изменениях белкового синтеза, прохождения фаз клеточного цикла, в образовании хромосомных aberrаций, увеличении частоты мутаций в клетках, нарушении систем регуляции и гибели клетки.

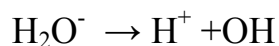
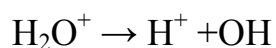
Различают дозы облучения, вызывающие 100%-ный летальный исход (LD_{100}), и дозы менее летальные (например, при LD_{50} летальность составляет 50%).

Косвенное, или непрямое действие радиации состоит в повреждениях молекул, мембран, органоидов, клеток, вызываемых продуктами радиолиза

воды, количество которых в клетке при облучении очень велико. Заряженная частица излучения, взаимодействуя с молекулой воды, вызывает ее ионизацию:



Ионы воды за время жизни 10^{-15} – 10^{-1} с способны образовывать химически активные свободные радикалы и пероксиды:



В присутствии растворенного в воде кислорода возникает также мощный окислитель HO_2 и новые пероксиды ($\text{HO}_2 + \text{H} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$) и т.д. Эти сильные окислители за время жизни 10^{-6} – 10^{-5} с могут повредить многие биологические важные молекулы – нуклеиновые кислоты, белки-ферменты, липиды мембран и др. Кроме того, при взаимодействии радикалов воды с органическими веществами в присутствии кислорода образуются органические пероксиды, что также способствует лучевому поражению молекул и структур клетки.

При понижении концентрации кислорода в среде (ткани) уменьшается эффект лучевого поражения, а при увеличении его концентрации действие радиации усиливается.

Прямое повреждение приводит к мгновенному пластическому физическому напряжению – изменению и потере полупроницаемости мембраны.

Непрямое повреждение вызывается более медленным химическим и метаболическим напряжением. Оно выражается в ингибировании роста, замедлении клеточного деления. Однако радиационный эффект не всегда сопровождается ингибированием роста. В зависимости от дозы и ряда других факторов может наблюдаться и стимулирующий эффект.

Из тканей растительного организма наиболее уязвимы для радиации меристемы. Их называют критическими тканями растения, поскольку лучевое поражение меристем определяет лучевую болезнь и гибель всего организма.

Радиоустойчивость растений значительно изменяется в их онтогенезе. Наиболее чувствительно растение к облучению при прорастании семян и в период споро- и гаметогенеза.

На ранних этапах развития жизни на Земле радиоактивный фон был намного выше современного и постепенно уменьшался из-за распада многих радиоактивных элементов земной коры. Возможно, поэтому организмам более древнего происхождения свойственна повышенная радиоустойчивость. Высокие дозы радиации способны переносить цианобактерии, грибы и лишайники.

Ионизирующая радиация не поглощается специфически. Все вещества адсорбируют ее в равной степени на единицу массы, поэтому малые дозы, вероятно, улавливаются главным образом водой, поскольку она составляет основную долю живой клетки. Только достаточно большие дозы достигают основные компоненты цитоплазмы и вызывают прямые повреждения путем их изменений. Это характерно и для других сильных стрессовых воздействий – мороза, жары, засухи, которые быстро вызывают прямые повреждения. Поэтому быстрые радиационные повреждения большими дозами можно классифицировать как прямые повреждения, как и в случае других стрессов.

Давно уже было замечено, что агенты, вредные в больших дозах, в малых дозах оказывают противоположное стимулирующее действие. Ионизирующее излучение не является в этом отношении исключением.

Стимулирующее влияние слабых воздействий на биологические объекты различных агентов, повреждающих при больших дозах, известно под названием **«гормезис»**.

Имеются данные, что природный радиационный фон участвует в снятии покоя семян, в увеличении прорастаемости неполноценных семян, в делении растительных клеток и тем самым в росте и развитии проростков, их лучшем укоренении, в ускорении синтеза как основных макромолекул растения, так и многих существенных продуктов вторичного синтеза, в первую очередь, хлорофилла, каротиноидов, антоцианов и др. Повышенный природный

радиационный фон является благоприятным для размножения почвенных микроорганизмов и особенно для процесса образования азотфиксирующих клубеньков благодаря стимуляции внедрения клубеньковых клеток бактерий в корневые клетки хозяина. Обнаруженная активация фитохрома под влиянием малых доз ионизирующей радиации и усиление этой активации при малой интенсивности солнечного света позволяет предположить, что особое значение природный радиационный фон имеет для тенелюбивых растений, а также растений Севера, в условиях сокращенного светового дня.

Помимо ионизирующего излучения, повреждающее действие на растение может оказывать ультрафиолетовая радиация.

В умеренных дозах ультрафиолетовое излучение оказывает благотворное действие на организм. Однако увеличение ультрафиолетовой *B*-радиации вызывает у растений многочисленные прямые и косвенные реакции, включая повреждения ДНК, белков и мембран, изменение процессов вторичного метаболизма, транспирации и фотосинтеза, роста, развития и морфогенеза, транспорта веществ и дыхания. Ультрафиолетовая радиация вызывает повреждение белков и липидов плазмалеммы. Наиболее уязвимой мишенью для ультрафиолетовых лучей является K^+ -зависимая АТФаза, инаktivация которой приводит к нарушению проницаемости мембран для ионов и нарушению их соотношения. Кроме того, под влиянием ультрафиолетовых лучей наблюдается деструкция и инаktivация витаминов, антиоксидантов и других биологически активных соединений, включая фитогормоны. Однако главную угрозу для растений представляет мутагенное действие ультрафиолетовых лучей, в основе которого лежат повреждения ДНК, приводящие не только к возникновению мутаций, но, возможно, и к гибели организма.

Опосредованные радиационно-биохимические реакции в растениях

Этапы формирования радиационного поражения клеток и тканей описаны многими схемами. Так, например, по Цирклю, следует различать семь таких этапов: 1) передачу энергии ионизирующего излучения молекулам воды,

образование ионов; 2) образование свободных радикалов; 3) образование пероксидов; 4) реакции пероксидов с геном определяющего значения; 5) суммирование инактиваций нескольких важных генов, ведущее к изменению состояния генома; 6) утрату генами способности контролировать синтез своих продуктов; 7) невозможность осуществления митоза. В этой схеме гипотетичным остается положение о том, что инаktivация нескольких генов затрагивает активность генома в целом. Латарж и Грей рассматривают четыре этапа процесса: 1) поглощение энергии ионизирующего излучения; 2) первичные радиационно-химические реакции; 3) цепи химических реакций; 4) конечный радиобиологический эффект. Бак и Александер выделяют такие этапы: 1) поглощение энергии ионизирующего излучения; 2) появление ионизированных и электронно-возбужденных молекул; 3) индуцирование изменений в молекулах; 4) развитие биохимических повреждений; 5) формирование субмикроскопических повреждений; 6) проявление видимых повреждений клеток; 7) гибель клетки.

Кузиным предложена наиболее обстоятельная в настоящее время схема основных этапов радиационного повреждения клетки (рис. 26).

Известно, что при облучении растений дозами, вызывающими пролиферативную гибель части клеток, выход отдельных радиационно-химических повреждений макромолекул сравнительно невелик. Тем не менее, со временем после облучения наблюдаются существенные изменения биохимических процессов в растениях.

Это связано с тем, что в сложной системе биохимических реакций клетки первичные поражения служат причиной развития вторичных опосредованных биохимических процессов, проявляющихся в нарушенном метаболизме. Эти нарушения могут оказаться настолько значительными, что появление не свойственных клетке в норме количеств тех или иных веществ или, напротив, оскудение фондов метаболитов может стать причиной существенных нарушений физиологических функций. Эту биохимическую стадию можно назвать стадией усиления повреждений клетки; продолжительность ее

довольно велика: нарушения наблюдаются длительное время – дни, месяцы, в то же время стартовые радиационно-химические процессы длятся, как правило, микро- и миллисекунды.

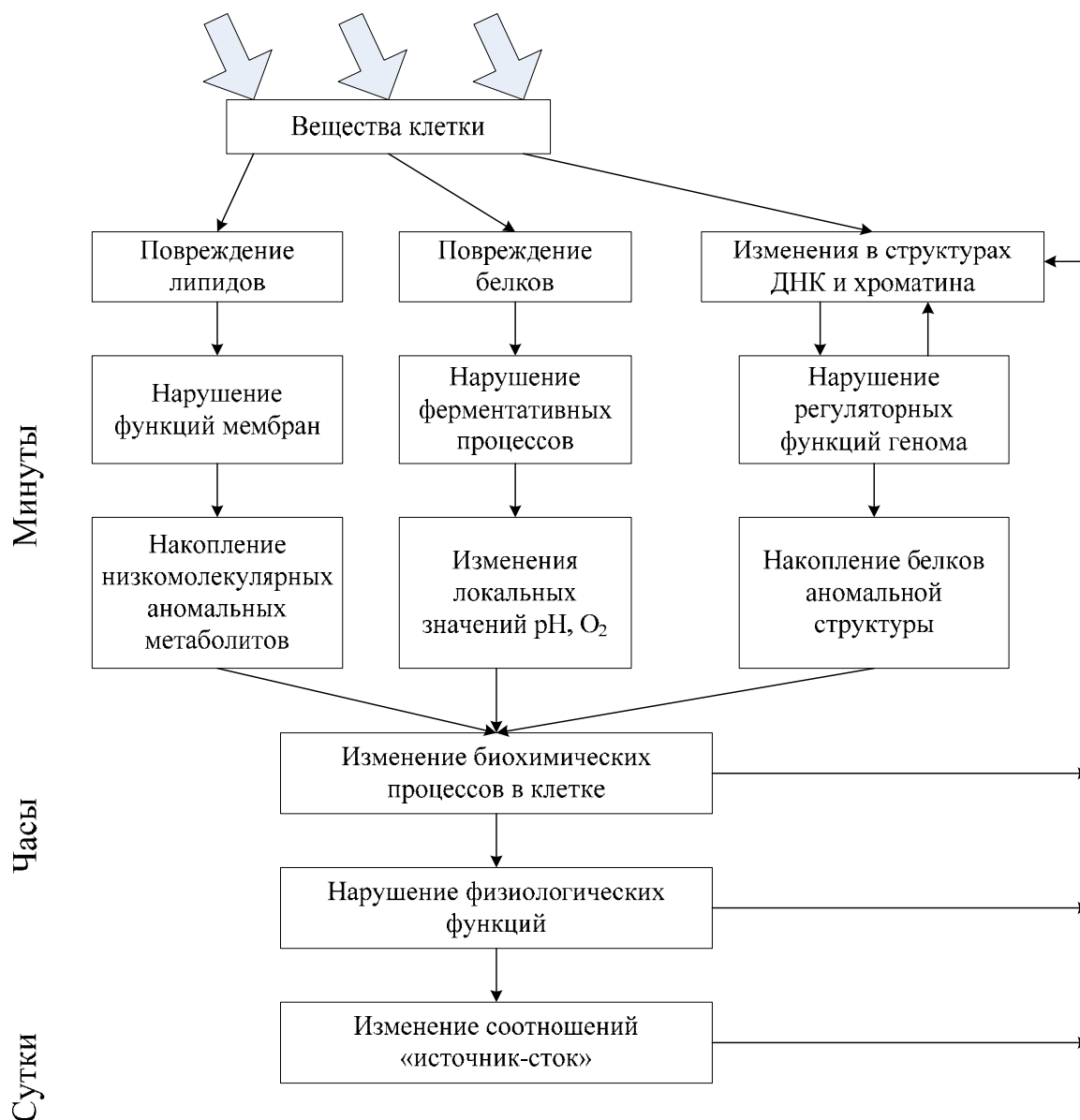


Рис. 26. Основные этапы радиационного повреждения клетки

(по Кузину, 1981)

Повреждения структуры ДНК могут сопровождаться нарушениями регуляции метаболизма. Повреждение белковых молекул, соответствующие локусы которых в ДНК нарушены, может сопровождаться накоплением

избыточных копий дефектных молекул. Изменение мембран вследствие радиационно-химических нарушений липидов и их цепных окислительных процессов может вызвать перераспределение ионов, что повлечет за собой изменение кинетики многих биохимических реакций вследствие нарушения компартментализации клетки, сдвигов в локальных значениях pH и концентрации ионов, играющих регуляторную роль.

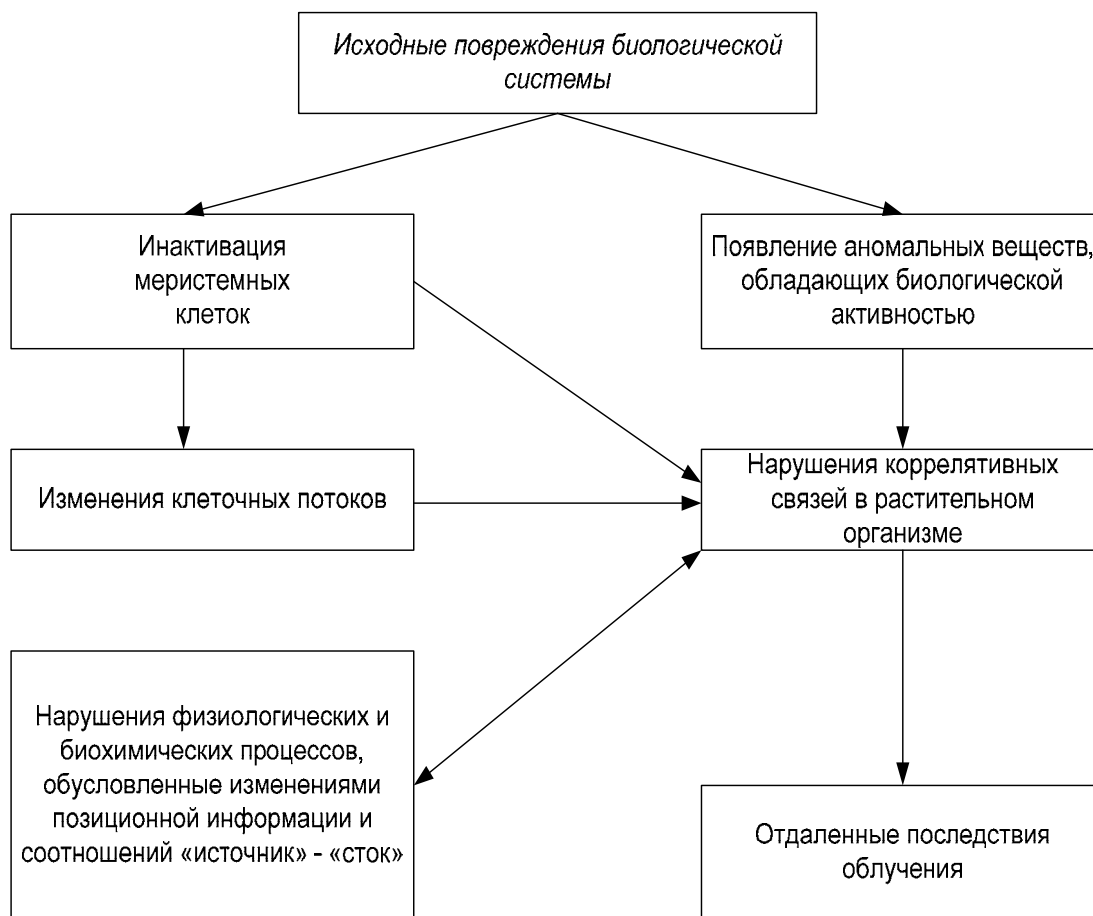


Рис. 27. Нарушение коррелятивных физиологических связей в растительном организме при действии ионизирующей радиации (по Гродзинскому, 1989).

Поскольку при действии ионизирующей радиации происходит дезактивация делящихся клеток и развиваются аномалии в накоплении биологически активных веществ, поддержании градиентов их концентрации, то

естественно ожидать нарушения коррелятивных физиологических связей в организме. Это подтверждается многими примерами: аномалиями форм пластинок листа, свидетельствующими о нарушении коррелятивных связей между центрами роста листовой пластинки, увеличением ветвления (нарушение коррелятивных связей в апикальном доминировании и соподчинение последнему развития латеральных почек), уменьшением числа цветков и плодов (нарушениях коррелятивных связей в органогенезе) и т.д. (рис. 27).

Таким образом, проводя анализ причинно-следственных связей в формировании радиобиологических эффектов у растений, необходимо не упускать из поля зрения важнейшую компоненту радиационного синдрома, обусловленную нарушением коррелятивных соотношений между органами растения.

4. Специфика проявления радиобиологических реакций у растений

При анализе составляющих радиационного синдрома у растений можно встретить как явления, которые в какой-то степени напоминают признаки лучевого поражения у животного организма, и такие реакции, которые свойственны только растениям. Попытаемся разобраться с тем, на каком этапе развития лучевого поражения возникают те радиобиологические эффекты, которые являются специфическими для растительного организма.

Цепь последовательно развивающихся событий, завершающихся проявлением конечной радиобиологической реакции, начинается с поглощения энергии ионизирующей радиации молекулами веществ, содержащихся в живых клетках. В результате радиохимических превращений биологически важных макромолекул изменяется функциональная способность клеточных ультраструктур, что выражается в нарушении клеточных функций.

Поскольку в клетках растений содержатся вещества, которые свойственны живым существам всех царств живой природы, то, очевидно, радиационно-химические превращения этих веществ носят сходный для любых

клеток характер. Вместе с тем в растительных клетках содержатся значительные количества свойственных только им веществ – некоторые пигменты, целлюлоза, многие соединения вторичного происхождения и т.д., в связи с чем уже в первичных радиационно-химических реакциях могут проявиться черты, характерные только для растительных систем.

Растительная клетка отличается от животной наличием ряда пластид, вакуоли, тонопласта, и это также может обуславливать некоторую специфичность радиобиологических процессов, происходящих в растительной клетке.

Отмеченные различия все же не затрагивают основных исходных причин лучевого поражения – повреждения ядерного аппарата клеток: они одинаковы у животных и растительных клеток.

На рис. 28 показано развитие радиобиологических реакций у растений. Уже с самых ранних этапов формирования лучевого поражения проявляется некоторая специфичность эффектов. Со специализацией клеток, возникающей в ходе их дифференциации, отличия растительной клетки от животной в сильной степени нарастают, и свойственный только растительным клеткам тип реакций на облучение начинает проявляться более отчетливо.

Радиобиологические реакции меристемных клеток во многом сходны с реакциями стволовых клеток животного организма. Эти реакции проявляются в следующем: потеря способности к делению, пролиферативная гибель, возникновение хромосомных нарушений и т.д.

Таким образом, растительным клеткам свойственные и общерадиобиологические реакции на облучение и процессы, характерные только для растительного организма. Следует учитывать, что у многоклеточного растительного организма на протяжении жизни меристемы продуцируют все органы растения. В животном организме образование тканей и органов происходит по-другому, что также определяет специфичность тканевых и организменных реакций растений и животных на действие ионизирующих излучений.

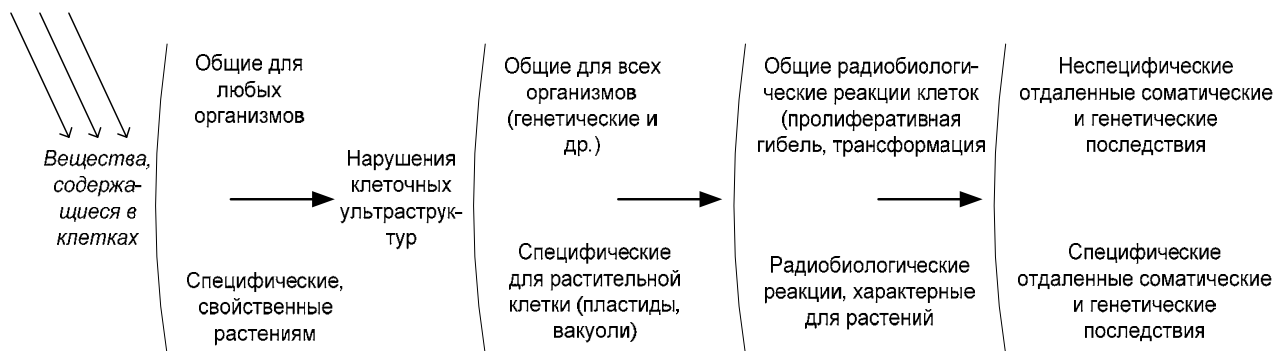


Рис. 28. Развитие радиобиологических реакций у растений
(по Гродзинскому, 1989)

Представления о специфичности радиобиологических реакций требуют уточнения терминологии, так как возможно неоднозначное толкование смысла слова «специфичность». С одной стороны, специфичность можно понимать как свойство, характерное только для растения, неспецифичность – как свойство, одинаковое для растительных, животных и бактериальных клеток. С другой стороны, о специфичности можно говорить применительно к действующему фактору, а не объекту проявления реакции. В этом случае специфичность реакции на ионизирующее излучение означает, что данная реакция проявляется только на излучение, а не на какие-то факторы иной природы.

При рассмотрении радиационного синдрома растений необходимо обращать внимание на то, как сочетаются специфические и неспецифические процессы в сложном, интегративном по природе, ответе растительного организма на облучение.

5. Механизмы радиоустойчивости растений

Устойчивость растений к действию радиации может определяться рядом факторов как на молекулярном, так и на более высоких уровнях организации:

1. Степень радиационного повреждения молекул ДНК в клетке уменьшают системы восстановления ДНК, независимые или зависимые от

света. Системы темновой репарации (независимой от света), постоянно присутствующие в клетке, отыскивают поврежденный участок, разрушают его и восстанавливают целостность молекулы ДНК. Под влиянием света ферментативным или неферментативным путем устраняются димеры пиримидиновых оснований, возникающие в ДНК при действии ультрафиолетового света или ионизирующего излучения. Такого рода восстановление целостности ДНК способствует также уменьшению повреждений (изменений) и в хромосомах.

2. Защиту на уровне клетки осуществляют вещества-радиопротекторы. Их функция состоит в гашении свободных радикалов, возникающих при облучении, в создании локального недостатка кислорода или в блокировании реакций с участием продуктов – производных радиационно-химических процессов. Функцию радиопротекторов выполняют сульфгидрильные соединения (глутатион, цистеин и др.) и такие восстановители, как аскорбиновая кислота; ионы металлов и элементы питания (бор, висмут, железо, калий, кальций, магний, натрий, сера, фосфор, цинк); ряд ферментов и кофакторов (каталаза, пероксидаза, полифенолоксидаза, NAD); ингибиторы метаболизма (фенолы, хиноны); активаторы (ИУК, кинетин, гибберелловая кислота) и ингибиторы роста (абсцизовая кислота, кумарин и др.).

3. Восстановление на уровне целого растительного организма обеспечивается: а) неоднородностью популяции делящихся клеток меристем; б) асинхронностью делений в меристемах, из-за которой в каждый данный момент в них содержатся клетки на разных фазах митотического цикла с неодинаковой радиоустойчивостью; в) существованием в апикальных меристемах фонда клеток типа покоящегося центра, которые приступают к энергичному делению при остановке деления клеток основной меристемы и восстанавливают как инициальные клетки, так и меристему; г) наличием покоящихся меристем типа спящих почек, которые при гибели апикальных меристем начинают активно функционировать и восстанавливают повреждение.

6. Меры снижения радиоактивного загрязнения окружающей среды и его негативного влияния на биоту

Выводы ученых о благоприятном действии для биоты малых доз атомной радиации относятся к природному радиационному фону и его повышенным уровням, т.е. к тем видам радиации и радионуклидам, к которым за миллионы лет эволюции адаптирована биота на нашей планете.

В результате техногенной деятельности человека (ядерные взрывы, аварии на АЭС и др.) повышение радиоактивного фона не адекватно повышенным уровням природного радиационного фона.

Рассматривая меры профилактики радиоактивного загрязнения окружающей среды, следует отметить следующие основные направления работы:

- охрана атмосферного слоя Земли как природного экрана, предохраняющего от губительного космического воздействия радиоактивных частиц;
- соблюдение техники безопасности при добыче, использовании и хранении радиоактивных элементов, применяемых человеком в процессе его жизнедеятельности.

В условиях радиоактивного загрязнения территории необходимо изменение традиционных подходов к организации сельскохозяйственного производства.

Уменьшения поступления радионуклидов в продовольственное сырье можно достичь:

- проведением организационно-хозяйственных и технологических мероприятий;
- изменением структуры посевных площадей;
- мелиорацией загрязненных земель, направленной на локализацию процессов миграции радиоактивных веществ;
- внесением повышенных доз удобрений и извести.

Подавляющее число гидробионтов обладают высокой способностью к накоплению в своих тканях радиоактивных изотопов. Высокая способность водных растений накапливать из окружающей среды различные элементы может быть использована для концентрирования веществ, загрязняющих водную среду, в том числе и радионуклидов. Такое концентрирование радионуклидов может быть использовано в комплексе других мероприятий по ограничению локального радиоактивного загрязнения водной среды. Опыт свидетельствует, что технологии очистки водной среды с применением растений существенно экономичнее других приемов.

При всем многообразии фактов, установленных в процессе изучения действия ионизирующих излучений на растения, остается еще много нерешенных вопросов. Связь между клеточными радиобиологическими эффектами и ответами тканей и целого организма на облучение затрагивает многие регуляторные системы, в основном физиологического характера, в которых преломляются нарушения генетических управляющих систем. Таким образом, в ответ на облучение сложного многоклеточного организма поднимаются сложные пласты физиологических и биохимических процессов в свойственной им иерархии взаимной подчиненности. При этом проявляются связи между генетическими и физиологическими механизмами регуляции.

Обращает внимание многоиерархичность радиобиологических процессов: начиная с уровня электронно-атомарных явлений первичного размена поглощенной энергии квантов или частиц ионизирующего излучения и проходя через уровни все меньшего разрешения – надмолекулярных структур, клеточных органелл, клеток, групп клеток, ткани, органа, целого организма, радиобиологический эффект может проявиться на уровне ценоза. На сложном пути эстафетной передачи от уровня к уровню повреждений сосуществуют восстановительные реакции, уводящие биосистему от погрешностей, возникших в ходе развития лучевого поражения, и процессы наслаивания все новых и новых отрицательных последствий облучения. На проявлении

восстановительных реакций и усилении лучевого поражения сказываются многие системы клеток и тканей, среди которых ведущие – регуляторные.

На современном этапе развития цивилизации, когда имеется определенный риск повышения доз ионизирующей радиации в среде обитания растений, животных и человека, необходимо уметь защищать организм от вредного действия излучений. Исследования радиобиологических процессов у растений дают многое для понимания возможных путей защиты растительного мира от вредного влияния радиоактивного загрязнения биосферы.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Гродзинский Д.М. Радиобиология растений. – Киев: Наук. думка, 1989. – 384 с.
2. Ипатова В.И. Адаптация водных растений к стрессовым факторам среды. – М.: Изд-во «Графикон-принт», 2005. – 224 с.
3. Кузин А.М. Природный радиоактивный фон и его значение для биосферы Земли. – М.: Наука, 1991. – 117 с.
4. Кузин А.М., Каушанский Д.А. Прикладная радиобиология. – М.: Энергоиздат, 1981. – 224 с.
5. Кузнецов Вл. В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учебник. Изд. 2-е. – М.: Высш. шк., 2006. – 742 с.
6. Механизмы радиоустойчивости растений. – Киев: Наук. думка, 1976. – 167 с.
7. Позняковский В.М. Гигиенические основы питания, безопасность и экспертиза продовольственных товаров. Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 2002. – 556 с.
8. Полевой В.В. Физиология растений: Учеб. для биол. спец. вузов. – М.: Высш. шк., 1989. – 464 с.

Раздел 4. Стрессоры химической и биологической природы и ответные реакции растений

Лекция 12. Осмотический стресс

1. Типы засоления

Избыточное содержание солей характерно для 25% почв планеты. По степени засоления различают практически незасоленные, слабо и средnezасоленные почвы и солончаки. Почва считается засоленной, если она содержит более 0.25% легкорастворимых минеральных солей. Тип засоления определяется составом солей, который зависит главным образом от содержания в почве анионов. Различают хлоридное, сульфатное, сульфатно-хлоридное, карбонатное засоление. Самое токсичное для растений хлоридное засоление. Преобладающим катионом в таких почвах, как правило, является натрий, но встречаются также карбонатно-магниевое и хлоридно-магниевое засоление. В природных условиях засоления каким-либо одним видом соли практически не наблюдается.

Среди засоленных почв наиболее известны ***солончаки и солонцы***. Солончаки формируются при засолении почв степей, пустынь и полупустынь в условиях выпотного водного режима. Соли поднимаются в верхние почвенные горизонты вследствие испарения воды с поверхности. Солонцы образуются в условиях непромывного водного режима при значительном накоплении в почвенном поглощающем комплексе натрия, поступающего из почвенного раствора или грунтовых вод. Содержание натрия в солонцах колеблется от 10-15% до 70%. Повышение концентрации солей ухудшает структуру почвы, ее пористость, проницаемость для воды, а также оказывает повреждающее действие на растения.

2. Влияние осмотического стресса на физиологические процессы

Раньше было принято считать, что главной причиной повреждения растений при засолении является осмотический стресс: накопление солей в зоне роста корней понижает водный потенциал почвенного раствора, что затрудняет поступление воды в корни, возникает физиологическая засуха. Поэтому повреждения при засолении очень сходны с тем, что наблюдается при засухе, т.е. прежде всего, повышается осмотический потенциал клетки, снижается интенсивность синтетических процессов и усиливается гидролиз. Если степень засоления среды превышает летальный порог, то синтетические функции подавляются настолько сильно, что растение гибнет. Если такой порог не достигается, то синтетические реакции стабилизируются на более низком уровне.

Оказалось, что вредное действие на растения оказывают и сами соли. Они токсичны сами по себе. Даже безвредные в малых концентрациях соли, такие как серноокислый натрий, в высоких концентрациях оказываются ядовитыми, вызывая различные нарушения нормального хода физиологических процессов.

Бернштейн (Bernstein, 1964) разделяет эффект солености на растительные организмы на осмотический, пищевой и токсический. Первые два являются вторичными солеиндуцированными стрессами, а третий – первичным солеповреждением.

В связи с этим ухудшение роста растения в присутствии соли может происходить по разным причинам. Снижение роста часто вызвано подавлением поглощения биогенов растением вследствие, например, конкурентного поглощения NaCl. У высших растений при увеличении концентрации NaCl наблюдается дефицит ионов калия.

Солевой стресс может вызывать ингибирование роста, процессов фотосинтеза, дыхания, метаболизма белков и нуклеиновых кислот, изменение ферментативной активности, накопление токсических продуктов в клетках.

Стимулируется активность РНКазы, разрушаются полирибосомы, усиливается протеолиз в цепи ДНК-РНК-белок. Возрастают значения соотношений неорганического и органического фосфора и небелкового и белкового азота. Увеличивается концентрация аммиака. Происходит торможение роста. Изменяется и соотношение фитогормонов, накапливается АБК, что ведет к закрыванию устьиц и способствует ограничению потери воды.

Фотосинтез ингибируется, когда ионы натрия или хлора в высоких концентрациях накапливаются в хлоропластах. Поскольку фотосинтетическая ЭТЦ относительно нечувствительна к солям, их неблагоприятный эффект сказывается в основном на углеродном метаболизме и фотосинтетическом фосфорилировании. Снижается содержание хлорофилла. Образование хлорофилла тормозится, прекращается синтез крахмала. Солевой стресс увеличивает образование органических кислот и аминокислот.

Реакция дыхания на избыток солей неоднозначна. Чаще всего интенсивность дыхания сначала возрастает, поскольку поддержание ионного гомеостаза в условиях засоления требует значительных затрат энергии. Увеличивается доля пентозофосфатного дыхательного пути (ПФП). Ингибируется перенос электронов в ЭТЦ, причем NaCl выступает разобщителем дыхания и фосфорилирования. При сильном засолении энергетическая эффективность дыхания снижается. Отмечается усиление ПОЛ, т.к. происходит торможение работы антиоксидантных систем.

Возрастание содержания определенных солей приводит к их преимущественному поступлению в ткани растений, тогда как поглощение других тормозится. Содержание натрия в клетках повышается, а калия и магния снижается.

Помимо изменений в поглощении ионов, отличие засоления от засухи состоит в том, что снижение активности ферментов и других белков в этом случае происходит не только вследствие истончения гидратных оболочек, как при водном дефиците, но и в результате прямого токсического, «высаливающего» действия солей.

В зависимости от типа засоления определенным образом изменяется морфология растений, что обуславливает особенности физиологических процессов. При хлоридном засолении растения внешне приобретают суккулентные черты: развиваются водоносные мясистые ткани. Интенсивность фотосинтеза таких растений невысока, замедлено поступление воды; интенсивность дыхания при расчете на единицу сырой массы снижена.

При сульфатном засолении растения обнаруживают черты ксероморфности, т.е. фотосинтез и дыхание у них становятся интенсивнее, появляется мелкоклеточность и т.п. Сульфатное засоление нарушает обмен серы: в растениях накапливается много сульфоксидов, сульфонов, сульфоновых кислот. Эти соединения легко проникают через мембраны, нарушая их целостность, а на организменном уровне способствуют увяданию растений.

3. Особенности приспособления растений к условиям засоления

Концентрация солей выше 5% летальна для большинства растений. Однако существуют виды, адаптированные к произрастанию даже в условиях сильного засоления. Растения пытаются избежать накопления солей или приспособляются к их высокому содержанию (рис. 29).



Рис. 29. Способы защиты растений от избытка солей (по Чирковой, 2002)

Первый способ избежания – концентрирование солей в вакуоли. Поглощенные соли выводятся из клеток с помощью специализированных солевых железок, или избыток солей удаляется с опавшими листьями. Солевые железы листьев и стеблей растений выделяют избыток ионов при их росте в высоко солевой среде.

Собирающие клетки железок мало чем отличаются от эпидермальных, но клеточная стенка у них значительно утолщена и лигнифицирована (рис. 30). Эти клетки связаны многочисленными плазмодесмами с окружающими их клетками мезофилла и эпидермиса, а также с бокальчатыми клетками. Секреторные, побочные и бокальчатые клетки также связаны друг с другом через плазмодесмы, их клеточные стенки пропитаны не только лигнином, но и суберином, что полностью исключает апопластный транспорт веществ. Кроме того, эти клетки железки находятся в своеобразной капсуле из лигнифицированной и суберинизированной клеточной стенки, которая таким образом изолируется от клеточных стенок окружающих клеток. Снаружи железы покрыты мощной кутикулой, которая в зоне секреторных клеток имеет поры. Через эти поры и происходит секреция солей. В секреторных клетках имеются многочисленные рибосомы, митохондрии, много мелких вакуолей, но нет хлоропластов и запасных веществ.

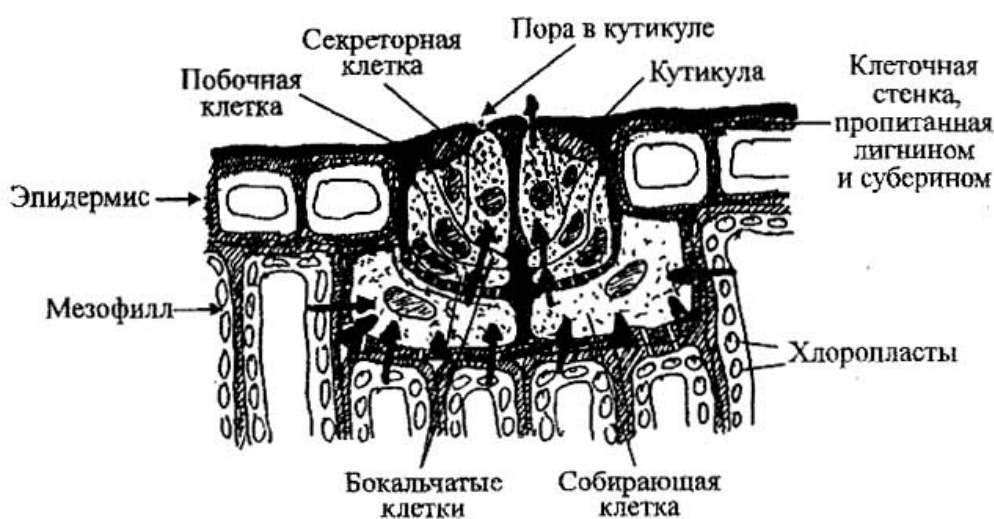


Рис. 30. Строение солевой железки кермека (по Чирковой, 2002)

Соли поступают в корень, вместе с током воды движутся по сосудам ксилемы, а затем по апопласту тканей листа, что предохраняет цитоплазму клеток от избытка солей. В собирающих клетках при участии ионных насосов соли переходят в симпласт и до выделения наружу движутся по симпласту. В плазмалемме секреторных клеток активно функционируют H^+ и Cl^- -АТФ-азы. Благодаря деятельности этих и других насосов происходит активное выделение ионов хлора, натрия, кальция, магния, сульфата, нитрата. Помимо ионов через поры в кутикуле теряются значительные количества воды. В сухую погоду вода из выделенного раствора быстро испаряется и растений покрывается налетом солей, который затем сдувается ветром или смывается дождем.

Поглощаемые соли могут концентрироваться и в вакуолях клеток головок специализированных волосков (рис. 31).

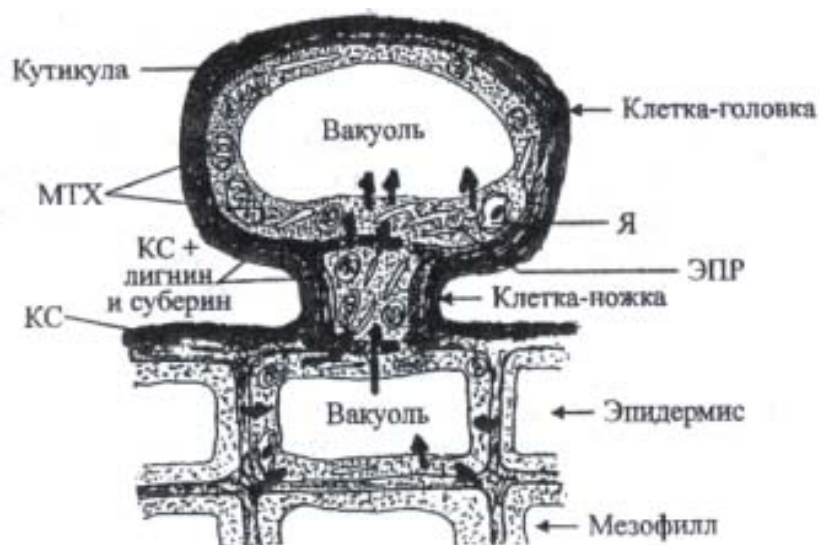


Рис. 31. Строение солевого волоска лебеды (по Чирковой, 2002).

КС – клеточная стенка, *МТХ* – митохондрии, *ЭПР* – эндоплазматический ретикулум, *Я* – ядро.

Когда в вакуолях головки накапливаются соли, она обрывается, на ее месте несколько раз в течение роста образуется новая головка.

Солевые волоски состоят из ножки и головки. В собирающей клетке-ножке, не имеющей центральной вакуоли, много митохондрий и цистерн ЭПР. В верхней секреторной клетке – головке, 95% объема цитоплазмы занимает центральная вакуоль. Ножка связана плазмодесмами с головкой и эпидермальными клетками. Клеточные стенки обеих клеток волоска утолщены и в значительной степени лигнифицированы, а также импрегнированы суберином, что препятствует продвижению солей из апопласта в симпласт. Снаружи волосок имеет толстую кутикулу, которая затрудняет испарение воды. При активном участии ионных насосов соли проникают в цитоплазму эпидермальных клеток, граничащих с клеткой-ножкой, перемещаются по симпласту в ножку и попадают в вакуоль клетки-головки. Накопление солей в клеточном соке происходит благодаря активному ионному транспорту на тонопласте. Концентрация солей в вакуоли головки может в 60 раз превышать таковую в клетках эпидермиса и эквивалентна 5-6 моль/л натрия и калия и 9-9.5 моль/л хлора. Вакуоль содержит также большое количество оксалата. Кроме того, волоски выделяют катионы: Mg^{2+} , Ca^{2+} , и анионы: NO_3^- , HCO_3^- , SO_4^{2-} . Солевые волоски теряют очень мало воды, но эффективность выделения солей у них ниже, чем у солевых железок.

Уровень солей в цитоплазме уменьшается при сбрасывании старых листьев, через гидатоды вместе с секрецией воды. Локальное снижение уровня солей происходит и при выделении их в сосуды ксилемы или флоэмы.

Необходимо отметить ограниченное поглощение солей клетками корней вследствие соленепроницаемости мембран. Повышается специфичность ионных каналов, в основном калиевых, уменьшается их общее число. Происходят структурные перестройки в липидах мембран, появляются пропитанные суберином эндодермальные клетки, которые тормозят поступление солей по апопласту. Однако мембраны не проницаемы для солей при незначительном засолении, в случае сильного засоления соли проникают внутрь клеток. В этих условиях начинают действовать другие механизмы,

направленные на активное выведение солей из цитоплазмы – в вакуоль или клеточную стенку.

4. Галофиты и их эволюционные адаптации к засолению

Растения могут приспосабливаться к высоким концентрациям солей. Растения, толерантные к засолению, называются *галофитами*. Их делят на следующие подгруппы:

1. Эугалофиты (настоящие или соленакапливающие) – наиболее солеустойчивые растения. Растут на влажных засоленных почвах: на солончаках по морским побережьям и по берегам временных и постоянных соленых озер. Проницаемость мембран для солей у них повышена, и они накапливают соли до 10%, т.е. представители этой группы нуждаются в высоком уровне солей для нормального развития. Вследствие высокого осмотического давления эугалофиты обладают большой сосущей силой и способны регулировать свое водоснабжение, поглощая воду из засоленных почв. К ним относят солерос, сведу.

2. Криногалофиты, или солевыводящие галофиты. Благодаря хорошей проницаемости мембран поглощают соли, но накапливают их внутри ткани меньше, чем эугалофиты, т.к. способны выводить соли из клеток с помощью секреторных железок на листьях и стеблях. Выделение солей железками осуществляется с помощью ионных насосов и сопровождается транспортом большого количества воды. В сухую погоду криногалофиты покрываются налетом солей, который затем сдувается ветром или смывается дождем. Часть солей удаляется с опадающими листьями. В эту группу входят кермек, тамарикс и др. Кроме того к криногалофитам относят и галофиты с мясистыми листьями – галосуккуленты. При выращивании на незасоленных почвах галосуккулентность исчезает. Эугалофиты и криногалофиты называют солянками.

3. Гликогалофиты, или соленепроницаемые галофиты, растут на менее засоленных почвах, чем растения предыдущих групп. Высокое осмотическое давление в их клетках поддерживается за счет синтеза органических осмолитов, а мембраны клеток корня малопроницаемы для солей. К этой группе относятся различные виды полыни и др.

Растения незасоленных местообитаний – **гликофиты**, в условиях засоления также обладают определенной способностью к перенесению избытка солей, а следовательно, могут приспосабливаться к повышенному уровню засоленности. Относительной устойчивостью обладают ячмень, сахарная свекла, хлопчатник. Накапливаются соли в основном в старых тканях.

5. Механизмы адаптации растений к осмотическому стрессу

Механизмы солеустойчивости галофитов генетически закреплены и являются конститутивными, т.е. проявляются в любых условиях, независимо от наличия или отсутствия засоления. Напротив, защитные системы растений-гликофитов являются индуцибельными, т.е., хотя они и предопределены (детерминированы) генетически, они реализуются лишь при действии этого экстремального фактора.

Солеустойчивость, или **галотолерантность** – это устойчивость растений к повышенным концентрациям солей в почве или воде. Среди культурных растений настоящих галофитов нет. Солеустойчивость зависит от фазы развития растений. Всходы страдают сильнее, чем взрослые растения, задерживается прорастание семян, т.к. в эндосперме снижается активность гидролитических ферментов. При засолении повреждаются в первую очередь наиболее активно растущие части растения.

Особенности функционирования растений при избытке солей можно представить в виде схемы (рис. 32).

Поддержание ионного гомеостаза. Самыми солеустойчивыми организмами на Земле являются галотолерантные бактерии, которые обитают в

соленых морях и озерах и требуют для своего существования наличия в цитоплазме очень высоких концентраций солей (от 3 до 6 М NaCl). Лишь при высокой концентрации солей рибосомы этих бактерий способны сохранять нативную структуру и осуществлять синтез белков, а ферменты и другие макромолекулы физиологически активны. Галотолерантные бактерии – единственные живые существа, устойчивость которых к соли реализуется исключительно на уровне макромолекул.



Рис. 32. Особенности обмена веществ растений в условиях засоления
(по Чирковой, 2002)

Ферменты и структурные белки растений, так же как и прочих живых организмов, не могут функционировать в условиях высоких внутриклеточных концентраций неорганических ионов, прежде всего ионов натрия, поскольку практически все макромолекулы не обладают солеустойчивостью. По этой причине солетолерантность растительного организма зависит не от солетолерантности самих белков, а от их микроокружения, т.е. от концентрации и соотношения ионов в цитоплазме.

Выживание любого растения в условиях избыточного засоления в значительной степени зависит от способности клеток поддерживать ионный

гомеостаз. Содержание ионов в цитоплазме определяются как барьерными функциями мембран, так и скоростью выделения ионов в апопласт.

В условиях солевого стресса большое значение приобретают особенности ионного транспорта. На уровне корня создаются мощные ион-транспортирующие барьеры. Истинные галофиты, накапливающие соли, располагают молекулярными биологическими механизмами солеустойчивости и могут не иметь никаких ион-транспортирующих барьеров. Галофиты с другими типами солевого обмена обладают разными по мощности ион-транспортирующими барьерами и могут испытывать и водный и солевой стресс. У галиофитов ион-транспортирующих барьеров нет. В их солеустойчивости решающую роль играют процессы водно-солевого обмена.

Поддержанию гомеостаза помогает и компартментация «лишних» солей в вакуоли. Аккумуляция ионов в вакуолях является очень экономным способом предотвращения его токсического действия в цитоплазме, поскольку, находясь в вакуоли, ионы натрия могут одновременно использоваться и как осмолиты для поддержания внутриклеточного осмотического гомеостаза, нарушенного в условиях засоления.

Аккумуляция натрия в вакуоли и снижение его концентрации в цитоплазме приводит к нарушению осмотического равновесия между цитозолем и клеточным соком. Для восстановления внутриклеточного осмотического равновесия необходима активная аккумуляция в цитозоле совместимых осмолитов

Совместимые осмолиты – это сахара, сахароспирты, свободные аминокислоты и некоторые другие органические соединения, которые в больших концентрациях не токсичны для клеточного метаболизма. Более того, они не только понижают водный потенциал клеток при солевом стрессе, но и защищают мембраны, ферменты, структурные и регуляторные макромолекулы. Повышение концентрации совместимых осмолитов в цитоплазме преимущественно достигается за счет двух разных процессов: активации

работы генов, кодирующих ферменты синтеза этих осмолитов, и ингибирования экспрессии других генов, ответственных за их разрушение.

Снижение водного потенциала клеток. В условиях засоления растение должно уменьшить свой водный потенциал до еще более низких значений, чтобы вода снова смогла поступать в корни. Это достигается за счет накопления в вакуоли неорганических ионов и синтеза совместимых осмолитов в цитоплазме.

Поглощение неорганических ионов из внешнего раствора и их последующая компартиментация в вакуоли с одновременным накоплением совместимых осмолитов в цитоплазме приводит к падению водного потенциала почвенного раствора. Это означает восстановление нормального направления градиента водного потенциала между почвой и растением и поступление воды в растение.

Адаптация к условиям засоления – это не только поддержание низких концентраций ионов в цитоплазме и аккумуляция в больших количествах совместимых осмолитов, но и способность клеток, как при засухе, активировать работу целого ряда других генов. Эти гены кодируют регуляторные белки, *LEA*-белки, ферменты синтеза гормонов (в частности абсцизовой кислоты), макромолекулы с функциями шаперонов, убиквинтины, ингибиторы протеаз, АТФ-азы и переносчики ионов. Важное значение имеет также регуляция экспрессии генов аквапоринов, участвующих в переносе через мембраны молекул воды и имеющих важное значение для сохранения водного статуса клетки в условиях засоления.

Всем этим механизмам предшествует восприятие осмосенсором изменения водного потенциала почвенного раствора, преобразование сигнала и его передача на внутриклеточные сигнальные цепи, компонентами которых являются ионы кальция, протеинкиназы, в том числе *MAPK*-каскад, и транс-факторы, регулирующие экспрессию конкретных генов стрессорного ответа.

Кроме внутренних механизмов устойчивости имеются у растений анатомо-морфологические приспособления: уменьшение размеров листьев, их

опушенность, многослойный эпидермис, уменьшение количества устьиц, толстая кутикула и т.п.

Считается, что чем старше растение, тем больше устойчивость. Однако у риса устойчивость к солям изменяется в онтогенезе: во время прорастания семян она выше, у проростков – резко снижается, во время кущения увеличивается, в период созревания наблюдается наибольшая устойчивость. Важную роль играет климат. В условиях холодного климата растения более устойчивы к солям.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Ипатова В.И. Адаптация водных растений к стрессовым абиотическим факторам среды. М.: Изд-во «Графикон-принт», 2005. – 224 с.
2. Козюкина Ж.Т. Устойчивость растений к отрицательным факторам среды. Уч. пособ. по спецкурсу «Устойчивость растений». – Днепропетровск: ДГУ, 1980. – 104 с.
3. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учеб. для вузов. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.
4. Медведев С.С. Физиология растений: Учебник. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2004. – 335 с.
5. Физиология растений: Учебник для студентов вузов /под ред. И.П. Ермакова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 640 с.
6. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2002. – 244 с.
7. Шевякова Н. И. Метаболизм и физиологическая роль пролина при водном и солевом стрессе // Физиол. раст. – 1983. – Т. 30. – С. 768–783.
8. Якушкина Н.И., Бахтенко Е.Ю. Физиология растений: учеб. для студентов вузов, обучающихся по специальности «биология». – М.: Гуманитар. изд. центр ВЛАДОС, 2005. – 463 с.

Лекция 13. Действие ксенобиотиков на растения и их газоустойчивость

1. Определение понятия «ксенобиотики»

Ксенобиотики (от греч. *xenos* – чужой и *bios* – жизнь) – это чужеродные для организмов соединения (промышленные загрязнения, пестициды, тяжелые металлы, органические загрязнители, газы и т.д.), не входящие в естественный биологический круговорот. Попадая в окружающую среду в значительных количествах, ксенобиотики могут воздействовать на генетический аппарат организмов, вызывать их гибель, нарушать равновесие природных процессов в биосфере. Изучение превращений ксенобиотиков в организмах, путей их детоксикации и деградации (с помощью микроорганизмов и растений) важно для организации санитарно-гигиенических мероприятий, мер по охране природы. Среди ксенобиотиков особое место занимают пестициды. Это одни из наиболее опасных токсических веществ.

Пестициды (от лат. *pestis* – зараза и *caedo* – убиваю) – это химические средства, используемые для борьбы с вредителями и болезнями растений, сорняками, вредителями зерна и зернопродуктов, древесины, изделий из хлопка, шерсти, кожи, с эктопаразитами домашних животных, а также с переносчиками опасных заболеваний человека и животных. В группу пестицидов включают также дефолианты и десиканты, облегчающие механизированную уборку урожая некоторых культур, регуляторы роста растений (ауксины, гиббереллины, ретарданты), добавки к краскам против обрастания морских судов.

Пестициды относятся к различным классам органических и неорганических соединений. Большинство пестицидов представляет собой органические вещества, получаемые синтетическим путём. Среди них важное место принадлежит хлорорганическим и фосфорорганическим пестицидам, производным карбаминовой кислоты, пестицидам растительного

происхождения, триазилам, производным мочевины. Из неорганических веществ важны соединения меди, серы и др.

2. Классификация пестицидов

Пестициды делят на следующие основные классы (в зависимости от того, против каких вредных организмов используют):

- **акарициды** – вещества для борьбы с клещами;
- **антифидинги** – вещества, отпугивающие насекомых от растений, которыми они питаются;
- **инсектициды** – средства, уничтожающие вредных насекомых;
- **гербициды** – препараты для борьбы с нежелательной растительностью;
- **зооциды** – яды, уничтожающие вредных позвоночных (вещества для борьбы с грызунами называются родентицидами, а только с крысами – раттицидами);
- **бактерициды, вирусоциды, фунгициды** – средства для борьбы с возбудителями бактериальных, вирусных и грибных болезней растений;
- **нематоциды** – препараты, убивающие круглых червей – возбудителей нематодных болезней растений;
- **моллюскоциды** – вещества, уничтожающие вредных моллюсков (яды для борьбы с голыми слизнями называются лимацидами).

Пестициды включают также протравители семян, **репелленты** – средства, отпугивающие вредных насекомых, клещей, млекопитающих и птиц, **аттрактанты** – вещества для привлечения членистоногих с тем, чтобы их затем уничтожить или выявить локализацию или начало лета вредителей, **хемостерилизаторы** – препараты, которые не убивают насекомых, грызунов, клещей, но вызывают у них бесплодие. Имеются пестициды комплексного действия. Например, протравители семян содержат одновременно фунгицид, бактерицид, инсектицид и т.д. Использование таких пестицидов позволяет сократить затраты труда на обработку. В некоторых случаях пестициды

объединяют в группы в зависимости от фазы развития вредного организма, против которого они применяются. Например, *овициды* – яды, убивающие яйца насекомых, клещей, *ларвициды* – уничтожающие личинок и т.д.

По способу проникновения в организм вредителей различают *кишечные* пестициды, проникающие через ротовые органы и кишечник, *контактные* – при контакте ядов с поверхностью тела вредителей, то есть через кожные покровы, *фумигантные*, попадающие в организм в парообразном или газообразном состоянии через дыхательные пути, и *системные*, легко проникающие в ткани растений или животных и поражающие вредителей, питающихся соком растений или животных.

В зависимости от скорости разложения в почве пестициды разделяют на шесть групп; с периодом распада более 18 месяцев (хлорорганические препараты, соединения селена), около 18 месяцев (триазиновые гербициды, пиклорам, диурон и некоторые др.), около 12 месяцев (производные галоидбензойных кислот и некоторые амиды кислот), до 6 месяцев (нитрилы кислот, производные арилоксиуксусных кислот, трефлан и его аналоги, нитрофенолы и др.), до 3 месяцев (производные арилкарбаминовых, алкилкарбаминовых кислот, некоторые производные мочевины и гетероциклические соединения), менее 3 месяцев (органические соединения фосфора и др.). В сельском хозяйстве предпочтительней использовать вещества, разлагающиеся за вегетационный период, на аэродромах и в борьбе с зарастанием дорог – с большей продолжительностью действия.

По токсичности для человека и теплокровных животных пестициды разделяют на 4 группы: сильнодействующие, высокотоксичные, среднетоксичные и малотоксичные. ЛД₅₀ (наименьшая доза пестицида, вызывающая смертность 50% подопытных животных) для этих групп равна соответственно до 50, 50-200, 200-1000 и свыше 1000 мг/кг. Такое деление носит условный характер, так как токсичность пестицидов для человека и животных зависит не только от абсолютного значения смертельных доз препаратов, но и от других их свойств: возможности отдалённых последствий

пестицидов при систематическом воздействии на организм; способности его накапливаться в организме и окружающей среде; стойкости во внешней среде; бластомогенных свойств (способность вызывать опухоли), мутагенных (влияющих на наследственность), эмбриотоксичных (влияющих на развитие плода), тератогенных (вызывающих уродства), аллергенных (обуславливающих извращённую повышенную чувствительность организма к пестицидам) и т.п.

Механизм действия различных классов пестицидов весьма различен и изучен ещё недостаточно. Например, органические соединения фосфора и эфиры алкилкарбаминовых кислот ингибируют фермент холинэстеразу членистоногих, производные тиомочевины блокируют окислительно-восстановительные процессы в организме насекомых.

3. Влияние разных групп пестицидов на организмы

В последние годы наиболее широкое применение нашли фосфорорганические инсектициды и акарициды (хлорофос, метофос, карбофос, метатион, фозалон, фосфамид и др.). Они используются против паутиного клещика основного вредителя хлопчатника, вредной черепашки вредителя зерновых культур и ряда вредителей плодовых. Препараты обладают высокой биологической активностью. Им свойственны контактные и внутрирастительные системные действия. Они проникают в ткань растения и сохраняют токсичность для вредителя в течение двух-шести недель. Фосфорорганические пестициды, обладая высокой биологической активностью, оказывают токсическое воздействие на организм человека и животных. Большинство препаратов этой группы относятся к высокотоксичным ядам. В механизме их токсического действия лежит угнетение деятельности жизненно важных ферментов. Фосфорорганические пестициды, в отличие от хлорорганических, относительно мало накапливаются в окружающей среде. Под влиянием воды, солнца примерно в течение месяца они разрушаются, превращаясь в малотоксичные соединения. Так,

метилмеркаптофос в листьях растений находится в течение 30 дней, фосфамид 710 дней. Поэтому фосфорорганические препараты в меньшей степени загрязняют пищевые продукты, полученные из обрабатываемых культур и животных. Однако некоторые препараты (например, тиофос) обладают высокой токсичностью и способны вызывать острое отравление. Их применение в СНГ запрещено.

Производные карбаминовой кислоты (севин, цирам, цинеб и др.) обладают значительной фунгицидной активностью и используются для защиты от вредителей, возбудителей заболеваний и сорной растительности при возделывании плодово-ягодных, овощебахчевых, зерновых, зернобобовых и технических культур. Они обладают средней и малой токсичностью и слабовыраженной кумуляцией, сравнительно быстро разрушаются во внешней среде. Однако некоторые из них могут сохраняться на обрабатываемых поверхностях сельскохозяйственных культур в течение продолжительного времени. Хотя производные карбаминовой кислоты по масштабам производства и применения занимают второе место после фосфорорганических препаратов, в нашей стране разрешено использование только севина, пиримора и фурадина. Производные карбаминовой кислоты в большинстве случаев действуют как контактные и кишечные яды. Некоторые из них могут оказывать токсическое действие на теплокровных животных и человека и по токсичности не уступают фосфорорганическим соединениям. Они оказывают эмбриотоксическое и мутагенное действия.

Хлорорганические соединения. ДДТ, ГХЦГ, полихлорпинен, алдрин, эфирсульфонат и другие хлорорганические соединения пестициды, давно нашедшие широкое применение в сельскохозяйственном производстве. Они используются в борьбе с вредителями зерновых, зернобобовых, технических культур, виноградников, овощных и полевых культур, в лесном хозяйстве, ветеринарии и даже в медицинской практике. Отличительная их особенность – стойкость к воздействию различных факторов внешней среды (температура, солнечная радиация, влага и др.). Так, ДДТ выдерживает нагревание до 115-

120°C в течение 15 ч и почти не разрушается при кулинарной обработке. Этот препарат, обладая высокими кумулятивными свойствами, постепенно накапливается в окружающей среде (вода, почва, пищевые продукты). Его находили в почве через 8-12 лет после применения. Другое характерное свойство хлорорганической группы веществ способность накапливаться в тканях и жире животных. Большинство препаратов этой группы относится к среднетоксичным соединениям. Только некоторые из них (алдрин, дилдрин) принадлежат к сильнодействующим и очень опасным по своей летучести веществам.

В настоящее время принимаются меры к замене соединений более безопасными. Применение таких сильнодействующих препаратов, как алдрин, какалдрин, дилдрин, в сельском хозяйстве запрещено. С 1970 г. запрещено применение ДДТ, введены ограничения и для некоторых других препаратов этой группы.

В последнее время получены химические соединения этой группы, близкие по своему строению к ДДТ, обладающие высокой инсектицидной активностью и легко разлагающиеся в окружающей среде до нетоксичных продуктов. Из хлорорганических инсектицидов в нашей стране сегодня находят широкое применение полихлоркамфен, гексахлоран, гамма-изомер ГХЦГ тиодан, дилор.

Фунгициды. Многие фунгициды это неорганические вещества, содержащие серу, медь или ртуть. Сера была, вероятно, первым эффективным фунгицидом и широко применяется до сих пор, особенно для борьбы с мучнистой росой. Как отмечалось, предохраняют от грибковых заболеваний сельскохозяйственные культуры. Сейчас наиболее распространены синтетические органические фунгициды, например дитиокарбаматы. Антибиотики типа стрептомицина тоже используют для борьбы с грибами, однако чаще для защиты растений от бактерий. Фунгицид системного действия перемещается по всему растению и действует подобно антибиотику, излечивая болезни, вызываемые грибами, или не давая им появиться. Фунгициды широко

применяют для борьбы с плесенью. В хлеб, например, с этой целью добавляют пропионат натрия. Объем их производства и ассортимент значительно меньше, чем инсектицидов и гербицидов.

Пиретрины. Повышая активность пестицидов, можно снизить действующую концентрацию до безопасных для человека величин. Если пестициды первого поколения (в основном соединения мышьяка) сильно загрязняли водную среду, то пестициды второго поколения менее опасны. Среди них препараты с высокой избирательностью и различной продолжительностью действия (от нескольких часов до многих месяцев). Многие из них под влиянием микроорганизмов, солнечного света, воды и воздуха полностью разлагаются на простые безвредные вещества. Таковы препараты из семейства пиретринов и их синтетических аналогов пиретроидов, которые вносят на поля в количестве 520 г/га, т.е. в 100-1000 раз меньше, чем в случаях традиционных пестицидов.

Гербициды – средства борьбы с сорняками. По функции гербициды можно разделить на несколько групп. В одну из них входят вещества, применяемые для стерилизации почвы; они полностью предотвращают развитие на ней растений. К этой группе относятся хлористый натрий и бура. Гербициды второй группы уничтожают растения избирательно, не затрагивая нужных. Например, 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) убивает двудольные сорняки и нежелательную древесно-кустарниковую растительность, но не вредит злакам. В третью группу входят вещества, уничтожающие все растения, но не стерилизующие почву, так что растения на этой почве могут потом расти. Так действует, например, керосин, по-видимому, первое вещество, примененное в качестве гербицида. Четвертая группа объединяет гербициды системного действия; нанесенные на побеги, они перемещаются по сосудистой системе растений вниз и губят их корни. Еще один способ классификации гербицидов основан на времени их применения, например, до посева, до появления всходов и т.д. В их числе наиболее широкое применение в сельском хозяйстве находят производные хлорфеноксиалкановых

кислот, симметричного триазина, мочевины, тиокарбаминовой, хлорированных алифатических и бензойной кислот.

Гербициды в основном значительно менее токсичны для теплокровных, обладают и слабой кумулятивной способностью. Вместе с тем некоторые гербициды небезопасны для окружающей среды. К их числу следует отнести низшие эфиры, отличающиеся большой летучестью. Значительная устойчивость хлортриазиновых препаратов при нарушении правил их применения может оказывать отрицательное воздействие на последующие посевы.

Дефолианты и десиканты. Для дефолиации сои, хлопчатника, картофеля и некоторых других культур применяются: бутифос, цианид кальция, хлорат магния и хлорат-хлорид кальция. Хлориды также используются для дисикации ботвы картофеля, подсолнечника, риса и др.

При завышенных, по сравнению с официально рекомендуемыми, дозах или концентрациях пестицидов, несоответствующих способах и сроках их применения, без учёта погодных условий, они вызывают ожог растений, снижение жизнеспособности пыльцы, гибель пестиков и значительно снижают урожай. Растения могут загрязняться пестицидами, приобретать неприятный запах и вкус (например, при использовании гексахлорана), а также накапливать их на поверхности в виде ядовитых остатков, опасных для человека и животных. При систематическом применении пестицидов нередко возникает к ним приобретённая устойчивость вредных организмов. Чтобы избежать выведения устойчивых рас вредителей к определённым пестицидам, необходимо иметь широкий ассортимент препаратов одного назначения и проводить плановое чередование их использования.

4. Влияние пестицидов на окружающую среду

Пестициды распространяются на большие пространства, весьма удаленные от мест их применения. Многие из них могут сохраняться в почвах

достаточно долго (период полураспада ДДТ в воде оценивается в 10 лет, а для диэldrина он превышает 20 лет). При использовании даже наименее летучих компонентов более 50% активных веществ в момент воздействия переходят прямо в атмосферу, а для таких пестицидов, как ДДТ и диэldrин, характерна дистиляция с парами воды на земной поверхности. Эта часть пестицидов, не достигших растений, подхватывается ветром и осажается в районах суши или океана, весьма удаленных от зон применения вещества. Они в конечном итоге попадают в различные экосистемы, включая океан, пресноводные водоемы, наземные биомы и др., в значительных количествах накапливаются в почвах и увеличивают свои концентрации при движении по трофическим цепям.

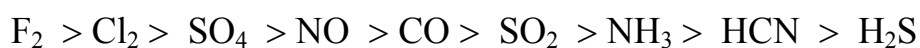
Таким образом, пестициды являются единственным загрязнителем, который сознательно вносится человеком в окружающую среду. Пестициды поражают различные компоненты природных экосистем: уменьшают биологическую продуктивность фитоценозов, видовое разнообразие животного мира, снижают численность полезных насекомых и птиц, а в конечном итоге представляют опасность и для самого человека. Пестициды, содержащие хлор (ДДТ, гексахлоран, диоксин, дибензфуран и др.), отличаются не только высокой токсичностью, но и чрезвычайной биологической активностью и способностью накапливаться в различных звеньях пищевой цепи. Даже в ничтожных концентрациях пестициды подавляют иммунную систему организма, повышая таким образом его чувствительность к инфекционным заболеваниям. В более высоких концентрациях эти примеси оказывают мутагенное и канцерогенное действие на организм человека.

5. Загрязнение атмосферы и газоустойчивость растений

Загрязнение атмосферы связано с производственной деятельностью человека. В воздух выделяется более 200 разновидностей различных компонентов: это сернистый газ (SO_2), оксиды азота (NO , NO_2), угарный газ, озон, соединения фтора, углеводороды, пары кислот, фенолы, твердые частицы

сажи, золы, пыли, содержащие токсические оксиды свинца, селена, цинка. В промышленно развитых странах загрязнение воздухом более чем на 50% обусловлено транспортом, около 20% приходится на отопительные системы, столько же на промышленную деятельность, около 10% на переработку и уничтожение отходов.

Загрязняющие атмосферный воздух компоненты подразделяются по величине частиц, скорости оседания под действием силы тяжести и электромагнитному спектру на пыль, туманы, дым. Газы и пары, легко проникая через устьица в ткани растений, могут непосредственно влиять на обмен веществ в клетках, вступая в химические реакции на уровне клеточных стенок и мембран. Пыль, оседая на поверхности листьев, затрудняет поглощение света, нарушает водный режим. По убыванию токсичности газы располагаются в ряды:



Пагубное влияние газов растения начинают ощущать с концентрации 500 мкг/м³. Кислые газы и пары наиболее токсичны для растений. В результате попадания в атмосферу оксидов серы и азота может происходить закисление осадков и выпадение кислотных дождей. *Газоустойчивость* – это способность растений противостоять действию газов, сохраняя нормальный рост и развитие.

6. Влияние газов на анатомо-морфологические и физиологические характеристики растений

Вредное прямое воздействие газов на растения проявляется непосредственно на листовом аппарате. Косвенное влияние газов на микрофлору, почвенный поглощающий комплекс, корни растений осуществляется через почву. Прямое действие ведет к ухудшению роста, ускорению старения, отмиранию отдельных органов, снижению урожая и его качества.

Кислые газы и кислотные дожди нарушают водный режим растений, в результате снижается оводненность тканей, падает содержание связанной воды, изменяется транспирация; приводят к закислению цитоплазмы, изменению работы транспортных систем; повреждают мембраны хлоропластов, плазмалеммы и других клеточных структур. Вследствие повреждения мембран хлоропластов снижается интенсивность фотосинтеза, разрушаются хлорофилл *a* и каротиноиды, в меньшей степени хлорофилл *b* и ксантофиллы. Особенно ядовитым для фотосинтеза считается сернистый газ, который лучше растворяется в воде, чем уголекислота.

На пигментную систему неблагоприятно действуют хлор, сернистый газ; аммиак уменьшает содержание каротина и ксантофилла, но мало влияет на хлорофиллы. Наиболее чувствительны к загрязнению воздуха ферменты фотосинтеза.

Интенсивность дыхания вначале повышается, а затем, по мере усиления повреждения и отсутствия поставки субстратов вследствие нарушения фотосинтеза, снижается. Инактивируется транспорт электронов и всех окислительно-восстановительных ферментов. Нарушается фосфорный обмен: содержание общего фосфора падает. Неблагоприятные сдвиги происходят во всем минеральном обмене. Поглощение анионов из воздуха сопровождается поступлением из почвы катионов калия, цинка, свинца, меди.

Усиливаются свободнорадикальные процессы, что особенно характерно для высокоактивного озона. В результате фотолиза озона образуются активные супероксид-анион-радикалы, которые вызывают фотоингибирование и могут повреждать белки и нуклеиновые кислоты, вызывать мутации, разрушать липиды в процессе ПОЛ. В результате действия озона на листья ухудшается регуляция устьиц, повреждаются мембраны тилакоидов хлоропластов, деградирует РБФ-карбоксилаза, ингибируется в целом фотосинтез. Свободные серосодержащие радикалы продуцирует также сернистый газ при участии супероксид-аниона.

Повреждения различают в зависимости от концентрации газов, и по степени усиления отмечают: скрытые, хронические, острые, катастрофические. Следует учитывать также, что при действии нескольких газов создается синергический эффект, т.е. они оказывают повреждения и при более низких концентрациях. Степень отравления газами зависит от различных метеофакторов: температуры, влажности воздуха и почвы, освещенности.

Косвенное влияние загрязнения приводит к уменьшению плодородия почвы, вызывая гибель полезной микрофлоры, отравление корневой системы, нарушение минерального питания. При понижении pH в результате кислотных дождей увеличивается подвижность токсичных металлов. До токсичных концентраций накапливаются, например, кальций, цинк, свинец, медь.

Очень сильно страдают от загрязнения хвойные породы: появляется суховершинность, уменьшается длина и увеличивается число хвоинок на побеге, происходит быстрая потеря хвои. У лиственных пород кислые газы вызывают уменьшение размеров и количества листьев, индуцируют появление черт ксероморфности.

Нарушение роста и развития растений под влиянием вредных газов и др. ксенобиотиков может снижать устойчивость и к другим неблагоприятным факторам среды: засухе, засолению, понижению температуры.

Различают *газочувствительные* и *газоустойчивые* растения. Чуткими индикаторами загазованности служат мхи и лишайники.

7. Механизмы газоустойчивости у растений

В зависимости от механизмов газоустойчивость классифицируется как биологическая, анатомо-морфологическая и физиолого-биохимическая (рис. 33).

Выделяют устойчивость пассивную, т.е. уход от воздействия с помощью, например, анатомо-морфологических приспособлений, и активную –

физиологическую способность мириться с поглощением газа или обезвреживать его.

Биологические механизмы устойчивости связаны с межродовым и межвидовым разнообразием. Например, крестоцветные более устойчивы, чем бобовые, из бобовых фасоль более устойчива, чем клевер, соя и т.д.

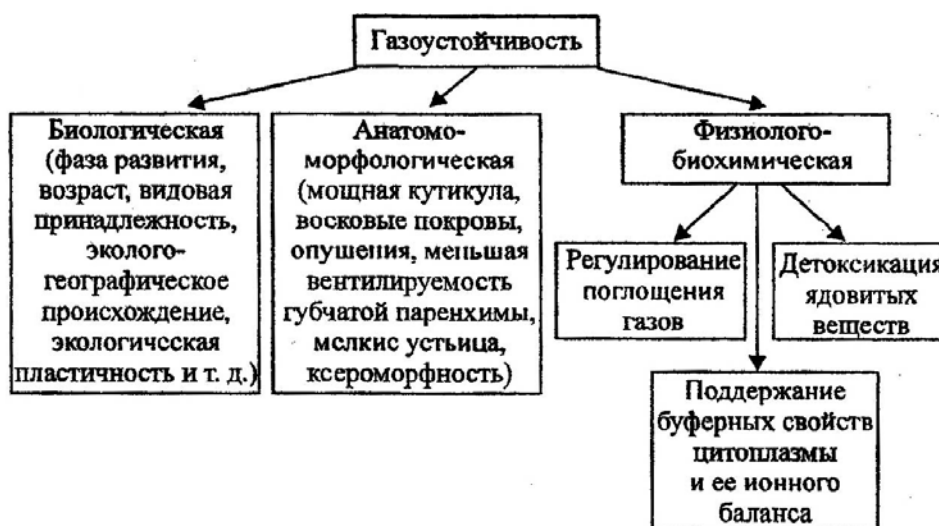


Рис. 33. Механизмы газоустойчивости растений (по Чирковой, 2002)

Древесные растения (вяз, жимолость, клен) менее устойчивы по отношению к хлору, фтору, закиси азота, чем травянистые. У цветковых повреждаемость листьев зависит даже от их положения на побеге. Эфемеры, отличающиеся интенсивным обменом веществ и коротким вегетативным периодом, относятся к неустойчивым. Виды с более длинным вегетативным периодом лучше переносят условия загазованности. Культурным растениям свойственна большая чувствительность к загрязнению атмосферы по сравнению с дикими видами. Газоустойчивость зависит и от фазы развития, интенсивности роста, возраста растений, положения видов в эволюционной системе, от их эколого-географического происхождения и экологической пластичности.

Анатомо-морфологические признаки, способствующие повышению газоустойчивости – это мощная кутикула, дополнительные восковые покровы,

опушение, меньшая вентелируемость губчатой паренхимы, черты ксероморфности, в частности мелкие устьица. Восковой налет на листьях создает водоотталкивающее покрытие, и грязь легко смывается водой. Восковой налет закрывает также устьичные щели, что повышает устойчивость к загазованности. У C_4 -растений клетки обкладки проводящих пучков создают барьер, препятствующий воздействию сернистого газа на загрузку флоэмы ассимилятами.

Физиолого-биохимические приспособительные механизмы включают регулирование поступления газов, поддержание буферности цитоплазмы и ее ионного баланса, детоксикацию образующихся ядов. Регуляция поглощения газов определяется прежде всего чувствительностью устьиц. Под влиянием газов (особенно сернистого) устойчивые растения сами закрывают устьица. Например, у растений приспособленных видов при повышении концентрации газов степень открытости устьиц уменьшается на 40%, у неприспособленных только на 11%.

Поддержание ионного баланса и буферных свойств цитоплазмы может быть связано с уровнем в клетках катионов, способных нейтрализовать ангидриды кислот. Обычно растения, устойчивые к засухе, засолению и т.д. имеют более высокую газоустойчивость, возможно благодаря способности регулировать водный режим и ионный состав. На это указывает усиление под влиянием сернистого газа признаков ксероморфности листьев, а под действием хлора признаков суккулентности.

Детоксикация газообразных ядов происходит в результате усиления фитонцидных выделений растений (эфирных масел), обладающих антисептическими свойствами. Это характерно, в частности, для некоторых видов устойчивых к сернистому газу древесных растений. Детоксикация газов может быть результатом и их химического преобразования. Так, в клетках сернистый газ после растворения может дать бисульфит или сульфит. Последний токсичен для растений, но при низкой концентрации метаболизируется хлоропластами до нетоксичного сульфата. При низкой

концентрации эффективно обезвреживается и бисульфит, тогда сернистый газ может рассматриваться как источник серы для растений. Однако при повышенных концентрациях этого и других газов их повреждающее действие оказывается настолько сильным, что растения не могут обеспечить их детоксикацию.

Как обычно, выделяют устойчивость пассивную, т.е. уход от воздействия с помощью, например, анатомо-морфологических особенностей, и активную – физиологическую способность мириться с поглощением газа или обезвреживать его. Для устойчивых растений характерны: пониженная интенсивность газообмена, высокая скорость метаболизма органических соединений и их транспорта, большая летальная доза при накоплении сернистого газа в клетках и способность к восстановлению обмена веществ, высокая энергетическая пластичность. Приобретенная газоустойчивость может передаваться по наследству. Сопряженная устойчивость проявляется и для газоустойчивых видов: они отличаются большей устойчивостью к затемнению, засухе, засолению, радиации и т.д.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Барахтенова Л.А., Николаевский В.С. Влияние сернистого газа на фотосинтез растений. – Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1988. – 86 с.
2. Гунар Л.Э., Солнцев М.К., Ташиш В. Действие гербицидов группы сульфонилмочевины на термолюминесценцию листьев и хлоропластов бобов // Известия РАН, сер. Биология. – 1996. – Вып. 4. – С. 502.
3. Загрязнение воздуха и жизнь растений / Под ред. М. Трешоу. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1988. – 536 с.
4. Квеситадзе Г.И., Хатисашвили Г.А., Садуншвили Т.А., Евстигнеева З. Г. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях /Под ред. В.О. Попова. – М.: Наука, 2005. – 199 с.

5. Козюкина Ж.Т. Устойчивость растений к отрицательным факторам среды. Уч. пособ. по спецкурсу «Устойчивость растений». – Днепропетровск: ДГУ, 1980. – 104 с.
6. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учеб. для вузов. – М.: Высш. шк., 2005. – С. 615-713.
7. Мельников Н.Н. Волков А.И., Короткова О.А. Пестициды и окружающая среда. – М.: Химия, 1977. – 240 с.
8. Мельников Н.Н., Мельникова Г.М. Пестициды в современном мире // Соросов. образов. журн. – 1997. – № 4. – С. 33-37.
9. Николаевский В.С. Биологические основы газоустойчивости растений. – Новосибирск: Наука, 1979. – 280 с.
10. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2002. – 244 с.

Лекция 10. Влияние тяжелых металлов на растения и механизмы защиты

1. Общие представления о тяжелых металлах

Тяжелые металлы (ТМ) относятся к числу наиболее опасных химических загрязняющих веществ. Избыточное поступление металлов в экосистемы в результате антропогенного прессинга часто приводит к необратимым изменениям и нарушениям жизненно важных функций у большинства организмов. К ТМ условно относят химические элементы с атомной массой свыше 50, обладающие свойствами металлов и металлоидов. С химической точки зрения термин «тяжелые металлы» используется для элементов, имеющих плотность более 5 г/см³.

По классификации Реймерса, тяжелыми следует считать следующие металлы: Pb, Cu, Zn, Ni, Cd, Co, Sb (сурьма), Sn, Bi (висмут), Hg. В ряде работ к ним добавляют Pt, Ag, W, Fe, Au, Mn.

Не все ТМ представляют одинаковую опасность для растений: наиболее ядовитыми для высших растений являются Hg, Cu, Ni, Pb, Co, Cd, Ag, Bi и Sn. Обнаружено, что степень токсичности элемента различна для каждого типа эксперимента, но хорошо коррелирует с электроотрицательностью двухвалентных ионов, произведением растворимости сульфидов, устойчивостью хелатов и биологической доступностью.

2. Пути поступления ТМ в окружающую среду

Для ТМ характерно весьма неравномерное распределение в природных средах. При сравнительно невысоком естественном содержании ТМ в окружающей среде в районах рудных месторождений концентрации некоторых из них (Cu, Pb, Zn, Mo, Ni и др.) могут в сотни раз превышать фоновые значения. Кроме того, интенсивное развитие современной промышленности и сельского хозяйства неизбежно сопровождается искусственным возрастанием их содержания в окружающей среде.



Рис. 34. Основные источники поступления ТМ в окружающую среду
(по Титову с соавт., 2007)

Важно отметить, что ТМ относятся преимущественно к рассеянным химическим элементам, поэтому загрязнению ими подвергается не только почвенный покров, но и гидросфера и атмосфера. В силу этого повышение концентрации ТМ в окружающей среде носит глобальный характер.

Основные источники поступления ТМ в среду можно разделить на природные (естественные) и техногенные (рис. 34).

Причем нередко поступление таких металлов, как Zn, Cd, Pb, в окружающую среду, связанное с хозяйственной деятельностью человека, значительно превышает природное.

3. Аккумулятивные «стратегии» растений

Избыток ТМ в среде обитания, как правило, приводит к их повышенному накоплению растительными организмами, при этом величина и характер поглощения у разных видов растений имеет свою специфику.

- ✓ Виды, аккумулирующие элемент пропорционально его содержанию в среде, называются **«индикаторами»**;
- ✓ растения, накапливающие элемент даже при низком его количестве, называются **«аккумуляторами»**;
- ✓ растения, которые не реагируют повышением содержания элемента в тканях даже при его избытке в среде, называются **«исключителями»** (рис. 35).

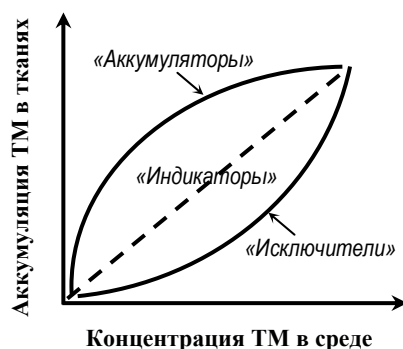


Рис. 35. Три различных «стратегии» поглощения ТМ у высших растений
(по Prasad, 1999)

Многие исследования выявили четкую зависимость между накоплением металла в тканях растения и его концентрацией в среде. Показано, что в течение первых часов (в некоторых случаях первых суток) накопление ТМ происходит наиболее интенсивно, затем скорость поглощения ионов снижается. Время достижения насыщения находится в обратной, а уровень насыщения – в прямой зависимости от концентрации металла в среде. Выявлено, что разные элементы при их одинаковой концентрации в среде могут поглощаться растениями с разной скоростью.

4. Распределение ТМ в клетках растений

Основным механизмом связывания металлов растениями является образование комплексов с функциональными группировками разных органических соединений: карбоксильными, амино- и иминогруппами, гидроксильными, сульфгидрильными и кетогруппами. Стабильность этих комплексов определяется рядом устойчивости хелатов Ирвинга-Вильямса: $Cd \sim Mn < Co < Zn \sim Ni < Cu < Pb < Hg$.

ТМ отличаются разной подвижностью в растениях. Так, например, медь имеет меньшую подвижность в растениях по сравнению с другими элементами. По данным Кабата-Пендиас и Пендиас, часть ионов Cu^{2+} может связываться с клеточными стенками, однако заметная доля меди, присутствующей в клетках растений, находится в комплексе с низкомолекулярными органическими веществами и белками.

С другой стороны, такие металлы, как цинк и никель, отличаются высокой подвижностью в растениях. В литературе есть сведения, что максимальное количество Zn^{2+} присутствует в надосадочной жидкости, остающейся после осаждения клеточных структур. Имеются данные, что цинк

может в больших количествах связываться с компонентами клеточных стенок, а также с органическими кислотами – малатом и оксалатом. Никель также способен формировать прочные комплексы с органическими кислотами и белками. Серегин и др. обнаружили, что Ni^{2+} главным образом передвигается по протопласту и для него не существует таких физиологических барьеров, как эндодерма на тканевом и плазмолемма на клеточном уровне.

Эксперименты, проведенные Золотухиной и Гавриленко (1990) на морских водорослях и пресноводном мхе, показали, что Cd^{2+} в основном аккумулируется в полисахаридах и цитоплазматической фракции на растворимых и связанных с мембранами белках. У мха Cd^{2+} большей частью находился в растворимых белках, в то время как у водорослей – в мембранно-связанных.

Нами были выявлены некоторые различия в связывании Cu^{2+} , Cd^{2+} и Ni^{2+} клеточными фракциями. Обнаружено, что в детоксикации Cu^{2+} важную роль выполняли как белковые, так и небелковые фракции. Связывание Ni^{2+} происходило преимущественно в белках, тогда как Cd^{2+} – в небелковых фракциях, полимерной и растворимой.

Были также отмечены различия среди двух экологических групп гидрофитов по распределению ТМ в небелковых фракциях. Независимо от концентрации ионов в среде доля в небелковой полимерной фракции, в основном представленной полисахаридами, у плейстофитов была значительно выше, чем у гидатофитов. Вероятно, особенности анатомического строения листьев плавающих растений, имеющих больше механических тканей и целлюлозных элементов, чем погруженные, позволяют эффективнее связывать ТМ на поверхности клеточных стенок и мембран.

5. Токсичность ТМ для растительных организмов

Известно, что для нормальной жизнедеятельности высших растений многие металлы в определенных количествах просто необходимы. Ряд ТМ, в

том числе медь, цинк и никель, являются кофакторами ферментов широкого круга биохимических реакций или входят в состав биологических комплексов (например, медь находится в цитохромоксидазном комплексе дыхательной цепи митохондрий).

В то же время аккумуляция растениями ТМ выше определенной величины (предельно допустимой концентрации) практически всегда отрицательно сказывается на состоянии внутренних систем организма.

В большинстве случаев уровень токсичности ТМ оценивается по выживаемости и скорости роста растений. Значительно меньше внимание в исследованиях уделяется изучению состояния физиолого-биохимических процессов в клетке, например, функции фотосинтеза или дыхания.

Имеются сведения, что у высших растений и водорослей системы фотосинтеза, дыхания, синтеза пигментов и белков наиболее подвержены действию ТМ. Степень угнетения процессов зависит от природы элемента и его токсичности. Снижение интенсивности фотосинтеза под действием токсичных концентраций ТМ, по мнению некоторых авторов, может быть связано с нарушением ультраструктуры хлоропластов, подавлением синтеза хлорофилла, пластохинона и каротиноидов, нарушением транспорта электронов, ингибированием ферментов цикла Кальвина и недостатком CO_2 вследствие закрывания устьиц.

На клетках водорослей обнаружено, что повышенные концентрации никеля приводят почти к полному ингибированию синтеза хлорофилла за счет подавления активности фермента, участвующего в образовании ключевого предшественника хлорофилла – 5-аминолевулиновой кислоты – АЛК-дегидратазы. Кроме того, в присутствии ионов Ni^{2+} происходит почти полная деградация уже синтезированного хлорофилла.

Исследования влияния повышенных концентраций ионов Zn^{2+} и Cu^{2+} на содержание фотосинтетических пигментов, выделение и поглощение CO_2 у морских макрофитов, показали, что основной причиной подавления фотосинтеза является разобщение цепи переноса электронов и окислительного

фосфорилирования в результате нарушения функционирования ферментных комплексов, в частности металлосодержащих компонентов ЭТЦ дыхания. Влияние меди и цинка на интенсивность фотосинтеза водорослей выражено значительно сильнее, чем на дыхание. При этом хлорофиллы разрушаются, а количество каротиноидов возрастает.

Среди ТМ медь является одним из наиболее фитотоксичных агентов, ингибирующих фотосинтез. Известно, что Cu^{2+} в хлоропластах блокирует транспорт электронов на разных участках ЭТЦ. Избыток меди подавляет активность РБФ-карбоксилазы/оксигеназы, снижая карбоксилазную и повышая оксигеназную активность фермента. На хлорелле показано, что медь в диапазоне концентраций 0.005 – 0.1 мг/л на свету вызывает фотоингибирование ФС II. В темноте снижение активности ФС II отмечено при концентрации Cu^{2+} более 0.5 мг/л. Причиной снижения активности ФС II в присутствии ионов меди является замедление репарационных процессов, связанных с синтезом D₁-белка ФС II.

Кадмий обычно менее ядовит для растений, чем медь, и сопоставим по токсичности со свинцом, никелем и хромом. В связи с широким использованием кадмия во многих отраслях промышленности увеличилось поступление этого элемента в окружающую среду, в том числе и водную. Кадмий не относится к числу жизненно необходимых организму элементов. Его биологическая роль изучена недостаточно. В литературе имеются весьма противоречивые сведения о токсичности этого металла.

В зависимости от формы нахождения и условий опыта приостановка роста и фотосинтеза происходит обычно при содержании кадмия 0.02-1.0 мг/л. Однако хронические эффекты наблюдались и при низких концентрациях – порядка 0.001 мг/л.

Токсичность кадмия может быть объяснена его способностью замещать цинк, связанный с протеинами. Соответственно добавление цинка в среду заметно понижает повреждение клеток. В то же время кадмий может ингибировать токсичность меди. Кадмий в количестве 0.01-0.1 мг/л понижает

концентрацию АТФ и хлорофилла у многих видов и уменьшает продукцию кислорода.

Кадмий оказывает сильное влияние на световую фазу фотосинтеза. При низких концентрациях этого металла ФС II повреждается в большей степени по сравнению с ФС I. Кроме того, высокие концентрации Cd^{2+} ингибируют активность ФЕП-карбоксилазы и карбоангидразы.

В различных условиях никель менее токсичен для растений, нежели ртуть, медь, кадмий, но более токсичен, чем свинец и цинк. Как правило, существенное снижение интенсивности фотосинтеза и темпов роста растений отмечается при содержаниях 0.1-0.5 мг/л. Чувствительность к воздействию никеля во многом зависит от вида растения.

При совместном влиянии никеля и ртути, никеля и меди на многие виды растений отмечается синергизм, а при совместном действии никеля и кадмия, никеля и цинка – антагонизм.

Никель, являясь рассеянным элементом, широко распространен в биосфере, содержится в почвах, водоемах, живых организмах. Увеличение концентрации этого элемента в результате биогеохимических и техногенных процессов делает его потенциально опасным для человека. По некоторым данным никель обладает канцерогенным и мутагенным действием. Это усугубляется малоэффективным удалением никеля из промышленных стоков. Высокие концентрации никеля токсичны для высших растений и водорослей, а низкие стимулируют активность гидрогеназ и уреазы.

Особая опасность никеля для растений заключается в том, что он почти не выводится из организма в течение длительного времени, прочно связываясь с внутренними структурами клеток. Длительное нахождение никеля в организме может привести к неблагоприятным биологическим последствиям (задержка роста, повышенная смертность, аномалии).

Ингибирующее действие ТМ на ферментативный аппарат клетки – хорошо установленный факт. Основным механизмом повреждения считается инактивация ферментативных систем в результате связывания amino- и

сульфгидрильных групп белков. Это приводит к изменению конформации белков и потери активности многих ферментов. Другим подавляющим механизмом служит замещение близкого иона, например, никель, цинк и медь могут замещать ион Mg^{2+} в молекуле РБФ-карбоксилазы/оксигеназы, что приводит к инактивации последней.

Нарушения клеточных функций в клетке и повреждения биомолекул часто обусловлены сильным окислительным стрессом. Обнаружено, что многие ТМ способствуют образованию активных форм кислорода (АФК) с помощью индукции липоксигеназы или посредством участия в других химических реакциях.

Такие металлы, как Cu, Fe, Mn, Co, обладающие переменной валентностью, могут непосредственно участвовать в создании высокотоксичных гидроксильных радикалов в реакциях Фентона и Хабер-Вейса. Кроме того, редокс-активные металлы участвуют в реакциях окисления органических молекул, активируя цепные реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ), что приводит к повреждению клеточных мембран.

Литературные данные свидетельствуют о том, что металлы с постоянной валентностью напрямую не могут вызывать образование АФК, но способны привести к окислительному стрессу из-за нарушений путей метаболизма и/или повреждения ферментов-антиоксидантов, истощения пула антиокислительных соединений, например, восстановленного глутатиона.

В нормальных условиях жизни растений образование АФК и ПОЛ – обычные метаболические процессы. Патологические последствия возникают при чрезмерном накоплении кислородных радикалов, пероксидов и их производных в результате различных биотических и абиотических стрессовых факторов, в том числе и под действием ТМ.

6. Основные механизмы защиты растений от действия ТМ

В литературе описаны различные механизмы защиты растений от вредного влияния избытка тяжелых металлов.

Так, Кабата-Пендиас и Пендиас (1989) выделяют несколько аспектов в механизмах защиты. Это внешние факторы: низкая растворимость и низкая подвижность катионов в окружающей среде, антагонистическое действие металлов; и внутренние факторы, основанные на комплексе механизмов защиты метаболического порядка:

- селективное поглощение ионов, пониженная проницаемость мембран или другие различия в их структуре и функциях;

- иммобилизация металлов в корнях, листьях, семенах, удаление ионов из метаболических процессов путем отложения (образования запасов) в фиксированных или нерастворимых формах в различных органах и органеллах;

- изменение характера метаболизма – усиление действия ферментативных систем, которые подвергаются ингибированию, возрастание содержания антагонистических метаболитов или восстановление метаболических цепей за счет пропуска ингибированной позиции;

- удаление ТМ из растений при вымывании через листья, соковыделение, сбрасывание листьев и выделение через корни.

Серегин и Иванов (2001) выделяют шесть внутриклеточных систем защиты, направленных на поддержание гомеостаза:

- активация «ферментов стресса», ответственных за нейтрализацию свободных радикалов и пероксидов (каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутаза и др.);

- суперпродукция осмолитов в ответ на металл индуцированный водный стресс (пролина и др.);

- изменение физико-химических свойств клеточных оболочек (отложение каллозы и суберина);

- синтез полиаминов (путресцина);

- изменение гормонального баланса (прежде всего этилена и абсцизовой кислоты);

- синтез металлсвязывающих соединений и стрессовых белков (глутатиона, металлотионеинов, фитохелатинов и др.).

По мнению большинства авторов, все механизмы защиты действуют соответственно двум стратегиям выживания организмов при стрессовых воздействиях: или не допустить действие фактора, или обезвредить его. Так, Евсеева и др. выделяют две группы механизмов:

- ограничение поступления металлов в растение и цитозоль;
- изменения метаболизма клеток, направленные на снижение токсического действия металлов и их выведение из организма растений.

Наиболее четко основные механизмы защиты высших растений представлены схемой, предложенной Чирковой (рис. 36).



Рис. 36. Механизмы устойчивости к ТМ (по Чирковой, 2002)

Один из путей, обеспечивающих устойчивость к ТМ, состоит в предотвращении поступления металла в клетку. Это достигается иммобилизацией ионов в клеточной стенке, ограничением транспорта ионов через плазмалемму вследствие изменения свойств ее трансфераз, а также с помощью лигандов, хелатирующих металлы, которые выделяются из клетки в окружающую среду. Такими лигандами могут быть органические кислоты, сахара, фенолы и пептиды. Осаждение ТМ может происходить на поверхности

корня, например, у растений, устойчивых к свинцу, меди, алюминию. Усиление эффективности хотя бы одного из этих механизмов может привести к повышению устойчивости растений к ТМ.

При неэффективной работе указанных механизмов невозможно избежать попадания в клетку ТМ, тогда включаются внутриклеточные способы формирования металлоторантности. Это механизмы детоксикации, или активного выделения металлов, и те способы, которые позволяют клетке нормально функционировать в присутствии избытка ионов или быстро восстанавливать повреждения, вызванные ими. К первой группе относится образование физиологически неактивных форм металлов – органических комплексов или нерастворимых органических соединений.

Например, эффективным механизмом детоксикации большинства ионов металлов является связывание их органическими кислотами с последующим выводом образовавшихся комплексов в вакуоль. Некоторые виды растений (например, *Thlaspi arvense*) обладают ограниченной способностью выводить ионы металлов в тонопласт, а потому накапливают металлы в виде малоподвижных соединений непосредственно в цитоплазме. Аккумуляция в вакуолях – наиболее эффективный механизм детоксикации для устойчивых к ТМ организмов.

В зависимости от того, является ли синтез связывающих ТМ соединений индуцируемым, или они образуются в клетке конститутивно, можно говорить соответственно о специфичности и неспецифичности процесса детоксикации. Из всех механизмов защиты, направленных на поддержание гомеостаза в клетке, наиболее специфическим для действия ТМ является синтез металлсвязывающих соединений, обогащенных тиоловыми (-SH) группами – металлотионеинов и фитохелатинов.

Интенсивное изучение металлотионеинов (MT) проводится с начала восьмидесятых годов. Было установлено, что они имеют низкую молекулярную массу (до 10 кД), высокое содержание цистеина (около 30%), сходные УФ-спектр и термоустойчивость.

МТ разделяют на три класса с учетом химической структуры молекул.

Первый класс (MT1) – металлсвязывающие белки позвоночных. В металлсвязывающем домене молекула МТ1 содержит 20 остатков цистеина, расположение которых очень постоянно для этого класса.

Второй класс (MT2) – полипептиды, сходные по строению с МТ1, но не имеющие столь консервативного положения остатков цистеина. Они распространены у беспозвоночных животных, высших растений, грибов, цианобактерий и некоторых других прокариот, морских водорослей и дрожжей.

Особенностью металлотионеинов растений, относящихся ко второму классу, является наличие большого промежутка, длиной около 40 аминокислотных остатков, в том числе ароматических, разделяющего два металлсвязывающих домена. Длина такого промежутка у остальных МТ составляет менее 10 аминокислотных остатков и не содержит ароматических аминокислот.

Металлсвязывающие белки синтезируются в норме в незначительном количестве. Их содержание в клетке резко возрастает при действии металлов и снижается в случае уменьшения их концентрации в питательном субстрате. Повышенные концентрации ТМ в среде стимулируют не только синтез МТ, но и связывание этими белками большей части поступивших в клетку ионов металлов. С этой точки зрения можно говорить о специфичности механизма детоксикации ТМ металлотионеинами. В настоящее время выделено три типа МТ-подобных генов растений, продукты которых различаются по расположению остатков цистеина. Геном одного растения может содержать несколько таких генов, кодирующих разные белки.

Ионы ТМ стимулируют синтез МТ не в одинаковой мере. Такие элементы, как Са, Al, Na, Mg, не индуцируют образования металлотионеинов. Синтез МТ преимущественно индуцируют Cd, Zn, Cu, Hg, Au, Ag, Co, Ni, Pb.

Большой интерес представляет группа **металлотионеинов третьего класса – фитохелатинов (ФХ)**. Фитохелатины – это простые γ -глутамил пептиды, содержащие глутамат, цистеин, глицин $[(\gamma\text{-Глу-Цис})_n\text{-Гли}]$ в

отношении 2:2:1 или 11:11:1, где $n=2-11$. Они связывают свободные металлы подобно МТ, благодаря высокому содержанию цистеина и его конфигурации. Пептиды синтезируются из восстановленного глутатиона в присутствии ТМ ферментом фитохелатинсинтазой (γ -глутамил-цистеиндипептидил-транспептидазой). Этот фермент обязательно находится в клетках высших растений.

Наличие γ -Глу связи в этих пептидах свидетельствует о том, что они, в отличие от МТ первого и второго класса, не являются первичными генными продуктами, то есть не синтезируются через мРНК.

Известно пять семейств фитохелатинов, различающихся по аминокислотному остатку на С-конце полипептида. Некоторые из них, вероятно, свойственны отдельным семействам покрытосеменных растений. Так, например, гомофитохелатины (с С-терминальным аланином) обнаружены главным образом у бобовых, а оксиметилфитохелатины (с С-терминальным серином) – у злаков.

Кроме того, выделены безглициновые пептиды из культуры клеток высшего растения *Rubia tinctorum*. Присутствие безглициновых пептидов, по мнению Kubota и др. (2000), представляет интерес для понимания путей синтеза фитохелатинов.

Kneer и Zenk (1992) продемонстрировали участие ФХ в детоксикации ТМ. Доказательством послужил тот факт, что остановка синтеза фитохелатинов обработкой растений или культур клеток бутионинсульфоксимином, ингибитором ферментов биосинтеза глутатиона, увеличило их чувствительность к металлам.

Широкий ряд металлов индуцирует продукцию фитохелатинов. Образование ФХ наблюдали в присутствии Zn^{2+} , Pb^{2+} (1 мМ); Cd^{2+} , Ni^{2+} , Sn^{2+} , SeO_3^{2-} , Bi^{3+} (100 мкМ); Ag^+ , Cu^{2+} , Au^+ (50 мкМ); AsO_4^{3-} (20 мкМ); Sb^{3+} , Te^{4+} (10 мкМ). Такие ионы, как Al^{3+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cr^{2+} , Cs^+ , K^+ , Mg^{2+} , Na^+ и V^{2+} не вызывали синтез фитохелатинов. Наибольшим сродством ФХ обладают к кадмию, что определяет их важную роль в его детоксикации.

Высшие растения способны синтезировать металлотионеины и фитохелатины. Так, например, в растениях перца (*Capsicum annuum*) под действием повышенных концентраций кадмия происходит синтез двух низкомолекулярных пептидов (10 кД), отличающихся по аминокислотному составу и отсутствующих в контроле. Из клеток цианобактерий, инкубированных с высокими концентрациями ванадия, Саваниной и др. (1995) выделен ванадий-тионеин, белок с молекулярной массой около 10 кД, связывающий 80% поглощенного металла. Kaplan и др. (1995) на хлорелле обнаружено, что ионы Cd^{2+} вызывают синтез низкомолекулярных пептидов, идентифицированных как фитохелатины.

В настоящее время известно, что высшие растения отвечают на обработку ТМ синтезом не только металлотионеинов и фитохелатинов, но и так называемых белков теплового шока (БТШ). Эти белки имеют функции, которые полностью отличаются от таковых у МТ или ФХ. Некоторые из этих белков, как полагают, действуют, поддерживая основной обмен веществ клетки, другие защищают клеточные компоненты от вредных воздействий, укрепляя стенку клетки, чтобы усилить защитный барьер.

У растений наиболее изучен БТШ70 – белок с молекулярной массой 70 кД, имеющий в последовательности аминокислот ряд консервативных участков. Считается, что БТШ70 связывается с диссоциированными или денатурированными белками, которые образуются во время теплового шока или стресса, вызванного влиянием токсичных ионов ТМ. БТШ70 облегчает образование *de novo* складчатых слоев различных белков или пересборку этих слоев во время стресса. Этот белок обнаруживается во всех компартментах клетки – цитоплазме, в связи с элементами цитоскелета или клеточной мембраны, в митохондриях, хлоропластах и эндоплазматической сети.

Другим механизмом защиты от ТМ может служить увеличение количества доступных для реагирования SH-групп на внутренней стороне плазмалеммы при параллельном уменьшении их на поверхности клетки.

Имеются сведения, что железосодержащие белки – ферритины проявляют способность к связыванию двухвалентных ионов металлов – цинка, меди, кадмия, свинца и др. Существует предположение, что ферритины служат инициаторами хелатирования металлов, проникших в растительную клетку, а металлотионеины при высоких концентрациях этих ионов синтезируются во вторую очередь.

В ответ на окислительный стресс, вызванный повышенным количеством АФК под действием избытка ТМ, в растениях индуцируется мощная система антиоксидантной защиты (АОС). АОС состоит из низкомолекулярных антиоксидантов и ферментов-антиоксидантов. К первым относятся аскорбиновая кислота, глутатион, полифенолы, каротиноиды, однако основную роль в снижении уровня АФК играют ферментные АОС – супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатионредуктаза (ГР) и др. Многие исследователи к АОС относят также металлсвязывающие SH-содержащие белки (металлотионеины, БТШ и др.), которые нейтрализуют не только избыток ТМ, но и токсичные формы кислорода.

В наших опытах на гидрофитах в ответ на токсическое действие металлов уже в первые часы экспозиции обнаружено значительное возрастание небелковых тиолов и повышение активности важнейших ферментов-антиоксидантов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионредуктаза). Максимальное включение опытных ионов в металлсвязывающие SH-белки наблюдали при более длительных экспозициях; этот механизм оказался более устойчивым к повышенным концентрациям ТМ.

К внутриклеточным механизмам металлоустойчивости относят также синтез ферментов, слабо чувствительных к металлам, и активацию альтернативных путей метаболизма.

Однако, по мнению многих ученых, ни один из указанных механизмов защиты не является универсальным. Они взаимно дополняют друг друга в зависимости от вида растения, условий его выращивания, типа металла, который находится в избытке.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Гуральчук Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиол. и биохим. культ. раст. – 1994. – Т. 26. – № 2. – С. 107-117.
2. Золотухина Е.Ю., Гавриленко Е.Е., Бурдин К.С. Влияние ионов цинка и меди на фотосинтез и дыхание морских макроводорослей // Физиол. раст. – 1987. – Т. 34. – № 2. – С.266-275.
3. Золотухина Е.Ю., Гавриленко Е.Е. Тяжелые металлы в водных растениях. Аккумуляция и токсичность // Биологич. науки. – 1989. – № 9. – С. 93-106.
4. Золотухина Е.Ю., Гавриленко Е.Е. Связывание меди, кадмия, железа, цинка и марганца в белках водных макрофитов // Физиол. раст. – 1990. – Т. 37. Вып. 4. – С. 651-558.
5. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. – М.: Мир, 1989. – 439 с.
6. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учеб. для вузов. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.
7. Малёва М.Г. Физиологические аспекты токсического действия Cu^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} на листья высших водных растений. Кандид. диссерт.– Казань: КИББ НЦ РАН, 2006.
8. Саванина Я.В., Адани А.Г., Лебедева А.Ф. и др. Образование ванадий-тионеина клетками *Anacystis nidulans* при высоких концентраций металла // Вестн. Моск. ун-та. – 1995. Сер. 16: Биология. – № 1. – С. 38-45.
9. Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиол. раст. – 2001. – Т. 48. № 4. – С. 606-630.
10. Серегин И.В. Фитохелатины и их роль в детоксикации кадмия у высших растений // Успехи биол. хим. – 2001. – Т. 41. – С. 283-300.
11. Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Распределение кадмия, свинца, никеля и стронция в набухающих зерновках кукурузы // Физиол. раст. – 2005. –

Т. 52. – № 4. – С. 635-640.

12. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам / Отв. ред. Н.Н. Немова; Институт биологии КарНЦ РАН. – Петрозаводск: Карельский науч. центр РАН, 2007. – 172 с.

13. Чернавская Н.М., Кожанова О.Н., Дмитриева А.Г. и др. Физиология растительных организмов и роль металлов / Под ред. Н.М. Чернавской. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 157 с.

14. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2002. – 244 с.

15. Cobbett C., Goldsbrough P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis // Annu. Rev. Plant Biol. – 2002. – V. 53. – P. 159-182.

16. Hall J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance // J. Exper. Bot. 2002. – V. 53. – № 366. – P. 1-11.

17. Kaplan D., Heimer Y.M., Abeliovich A., Goldsbrough P.B. Cadmium toxicity and resistance in *Chlorella* sp. // Plant Sci. – 1995. – V. 109. – P. 129–137.

18. Kneer R., Zenk M.H. Phytochelatins protect plant enzymes from heavy metal poisoning // Phytochem. – 1992. – V. 31. – P. 2663-2667.

19. Kubota H., Sato K., Yamada T., Maitani T. Phytochelatin homologs induced in hairy roots of horseradish // Phytochem. – 2000. – V. 53. – P. 239-245.

20. Prasad M.N.V., Hagemeyer J. Heavy metal stress in plants. From molecules to Ecosystems. – Germany, Springer, 1999. – 401 p.

Лекция 15. Технологии фиторемедиации

1. Определение понятия «фиторемедиация»

Фиторемедиация – (от греч. «*фитон*» – растение и лат. «*ремедиум*» – восстанавливать) – технология очистки окружающей среды с помощью

растений и ассоциированных с ними микроорганизмов. Фиторемедиация является высокоэффективной технологией очистки от ряда органических и неорганических загрязнителей.

Фиторемедиацию можно использовать для очистки твердых, жидких и воздушных субстратов. Фиторемедиация загрязненных почв и осадочных пород уже применяется для очистки военных полигонов (от тяжелых металлов, органических загрязнителей), сельскохозяйственных угодий (пестициды, металлы, селен), промышленных зон (органика, металлы, мышьяк), мест деревообработки (ПХБ). Фиторемедиации могут быть подвергнуты загрязненные водные источники: городские сточные воды (органические загрязнители, металлы), сточные воды сельского хозяйства (удобрения, металлы, пестициды, бор, селен, мышьяк) и промышленности (металлы, селен), грунтовые воды (органические загрязнители, металлы). Растения также могут быть использованы для очистки воздуха, как в помещениях, так и вне их; например, от оксидов азота, серы и углерода, озона, нервно-паралитических газов, пыли, копоти, летучих галогенированных углеводородов.

Впервые термин «фиторемедиация» использовал американский ученый Раскин в 1994 г. По его словам, началом фиторемедиации можно считать те времена, когда человек начал осушать болота, применяя целенаправленную рассадку деревьев, обладающих требуемыми характеристиками. Особенно эффективными следует считать фиторемедиационные технологии при оздоровлении почв на больших площадях, когда из почвы происходит постепенное удаление токсичных соединений путем их усвоения как растениями, так и микроорганизмами и при этом не нарушается структура почвы и даже состав ризосферных микроорганизмов остается неизменным.

Тяжелые металлы (ТМ) и радионуклиды, в силу их цитотоксичного, мутагенного, канцерогенного действия, считают главными загрязнителями окружающей среды. Восстановление окружающей среды при помощи растений вызывает широкий интерес в развитых и развивающихся странах благодаря возможностям, которые открывает эта технология в деле очистки загрязненных

территорий. Благодаря возможности использовать эту технологию в реальных экосистемах, она приобретает все большее практическое значение (рис. 37).



Рис. 37. Проекты, связанные с очисткой среды от токсичных веществ с помощью растений, указано число проектов по каждому разделу и доля от общего финансирования в 2001 г. в США (по Прасаду, 2003)

За последние десять лет фиторемедиация приобрела большую популярность, что отчасти связано с ее низкой стоимостью. Т.к. в процессе фиторемедиации используется только энергия солнца, данная технология на порядок дешевле методов основанных на применении техники (таких как экскавация, промывка и сжигание почвы). То, что данная технология применяется прямо в районе загрязнения (*in situ*) способствует снижению затрат и уменьшению контакта загрязненного субстрата с людьми и окружающей средой.

Выбор растений для этой технологии определяется их способностью выносить на поверхность почвенные воды за счет эвапотранспирации, расщеплять загрязняющие соединения при помощи своих ферментов и накапливать эти соединения в биомассе, равно как скоростью роста, накоплением биомассы и глубиной корневой системы.

Обычно для очистки воды и мелиорации почвы *in situ* и *ex situ* используют:

- (а) поверхностную или глубокую промывку почвы;
- (б) пневматическое дробление;
- (в) отверждение/стабилизацию;
- (г) стеклование;
- (д) электрокинетические методы;
- (е) химическое восстановление или окисление;
- (ж) удаление загрязненной почвы и сбор ее на специальных площадях.

Все эти технологии являются дорогостоящими и часто приводят к накоплению вторичных загрязнителей. По сравнению с существующими физическими и химическими методами мелиорации почвы, очистка при помощи растений экономичнее и наносит меньший ущерб окружающей среде. В зависимости от почвенных условий и концентрации токсикантов, стоимость очистки при помощи растений (использующих только энергию солнца) может составлять всего 5% затрат, необходимых для других способов восстановления загрязненных экосистем.

2. Современные технологии фиторемедиации

Современные фиторемедиационные технологии могут основываться на разных методологических подходах в зависимости от того, какая ставится задача. Природа токсиканта, его концентрация, сам объект, нуждающийся в ремедиации (участок почвы, водохранилище, земельный участок близ химического завода, бывший военный полигон и др.) определяют форму и разнообразие возможных фиторемедиационных технологий. Современные фиторемедиационные технологии располагают следующими инструментами:

- ✓ Фитоэкстракция
- ✓ Ризофильтрация
- ✓ Ризодеградация

- ✓ Фитодегградация
- ✓ Фитоволотализация
- ✓ Гидравлический контроль
- ✓ Фитостабилизация

Прежде чем использовать ту или иную технологию, следует провести тщательный анализ объекта, подлежащего ремедиации, установить тип токсичного соединения, обнаруженного на объекте, его концентрацию, глубину проникновения токсиканта в почву, тип почвы, предполагаемое количество осадков в период фиторемедиации, наличие грунтовых вод, глубину, на которой они находятся, и т.д. После этого выбирается метод фиторемедиации, включая селективный отбор растений и микроорганизмов, требуемых для каждой конкретной технологии.

Фитоэкстракция

Эта фиторемедиационная технология обычно используется для очистки почв и водоемов, зараженных ТМ и радионуклидами. Технологическая особенность фитоэкстракции заключается в следующем: корневой системой растений вместе с питательными веществами поглощаются как неорганические, так и органические токсиканты и осуществляется их последующая транслокация в надземные органы растений. По завершению фазы роста и транслокационных процессов надземные органы растений удаляются и подлежат соответствующей переработке (рис. 38).

Растения следует экспериментально отбирать, исходя из фиторемедиационных характеристик самих растений и почвенно-климатических особенностей участка почвы, подлежащего восстановлению. Особенно эффективной эта технология оказалась при очистке почв парников, удалении из почв седиментов (в том числе и нерастворимых осадков), удалении токсичных соединений из глинистых почв, очистке водоемов небольших размеров.

После такой обработки зараженного объекта биомасса растений может быть использована как источник для выделения ТМ. С этой целью растения сжигают и из золы восстанавливают ТМ.

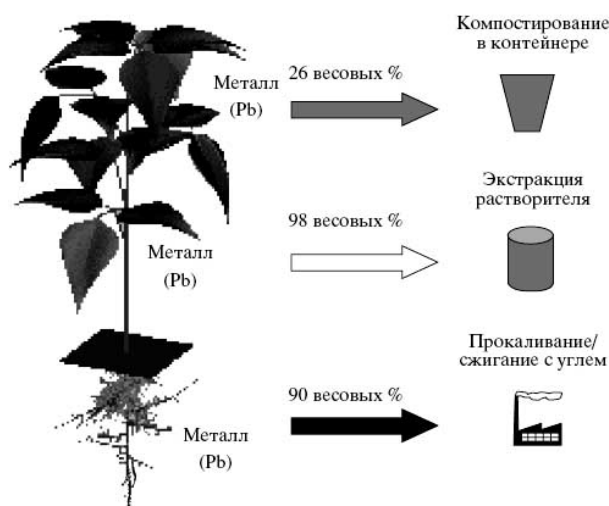


Рис. 38. Фитоэкстракция металлов (на примере свинца) при помощи растений из почвы (по Прасаду, 2003)

Например, для концентрирования свинца используют сжигание растительной биомассы с углем или компостирование. Часть убранной биомассы сжигают с углем в топке тепловой электростанции, другую часть компостируют в контейнерах, а третью экстрагируют раствором хелатирующего агента. Сжигание с углем привело к накоплению Pb в виде мелких частичек золы, что уменьшило степень загрязнения растительного материала на 90%, компостирование – на 26%, а две последовательных экстракции удаляли 98% свинца.

В полевых условиях с одного гектара площади растения могут удалять в год от 180 и до более чем 500 кг ртути. Эффективность фитоэкстракции для каждого конкретного случая должна определяться на основе полученных данных. Так, например, она может быть оценена и по следующему показателю: если в зараженной почве концентрация ртути в среднем составляет 2500 мг/кг

почвы, то с использованием такой технологии, как Фитоэкстракция, полная ремедиация почвы может быть достигнута за 10 лет. Естественно, биомасса растений, содержащая повышенную концентрацию ртути, должна быть соответствующим образом переработана. Если выделение металлов из золы обходится дороже их себестоимости, то в таком случае биомассу растений сжигают или в зависимости от содержания токсиканта используют для компоста.

Эффективность растений, используемых в фитоэкстракции, определяется так называемым коэффициентом фитоэкстракции (биологического накопления), который представляет собой отношение концентрации металлов в растении к концентрации металлов в почве. При очистке вод применяется также коэффициент биоаккумуляции, который равен отношению концентрации металлов в растении к концентрации металлов в загрязненной воде, в которой выращивалось растение. По этим коэффициентам, показывающим способность накапливать металлы в биомассе, осуществляется селекция видов для фитоэкстракции. Уже определены растения-гипераккумуляторы ТМ: сарепская горчица, люцерна, подсолнечник, сорго, ряд травянистых растений и некоторые зерновые культуры.

Как технологический прием фитоэкстракцию делят на два разных метода – *индуцированную* и *непрерывную*. Первый метод предполагает применение специфических хелатирующих агентов, образующих растворимые комплексы с ТМ. Например, в качестве хелаторов служат ЭДТА (для свинца), ЭГТА (для кадмия), цитрат (для урана) и др. В комплексном виде металл быстро усваивается и легко транспортируется в надземные органы растений. Непрерывная Фитоэкстракция более долгосрочна и ее основой является применение растений-гипераккумуляторов.

Следует отметить, что индуцированная фитоэкстракция является более развитым технологическим приемом и, с коммерческой точки зрения, более популярна. В свою очередь непрерывная Фитоэкстракция успешно используется в случаях заражения почвы такими металлами, как ртуть, цинк,

мышьяк, кадмий, никель, хром. Известно, что такие культуры, как подсолнечник и кукуруза, могут быть использованы для удаления из почвы ртути. Как было установлено, растения, характеризующиеся гипераккумулятивными способностями в отношении токсичных металлов, наделены специфическими механизмами, позволяющими им внутри клетки в больших количествах накапливать эти металлы. Такими механизмами являются хелатирование металлов с эндогенными соединениями и компартментализация токсичных металлов и их комплексов.

В США на практике применяется фитоэкстракция свинца, мышьяка, урана и других ТМ. Стратегии добычи полезных ископаемых при помощи растений изучаются несколькими компаниями и исследовательскими группами. В вегетационных опытах в теплицах было показано, что сарепская горчица и другие виды растений в присутствии солибилизирующего агента тиоционата аммония накапливают до 20 мг золота на кг сухой массы растений. При этом экономически выгодно не только выделять металлы из биомассы, но и использовать ее отходы для получения энергии.

Основным недостатком технологии добычи полезных ископаемых при помощи растений-гипераккумуляторов является слишком медленное поглощение ТМ растениями, невыгодное для очистки почв на коммерческой основе. Две наиболее важные причины тому – это медленный рост большинства природных накопителей металлов и ограниченная растворимость металлов в почве (высокое сродство ионов металлов к почвенным частицам). При изучении доступности металлов почвы для растений используют хелаторы и другие поверхностно-активные вещества или сочетание фитоочистки с другими технологиями, которые увеличивают подвижность металлов в почве, например, с электроосмосом.

Чтобы преодолеть проблему медленного роста растений, отбирают или создают заново, в том числе методами генной инженерии, формы растений с биохимическими признаками, способствующими сверхнакоплению металлов. Другая стратегия, разрабатываемая многими исследовательскими группами и

направленная на усиление поглощения ТМ растениями, связана с использованием микоризных грибов-симбионтов.

Ризофилтрация

Ризофилтрация, по своей сути, представляет собой адсорбцию и последующий транспорт токсикантов корнями растений. Как технология ризофилтрация объединяет биотические и абиотические процессы. При помощи богатых органикой экссудатов корневой системы растений на корнях происходит адсорбция и иммобилизация органических компонентов почвы, включая токсичные соединения, последующий транспорт которых, в основном, определяется химической природой самих токсикантов. Как правило, экссудаты регулируют кислотность ризосферы, создавая подходящие условия для адсорбции почвенной органики на корневой системе растений.

Способность растений создавать микросреду вокруг корневой системы, которая способствует концентрированию и проникновению компонентов почвы в растительные ткани, – это уникальное свойство, которым растения отличаются от всех остальных организмов.

В технологиях, действующих по принципу ризофилтрации, используют быстрорастущие, интенсивно образующие биомассу и имеющие хорошо развитую корневую систему многолетние растения. В основном это широколиственные, однодольные растения, хорошо растущие в условиях и теплого, и холодного климата. Довольно высокой ризофилтрирующей активностью отличаются большинство водных и болотных растений, а также растения, тяготеющие к влажным условиям и тропикам.

Очевидное преимущество ризофилтрационной технологии заключается в ее дешевизне и возможности использовать обычные растения, не нарушая в процессе обработки почвы ее структуру. Согласно другой технологии, с целью очистки водоемов используют оригинальный технологический прием по названию «флот». Особенность этого приема заключается в создании из обычных неводных растений плавающей системы, распространенной на довольно большой площади и по принципу ризофилтрации вытягивающей из

водного резервуара органические и неорганические токсичные соединения. Это довольно распространенная технология, которую использовали после Чернобыльской аварии для очистки водоемов.

К числу недостатков ризофилтрации следует отнести:

- 1) необходимость постоянно поддерживать рН поступающего раствора на уровне, обеспечивающем оптимальное поглощение металлов;
- 2) необходимость учитывать химические особенности загрязняющих веществ и их взаимодействия в стоках;
- 3) потребность в специально сконструированной системе, контролирующей концентрацию загрязнителей в поступающих стоках и скорость потока;
- 4) необходимость предварительно разводить растения в теплице или питомнике специально для целей ризофилтрации;
- 5) необходимость периодически удалять и уничтожать загрязненную растительную биомассу;
- 6) возможность того, что положительные результаты лабораторных и вегетационных опытов не проявятся в должной мере в полевых условиях.

Ризодеградация

Это естественная технология, созданная природой и ею же реализованная с целью полной или частичной деградации токсичных соединений в области корневой системы растений до их проникновения в растение. Как известно, корни активно выделяют экссудаты – клеточные соединения, содержащие ферменты, сахара, аминокислоты, органические кислоты, жирные кислоты, стимуляторы роста, нуклеотиды, вторичные метаболиты и т.д. Эти компоненты создают вполне определенное микроокружение в зоне корневой системы и в случае необходимости меняют рН среды, обеспечивая оптимальные условия для размножения ризосферной микрофлоры. Кроме этого, корни подготавливают питательные компоненты и другие субстраты, повышая эффективность их усвоения и, по возможности, при помощи экссудатных

ферментов осуществляя деградацию органических субстратов, находящихся в почве, в более низкомолекулярные и легкоусвояемые растениями соединения.

Ризодеградационные технологии используют в тех случаях, когда токсикантами являются углеводороды, нефтепродукты, толуол, бензол, ксилол, полиароматические соединения, гербициды и др. Таким образом, совместное действие растений и микроорганизмов, кроме симбиотического эффекта, существенно усиливающего детоксикационный процесс, удачно используется в разных технологических приемах.

К активным ризодеградационным растениям относят люцерну, сою, бобовые, рис, подавляющее большинство кустарниковых растений, шелковица, ель обыкновенная и ряд других однолетних и многолетних растений.

Следует отметить, что эти технологии по сравнению с существующими аналогами более дешевы, экологически абсолютно безвредны и реализуемые практически во всех климатических зонах нашей планеты.

Фитодеградация

Фитодеградация, называемая также фитотрансформацией, – несомненно, один из основных и наиболее важных технологических приемов фиторемедиации. Фитодеградация основана на возможности растений осуществлять ферментативную (чаще всего окислительную) деградацию органических токсикантов путем характерных для растительных клеток метаболических превращений. При этом, очевидно, происходит удаление из почвы и неорганических токсикантов, но этот процесс рассматривается не как основной и его эффект не учитывается. Фитодеградация, осуществляемая растениями в комбинации с ризосферными микроорганизмами, часто применяется на практике, составляя основную суть фиторемедиации.

Фитодеградационные технологии широко применяются на практике. Они используются при высоких концентрациях токсикантов самой различной структуры, но преимущественно в тех случаях, когда почвенные микроорганизмы оказываются не в состоянии снизить концентрацию

органических токсикантов в почве до требуемого для растений уровня (перед их проникновением в растение).

Фитодеградация оказалась эффективным средством в следующих случаях токсичности: при заражении почвы или местности высокими концентрациями алифатических, ароматических и полициклических углеводородов, фенолов, гербицидов и т.д. Фитодеградация используется при очистке почв от твердых и жидких фаз.

Технология фитодеградации уже нашла применение при ремедиации больших площадей, зараженных токсикантами. Среди не очень обширного набора специальных агротехнических мероприятий, требуемых для успешной реализации этой технологии, следует отметить частый полив водой обрабатываемой площади. Это, с одной стороны, ускоряет внутриклеточные метаболические процессы, а с другой – промывает корни растений и удаляет адсорбированные на них органические вещества, ускоряя таким образом процессы проникновения токсикантов в растение.

Фитоволотализация

Технологическая сущность этого метода заключается в выделении в воздух токсикантов, которые довольно успешно проникают в корневую систему, после их соответствующего транспорта в надземные органы. Эта технология оказалась пригодной для очистки почв, водоемов и, в особенности, глинистых почв, хуже обычных поддающихся восстановительным процессам. В числе токсичных соединений, очистка которых достаточно эффективно достигается посредством фитоволотализации, следует отметить широкий спектр органических соединений, в том числе отличающихся особо высокой токсичностью хлорорганических соединений, неорганических токсичных соединений на основе селена, ртути.

У технологии есть два основных достоинства:

1) загрязнители переводятся в менее токсичные формы, например, в элементарную ртуть или газообразный диметилселенит;

2) попав в атмосферу, загрязнители или их метаболиты могут там разрушаться (например, под воздействием света) более эффективно, чем в почве.

Однако этот технологический прием в ряде случаев имеет серьезные ограничения. Например, в случае с сельскохозяйственными растениями, помимо процесса транспирации, наблюдается переход токсичных соединений в плоды растений. Следовательно, в этих технологиях не рекомендуется использовать сельскохозяйственные растения. Также не желательно пользоваться ими вблизи от агроферм, где даже легкий ветер может стать причиной появления токсикантов в пищевой цепи.

Среди растений, используемых для фитоволотализации, следует назвать тополь, люцерну, акацию, травянистые растения и др. С этой целью в ряде случаев уже успешно используются генетически модифицированные продукты.

Фитогидравлика

Фитогидравлика – это технология гидравлического контроля уровня воды и содержания токсикантов с помощью растений. Метод в основном предназначен для очистки грунтовых вод, очень часто имеющих жизненно важное значение. Понятно, что для фитогидравлических технологий используют древесные растения с хорошо развитой корневой системой, которые вместе с водой «вытягивают» из грунта и широкий спектр органических и неорганических токсичных соединений, что, собственно, и составляет сущность этих технологий. Наиболее подходящими растениями для этих целей оказались тополь, береза, ива, эвкалипт и другие лиственные растения. Успех этой технологии определяется климатическими условиями, поскольку многие лиственные растения в зимнее время снижают свою физиологическую активность, направленную на метаболизм чужеродных соединений.

Фитостабилизация

Эта технология основана на способности растений или секретируемых растениями соединений стабилизировать содержание загрязняющих веществ в

почве на низком уровне за счет поглощения или осаждения, что препятствует их мобилизации или вымыванию в форме, угрожающей здоровью людей. Возможные механизмы фитостабилизации включают удержание загрязнителей на поверхности или внутри лигнина, импрегнирующего оболочки клеток, связывание с гумусом почвы и другие механизмы изоляции загрязняющих почву соединений, например, путем связывания с органическими веществами почвы. Эта технология относится в первую очередь к загрязнению металлами, и ее лучше всего применять к концу улучшения почвы традиционными методами или после выведения загрязненных участков из сельскохозяйственного оборота там, где существующие правила допускают присутствие в почве загрязнителей, недоступных для организмов (регуляция, основанная на оценке риска). Этот термин также применяют в связи с использованием растительного покрова, например, при оползнях этот покров препятствует загрязнению поверхностных и грунтовых вод.

3. Гипераккумуляция ТМ растениями и возможности их использования для фиторемедиации

Виды растений, накапливающие избыток ТМ (гипераккумуляторы или сверхнакопители), привлекают внимание ученых всего мира. Пороги накопления разнятся для различных металлов (табл. 1).

Таблица 1

Содержание тяжелых металлов в некоторых растениях-гипераккумуляторах, произрастающих на загрязненных почвах (по Титову с соавт., 2007)

Металл	Вид	Концентрация металла в побеге, мг/кг сухой массы	СТИ
Cd	<i>Thlaspi caerulescens</i>	1800	
Cu	<i>Ipomea alpina</i>	12300	
Co	<i>Haumaniastrum robertii</i>	10200	
Pb	<i>Thlaspi rotundifolium</i>	8200	
Mn	<i>Macadamia neurophylla</i>	51800	
Ni	<i>Psychotria douarrei</i>	47500	
Zn	<i>Thlaspi caerulescens</i>	51600	

растений к металлам, связанную со способностью концентрировать их в тканях надземных органов. Термин «гипераккумулятор» относится к растениям, накапливающим металлы в побегах до концентраций, которые на 1-3 порядка превышают концентрации металлов в тканях рядом растущих «нормальных» растений. Сверхнакопление показано для Pb, Ni, Co, Cu, Zn, Cd, Se, As (табл. 1). Минимальные концентрации для ряда ТМ, позволяющие относить растения к гипераккумуляторам, представлены в табл. 2.

Таблица 2

Минимальные концентрации тяжелых металлов в надземных органах растений, позволяющих относить их к гипераккумуляторам (по Прасад, 2003)

Накапливаемый металл	Содержание металла, мкг/г сухой массы
Cd, As	100
Co, Cu, Cr, Ni, Pb	1000
Mn, Zn	10000

Уровни накопления металла в тканях побега растений могут быть значительно выше, чем его содержание в почве или питательном растворе, и различаться даже у одного вида в зависимости от концентрации элемента в корнеобитаемой среде (табл. 3).

Таблица 3

Содержание тяжелых металлов в надземных органах растений-гипераккумуляторов (по Титову с соавт., 2007)

Вид	Металл	Концентрация металла		Источник
		в среде	в побеге, мг/кг сухой массы	
<i>Brassica juncea</i>	Pb	10 ⁻³ М/л	4700*	Jiang et al., 2000
<i>Thlaspi caerulescens</i>	Zn	500 мМ/м ³	28000	Shen et al., 1997
	Zn	1000–4000 мкг/г субстрата	5000–20000	Küpper et al., 1999
<i>Arabidopsis halleri</i>	Cd	10 мкМ/л	150	Bert et al., 2003
	Zn	250–1000 мкМ/л	10000–32000	Zhao et al., 2000
<i>Sedum alfredii</i>	Cd	12.5–400 мкМ/л	2000–6500** 1000–9000***	Yang et al., 2004

* В гипокотиле. ** В стебле. *** В листе.

Некоторые виды гипераккумуляторы способны накапливать ТМ в корнях и побегах. Число растений-сверхнакопителей ограничено, поэтому поиск видов растений, накапливающих избыток ТМ, привлекает внимание многих исследователей. В настоящее время выявлено более 400 видов растений-гипераккумуляторов, относящихся к 45 семействам. Причем среди них около 300 (почти 75%) видов растений являются накопителями никеля и только 20-30 видов аккумулируют цинк, медь, кобальт (табл. 4).

Таблица 4

Некоторые виды растений, способные к гипераккумуляции тяжелых металлов (по Титову с соавт., 2003)

Род, вид	Накапливаемый металл
<i>Alyssum</i> (около 50 видов)	Ni
<i>Arabidopsis halleri</i>	Cd, Zn
<i>Armeria maritima</i>	Pb, Zn
<i>Armeria plantaginea</i>	Zn
<i>Brassica juncea</i>	Cd, Cu, Ni, Pb, Se, Zn
<i>Helianthus annuus</i>	Pb
<i>Leucocroton</i> (около 30 видов)	Ni
<i>Minuartia verna</i>	Ni, Zn
<i>Thlaspi</i> (более 20 видов)	Ni
<i>Thlaspi alpestre</i>	Zn
<i>Thlaspi caerulescens</i>	Cd, Pb, Zn,
<i>Thlaspi calaminarie</i>	Zn
<i>Thlaspi cepeaefolium</i>	Zn
<i>Thlaspi goesingense</i>	Cd, Ni
<i>Thlaspi rotundifolium</i>	Pb
<i>Sedum alfredii</i>	Cd, Zn
<i>Silene cucubalus</i>	Zn
<i>Phyllanthus</i> (более 40 видов)	Ni
<i>Polycarpea glabra</i>	Pb, Zn
<i>Viola calaminaria</i>	Zn

Сверхнакопление свинца и кадмия – еще более редкое явление среди высших растений. Например, о способности к накоплению кадмия указывалось только в отношении растений-гипераккумуляторов цинка – *Thlaspi caerulescens* и *Arabidopsis halleri* и гипераккумулятора никеля – *Thlaspi goesingense*. Среди растений-сверхнакопителей выявлены представители семейства Крестоцветных, которые накапливают свинец. Причем некоторые растения, в частности сарепская горчица, способны аккумулировать не один, а несколько тяжелых металлов – Cd, Cu, Ni, Zn, Pb, Se, что имеет важное значение, поскольку загрязнение почв редко ограничивается одним металлом.

По мнению некоторых исследователей, растения, идеально подходящие для целей фиторемедиации, должны обладать следующими свойствами:

- 1) способностью аккумулировать металл(ы) преимущественно в надземных органах;
- 2) устойчивостью к накапливаемому металлу;
- 3) быстрыми темпами роста и большой биомассой;

4) высокой способностью к отрастанию после скашивания.

При этом гипераккумуляция и металлоустойчивость являются наиболее важными свойствами растений для фиторемедиации.

В настоящее время существуют две стратегии использования растений для «извлечения» ТМ из почв. Первая из них представляет использование растений-сверхнакопителей, таких как *Thlaspi caerulescens* или *Alyssum bertolonii*. Эти растения специфично поглощают один или два металла, накопление в них небольшой биомассы коррелирует с очень высокими концентрациями металла в побегах. Вторая стратегия основана на использовании высокопродуктивных растений, которые не являются металлспецифичными, формируют большую надземную биомассу, но количество ТМ в ней сравнительно невысокое.

Способность растений очищать почвы от ТМ ограничена многими факторами. Среди них можно назвать доступность металла в почве для поглощения корнями растений, скорость поглощения его корнями, транспорт металла из корня в побег, а также устойчивость растения. Создание трансгенных растений с определенными физиолого-биохимическими свойствами, способствующими сверхнакоплению ТМ, – один из возможных путей развития фиторемедиации как эффективной практической технологии.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Квеситадзе Г.И., Хатисашвили Г.А., Садуншвили Т.А., Евстигнеева З. Г. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях / Под ред. В.О. Попова. – М.: Наука, 2005. – 199 с.

2. Прасад М.Н. Практическое использование растений для восстановления экосистем, загрязненных металлами // Физиол. раст. – 2003. – Т. 50. – № 5. – С. 764-780.

3. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам / Отв. ред. Н.Н. Немова; Институт биологии КарНЦ РАН. – Петрозаводск: Карельский науч. центр РАН, 2007. – 172 с.

4. Baker, A.I.M. Accumulators and excluders – strategies in the response of plants to heavy metals / A.I.M. Baker // J. Plant.Nutr. – 1981. – Vol. 3. – № 14. – P. 643-654.

5. Gratao P.L., Prasad M.N.V., Cardoso P.F., Lea P.J., Azevedo R.A. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment // Braz. J. Plant Physiol. – 2005. – V. 17(1). – P. 53-64.

6. Prasad M.N.V. Nickelophilous plants and their significance in phytotechnologies // Braz. J. Plant Physiol. – 2005. – V. 17(1). – P. 113-128.

7. Salt D.E., Blaylock M., Kumar N.P.B.A. et al. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment. Using plants // Biotechnology. – 1995. – V. 13. – P. 468-474.

Лекция 16. Фитопатогены и фитоиммунитет

1. Характеристика основных групп организмов – возбудителей болезней растений

Уже на ранних этапах онтогенеза растения подвергаются нападению со стороны различных организмов, являющихся возбудителями заболеваний.

Механизмы, лежащие в основе устойчивости или восприимчивости растений к болезням, являются предметом изучения **фитопатологии** – науки о взаимоотношениях в системе растение-патоген.

Основными группами фитопатогенов являются: грибы, актиномицеты, бактерии и вирусы.

Грибы – возбудители болезней растений

Подавляющее большинство болезней (около 80%) вызывается грибами. Важнейшей особенностью грибов является гетеротрофный способ питания,

обусловленный отсутствием у грибов хлорофилла и других пигментов, с помощью которых автотрофные растения способны создавать органические вещества из неорганических. К морфологическим особенностям грибов относятся наличие у них вегетативного тела нитчатого строения и способность к размножению спорами.

Типичным вегетативным телом грибов является грибница, представляющая собой систему ветвящихся гиф – нитей трубчатого строения. Совокупность разрастающихся гиф и их сплетения называются мицелием.

В течение достаточно длительного времени нарастание мицелия происходит при неограниченном вертикальном росте гиф, в результате чего длина мицелия может достигать многих метров. Вместе с тем, у некоторых простейших низших грибов типичный нитчатый мицелий отсутствует, и вегетативное тело у них представлено одной клеткой, нередко лишенной оболочки, или так называемого амебоида, обычно располагающегося внутри питающей клетки растения-хозяина.

Распространение мицелия по растению или внутри тканей обычно имеет ограниченный характер и захватывает небольшие участки листа, плода или другого органа (местный, или локальный, мицелий). В более редких случаях встречается диффузный мицелий, охватывающий все или почти все органы растения. Диффузное разрастание мицелия обычно бывает у растений, развивающихся из зараженных семян, клубней, луковиц, у которых были заражены корневища или спящие почки. Из них потом вырастают диффузно зараженные побеги.

Актиномицеты – возбудители болезней растений

Лучистые грибы, или актиномицеты, являются промежуточной группой между бактериями и грибами. Для актиномицетов характерно наличие одноклеточного, лучисто разрастающегося, очень тонкого (около 1 мкм в диаметре) мицелия, на котором развиваются характерные спорообразующие ответвления, дающие артроспоры, или конидии. Актиномицеты не имеют истинного ядра, их ядерный материал находится в диффузном состоянии, что

приближает их к бактериям. С бактериями актиномицетов сближают также размеры клеток и приуроченность главным образом к щелочной среде.

Большинство актиномицетов – сапрофиты, участвующие в разрушении органических веществ в почве. Некоторые актиномицеты являются патогенными для растений или животных, вызывая актиномикозы.

В почве лучистые грибы легко обнаружить по белому рыхлому налету на полусгнивших листьях, корнях, соломе, ветках, насекомых, грибах и др.

Среди актиномицетов, поражающих растения, для фитопатологии особое значение имеют представители рода *Actinomyces*, которые на клубнях картофеля и корнеплодах свеклы вызывают заболевание наружных тканей – паршу. На поверхности пораженного органа образуются коросты, корочки, язвочки и т.п. Возбудителями парши является несколько видов лучистых грибов, отличающихся рядом признаков, в том числе и по типу поражения. Особенно сильно поражаются клубни на щелочных, сильно известкованных почвах и при внесении под картофель свежего неперепревшего навоза.

Фитопатогенные бактерии

Из всего разнообразия бактерий лишь немногие из них способны вызывать болезни растений. Вызываемые такими бактериями болезни называют бактериозами.

Почти все фитопатогенные бактерии имеют палочковидную форму: в большинстве случаев палочки прямые, с закругленными концами. Они бывают одиночные или соединенные попарно. Значительно реже образуются короткие цепочки, и лишь у немногих видов можно наблюдать длинные цепочки (например, у *Pseudomonas coronofaciens*). Среди фитопатогенных бактерий имеются формы, представляющие собой изогнутые, иногда ветвящиеся палочки и без жгутиков (*Corynebacterium*).

Размеры фитопатогенных бактерий мало отличаются от других палочковидных форм. Почти все фитопатогенные бактерии подвижны, неподвижных видов, поражающих в той или иной степени растения,

насчитывается не более 10 видов. Движение большинства из них совершается при помощи полярных жгутиков.

Фитопатогенные бактерии хорошо окрашиваются, однако многие из них грамотрицательны, исключение составляют бактерии, относящиеся к роду *Corynebacterium* (бактерии, вызывающие бактериальный рак томатов, кольцевую гниль картофеля).

Большинство фитопатогенных бактерий являются аэробами, они хорошо растут на искусственных питательных средах, образуя на них блестящие, слизистые колонии с ровными краями, в отдельных случаях края колоний могут быть неровными, как бы разорванными.

Цвет колоний обуславливается наличием у бактерий пигментов; чаще всего он бывает белым или желтоватым, редко оранжевым.

Фитопатогенные свойства бактерий тесно связаны с наличием или отсутствием у них тех или иных ферментов. При внешнем сходстве бактерии сильно отличаются друг от друга в биохимическом отношении. Они содержат протеазу, расщепляющую белок; пектиназу и протопектиназу, расщепляющие пектиновые вещества и оболочки клеток; амилазу, гидролизующую крахмал; хлорофиллазу, расщепляющую хлорофилльные зерна, в результате чего теряется зеленая окраска пораженной ткани и появляются светлые маслянистые пятна. Из всех ферментов фитопатогенных бактерий наиболее распространена протопектиназа. Впоследствии бактерии используют не только пектиновые вещества, но и содержимое клеток, отмирающих в результате их разъединения или интоксикации.

Появление желтого ореола вокруг некротических пятен связано с хлорофиллазой. Окислительные ферменты (тирозиназы) вызывают почернение или побурение растительных тканей.

Некоторые фитопатогенные бактерии образуют токсины, которые влияют на обмен растений-хозяев; одни из них вызывают локальные поражения, например, образование круглых некротических пятен при бактериальной рябухе табака, другие токсины принимают участие в процессах увядания

растений, третьи вызывают нарушения процессов деления и разрастание клеток растения-хозяина, например, возбудитель бактериального рака (*Rhizobium tumefaciens*).

Среди бактерий есть высокоспециализированные, которые приурочены к одному роду или даже виду растений. Вместе с тем, известны бактерии, поражающие многие растения разных видов и даже родов, но в пределах одного семейства.

Кроме того, есть группа фитопатогенных бактерий, характеризующихся широкой избирательной способностью. Отдельные виды бактерий этой группы поражают растения из самых разнообразных семейств (например, *Rhizobium tumefaciens* встречаются на растениях из 39 семейств).

В растение бактерии могут проникать как через естественные ходы (устьица, гидатоды, чечевички и др.), так и механические повреждения (через свежие ранки, на которых еще не образовалась пробковая ткань). Проникновению бактерий в растение способствуют также насекомые.

В тканях растения бактерии распространяются по межклеточным ходам и при участии ферментов, которые растворяют межклеточное вещество, что приводит к дезорганизации тканей. Такое распространение бактерий называют межклеточным, или паренхиматозным.

Есть виды растений, которые, попав в растение, распространяются по сосудам. Достигнув сосудистых пучков в ксилемной их части, они начинают быстро размножаться. Заполнение сосудов бактериями приводит к их полной закупорке, что вызывает увядание растения. Такое поражение называют сосудистым. Увядание растений может происходить не только в результате механической закупорки сосудов, но и за счет выделения бактериями токсических для растения веществ.

У растений встречается также смешанный тип поражения – сосудисто-паренхиматозный, при котором бывают поражены не только сосуды, но и паренхима. Обычно бактерии, способные вызвать этот тип заболевания,

сначала проникают в сосуды, которые они закупоривают и разрушают, а затем переходят на близлежащие паренхимные ткани.

Известен тип поражения, характеризующийся появлением на растениях опухолей, или новообразований. Появление опухолей может быть связано с тем, что у места внедрения паразита, как ответная реакция растения, происходит приток питательных веществ. В результате в этом месте начинаются интенсивный рост и деление клеток. Образование опухолей также связывают с выделением бактериями особых ростовых веществ, способных стимулировать усиленный рост клеток.

Фитопатогенные вирусы

Фитогенные вирусы, проникая через ранки в растительные клетки и размножаясь в них, вызывают нарушение обмена веществ клетки, которое и приводит растение к заболеванию. Симптомы вирусных заболеваний очень своеобразны. Для вирусных заболеваний характерна мозаичность листьев (реже других органов), при которой одни участки листовой пластинки сохраняют интенсивную зеленую окраску, другие становятся светло-желтыми или желтыми. Лист при этом выглядит пестрым, мозаичным.

На листьях могут быть кольцевая пятнистость, отмирание (некроз) отдельных участков листа, стеблей, плодов, образование некротических пятен, штрихов, расположенных вдоль жилок и хорошо заметных на нижней стороне листа. Фитопатогенные вирусы могут вызвать и более глубокие изменения в растениях, например, карликовость, измельчение, скручивание, изменение формы листа, уродливость, позеленение и пролиферацию цветков.

По внешним признакам вирусные болезни растений можно разделить на два типа – мозаика и желтуха.

Мозаика характеризуется мозаичной расцветкой, чередованием темно-зеленых и светло-зеленых участков ткани листа, различной деформацией листовой пластинки, а также появлением штриховатости и некротических пятен на листьях, стеблях и плодах.

При заболеваниях типа *желтухи* вирусы не всегда вызывают пожелтение листьев. В отличие от мозаики здесь наблюдаются глубокие деформации растений, карликовость, усиленная кустистость, уродливость цветков, при которой отдельные части цветка не развиваются совсем, другие ненормально разрастаются, лепестки цветков часто зеленеют; иногда вместо цветка образуется побег или редуцированные листья, или в центре зеленого цветка развиваются розетки настоящих листьев. При болезнях типа желтух наблюдаются глубокие нарушения анатомического строения и функциональной деятельности растения.

Большинство фитопатогенных вирусов распространяется в природе насекомыми с колюще-сосущим ротовым аппаратом. Отмечены также случаи распространения вируса клещами. Существует два способа передачи вируса насекомыми: механический и биологический.

При механическом способе передачи вируса насекомое погружает свой ротовой аппарат в ткани больного растения, из которого оно высасывает сок.

При биологическом способе передачи вирусов насекомое в процессе питания на больном растении вместе с соком поглощает и вирусные частицы, которые попадают в кишечник, а затем проникают и в ткани насекомого.

Кроме того, существуют вирусы, которые передаются без участия насекомых. Это так называемый контактный способ передачи. Контакт больных листьев со здоровыми происходит при ветре; листья, ударяясь друг о друга, вызывают повреждения кутикулы, главным образом за счет обламывания микроскопических волосков. Через эти повреждения частицы вируса проникают в здоровые растения. К контактному способу заражения растения вирусом можно отнести такие приемы, как обрезка, прищипка, пасынкование. Вирусы, передающиеся таким путем, называются контактными.

2. Классификация возбудителей болезней растений

Различают следующие группы патогенов:

1. **Факультативные (необязательные) паразиты**, которые, являясь, сапрофитами, живут на мертвых остатках растений, но могут поражать и живые, но ослабленные растения. Эти патогены легко культивируются на питательных средах и поражают растения многих видов и таксономических групп. Типичный представитель этой группы – возбудитель серой гнили *Botrytis cinere*.

2. **Факультативные сапрофиты**, которые ведут в основном паразитический образ жизни на небольшом числе видов и реже – сапрофитный. К ним относится, например, *Phytophthora infestans* – возбудитель фитофтороза картофеля.

3. **Облигатные (обязательные) паразиты** не могут существовать без растения-хозяина одного или близких родов. К облигатным паразитам относятся все вирусы, многие грибы-паразиты растений (например, *Puccinia graminis tritici* – возбудитель бурой ржавчины пшениц), но не бактерии. В процессе сопряженной эволюции с растениями-хозяевами паразиты этого типа выработали способность проникать в ткани растения-хозяина, минуя его защитные механизмы.

4. **Симбионты** – мирное сосуществование обоих партнеров в случае их физиологической полноценности. Симбиотические взаимоотношения переходят в паразитические в случае ослабления одного из них.

По характеру питания фитопатогены делят на некротрофов и биотрофов.

Некротрофы (все факультативные паразиты и некоторые факультативные сапрофиты) поселяются на предварительно убитой ими ткани. Клетки растения-хозяина погибают под действием токсинов, выделяемых патогеном, а затем содержимое клеток расщепляется внеклеточными гидролитическими ферментами, также выделяемыми паразитом.

Биотрофы (облигатные паразиты) определенное время сосуществуют с живыми клетками растения-хозяина. Они проникают туда, минуя системы защиты растения и не выделяя токсинов, вредных для него. Грибы этого типа распространяются, как правило, по межклетникам, проникая в клетку через

специальные присоски – гаустории, через которые и выкачивают питательные вещества.

Таким образом, некротрофы воздействуют на растения с помощью как минимум двух групп веществ: токсинов и внеклеточных ферментов.

Некротрофы, обладающие токсинами, различаются по уровню своей специализации, в зависимости от того, как много растительных видов они поражают. В соответствии с этим их токсины подразделяют на хозяин-специфические и неспецифические, действующие на многие виды растений. По этому признаку все имеющиеся у некротрофов **токсины** можно разделить **на три группы:**

фитотоксины – вещества, выделяемые микроорганизмами в среду, где они растут, убивающие ткани растений и тем самым превращающие их в пригодный для заселения питательный субстрат. Они не специфичны в действии, т.е. вызывают повреждение широкого круга растений. Влияют на тяжесть заболевания, но не являются необходимыми для возникновения болезни;

вивотоксины – выделяются не только в среду при сапрофитном питании паразита, но и в ткани зараженного растения на паразитических стадиях существования микроорганизмов. Токсины этого типа могут вызывать у растений некоторые симптомы, близкие к симптомам болезни;

патотоксины – токсины, специфичные к своему растению-хозяину, повреждают в пределах вида лишь те растения, которые восприимчивы к патогену, вырабатывающему эти токсины. Хозяин-специфические токсины выделяются грибом на ранних стадиях инфекционного процесса и являются основными факторами его патогенности.

Образование и выделение ферментных белков осуществляется у некротрофов в везикулах, продуцируемых аппаратом Гольджи, в которых они и достигают плазматических мембран.

В отличие от некротрофов, биотрофные патогены обладают узким набором экстрацеллюлярных ферментов, поэтому способ их воздействия на

клетки растений иной. Он сводится к подавлению одних сигнальных систем, вызывающих активные защитные реакции в клетках хозяина-растения, и одновременно включает индуцирование других сигнальных систем, например, запуск секреторной активности, направленной на изоляцию патогена и воссоздание вокруг гаусториев новой оболочки. Воздействие биотрофов на клетку хозяина настолько мягко, что пораженная клетка может и не ощущать присутствия патогена.

Для того чтобы стать паразитом, микроорганизмы должны пройти процесс специализации. Под специализацией следует понимать приуроченность патогена к одному или нескольким растениям-хозяевам. Различают узко- и широкоспециализированные группы возбудителей болезней:

- **монофаги** – узкоспециализированные патогены – паразитируют только на растениях одного рода или даже одного вида;

- **полифаги** – широкоспециализированные патогены – вызывают заболевания различных родов внутри одного семейства растений и даже растений из различных семейств.

3. Защита растений от патогенов и фитофагов

Исход взаимодействия в системе растение-патоген определяется главным образом двумя обстоятельствами:

- во-первых, способностью патогена синтезировать специфические токсины;

- во-вторых, способностью растения узнавать специфические и нетоксичные для него метаболиты патогена.

Современное представление об иммунной системе растений сложилось гораздо позднее выявления основных принципов иммунитета человека и животных. У растений, в отличие от животных, нет специализированных органов иммунитета. В то же время, поскольку каждая растительная клетка может дать при определенных условиях начало целому организму, то она

содержит и всю необходимую для жизнедеятельности информацию, в том числе защитную. Хотя до сих пор не найдены растительные белки, которые аналогично антителам животных способны узнавать чужеродные антигены. Однако высказано предположение о наличии у растений компетентных структур, осуществляющих функции включения интерфероноподобного защитного механизма. К таким веществам относят вещества белковой природы: лектины и противовирусные белки растений.

В настоящее время фитоиммунитет принято рассматривать как систему, охраняющую структурную и функциональную целостность растений, основанную на свойстве распознавать и отторгать генетически чужеродную информацию. Растения не имеют иммунокомпетентных лимфоцитов и не способны образовывать антитела, но им свойственна способность распознавать генетически чужеродные клетки и молекулы.

Иммунитет, предохраняющий большинство растений от поражения большинством паразитов, не являющихся по отношению к этим растениям специфическими, называется неспецифическим иммунитетом. Его еще называют общим, конституционным, врожденным или естественным. Для обозначения этого явления Вавиловым было предложено понятие «видовой иммунитет». Однако некоторые виды паразитов в процессе эволюции приспособились обходить видовой иммунитет растения и стали патогенными (вирулентными) для него. Такие виды патогенов обладают способностью поражать только определенные виды растений. Как правило, наблюдается соответствие между пищевыми потребностями патогена и химическим составом клеток растения-хозяина.

В процессе инфицирования события могут развиваться по двум сценариям. Если патоген синтезирует специфичные для некоторых растений токсины (этот процесс контролируют гены вирулентности), наблюдается гибель клеток и всего растения. При втором варианте взаимодействия растительные клетки распознают патоген (по продуктам генов вирулентности) и гибнут вместе с ним раньше, чем патоген успевает распространиться по ткани. Такой

способ защиты растений называют *реакцией сверхчувствительности*, и он характерен для устойчивых видов и сортов растений.

Итак, реакция сверхчувствительности – это быстрая локальная гибель инфицированных растительных клеток вместе с патогеном, что в конечном счете обеспечивает устойчивость всего растения (рис. 39).

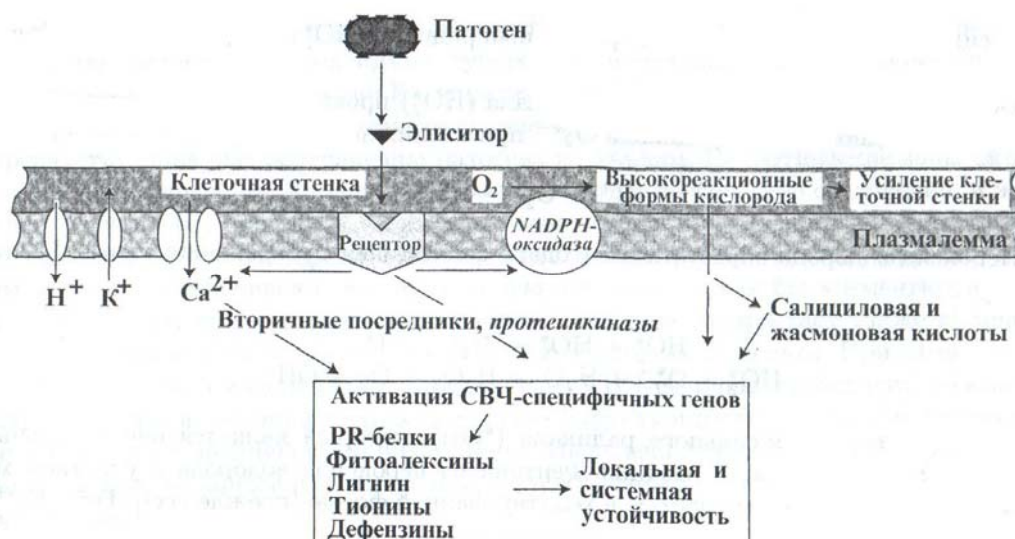


Рис. 39. Последовательность событий в ходе реакции сверхчувствительности (по Bradley e.r., 1992)

Отмирание нескольких клеток приводит к образованию некроза, что останавливает перемещение паразита. Затем некротическая ткань окружается барьером из перидермы. Скорость этой реакции очень велика: так, при контакте несовместимой расы возбудителя фитофтороза с листом картофеля клетки отмирают уже через 30 минут. Основная функция реакции сверхчувствительности заключается в подавлении спороношения паразита, которое происходит лишь при его контакте с живыми клетками.

Присутствие патогенов растения распознают благодаря элиситерам. *Элиситеры* – поверхностные или выделяющиеся паразитом вещества, которые первыми соприкасаются с поверхностью растения. Эти вещества сигнализируют растению о необходимости включения системы защиты.

Элиситами могут быть такие соединения, как химин, хитозан, глюканы, гликопротеины, липополисахариды, липогликопротеины, пектолитические и протеолитические ферменты. Как правило, большинство элиситеров содержат в своем составе углеводы. Часто один и тот же патоген содержит не один, а два или даже три элисitera, разной химической природы и по-разному локализованных в составе патогенов.

Элиситеры индуцируют ***фитоалексины*** – низкомолекулярные антибиотики высших растений, которые практически отсутствуют в здоровых тканях и возникают в ответ на контакт с фитопатогенами; при быстром достижении антимикробных концентраций фитоалексины выполняют свою основную биологическую функцию – отражение атаки чужеродного антигена.

Механизмы образования элиситеров и фитоалексинов в ходе грибной инфекции представлены на рис. 40.

Предполагается, что в здоровом растении группа генов, ответственных за образование ферментов, синтезирующих фитоалексины, зарепрессирована. Индукция же связана с дерепрессией этих участков генома клетки, в результате чего и начинается синтез ферментов.

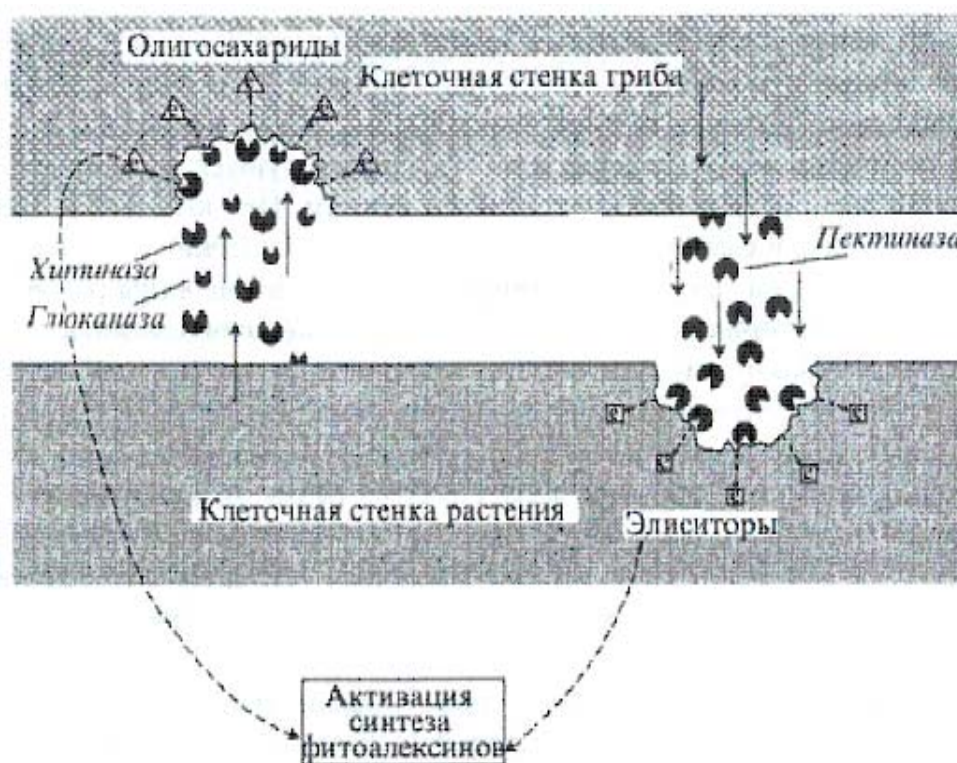


Рис. 40. Механизмы образования элиситоров и фитоалексинов в ходе грибной инфекции (по Brett, Waldron, 1996)

Фитоалексины являются конечным продуктом измененного заражения метаболизма растений. Вследствие разнообразия растений, патогенов и их взаимодействий велико и химическое разнообразие фитоалексинов.

4. Механизмы устойчивости растений к фитопатогенам

Основные механизмы защиты растений от действия фитопатогенов подразделяют на 2 группы:

- конституционные, т.е. присутствующие в тканях растения-хозяина до инфицирования;
- индуцированные, или возникшие в ответ на контакт с паразитом или его внеклеточными выделениями.

Конституционные механизмы включают в себя:

а) особенности структуры тканей, обеспечивающие механический барьер для проникновения инфекции;

б) способность к выделению веществ с антибиотической активностью (например, фитонцидов);

в) создание в тканях недостатка веществ, жизненно важных для роста и развития паразита.

Индукцированные механизмы устойчивости характеризуются реакцией растения-хозяина на инфекцию:

а) во всех случаях усиливаются дыхание и энергетический обмен растения;

б) накапливаются вещества, обеспечивающие общую неспецифическую устойчивость (фитонциды, фенолы и продукты их окисления – хиноны, танины и др.);

в) создаются дополнительные защитные механические барьеры;

г) возникает реакция сверхчувствительности;

д) синтезируются фитоалексины.

Предполагается, что включение защитных механизмов в ответ на инфицирование растения осуществляется в следующей последовательности (рис. 41).

1) Паразит воздействует на клетки растения-хозяина с помощью элиситеров.

2) Мембранные рецепторы растения взаимодействуют с элиситером паразита.

3) Образование комплекса элиситер-рецептор индуцирует у растения реакцию сверхчувствительности.

4) Отмирание клеток растения-хозяина приводит к возникновению в них регуляторных молекул-производных полимеров матрикса клеточных стенок (олигосахаридов).

5) Олигосахарины погибающих клеток диффундируют к соседним с некрозом здоровым клеткам и вызывают в них синтез фитоалексинов, обеспечивающих видовой иммунитет и сортовую устойчивость растений.

5) Некротические участки тканей отделяются от здоровых перидермой.



Рис. 41. Последовательность включения защитных механизмов растений в ответ на инфекцию

5. Методы защиты сельскохозяйственных культур от болезней

Разнообразие болезней растений и различия в биологии их возбудителей обуславливают применение в борьбе с ними различных методов. Надежную защиту сельскохозяйственных культур от болезней может обеспечить только система защитных мер.

Под системой мероприятий в борьбе с болезнями растений следует понимать сочетание различных научно-обоснованных приемов, обеспечивающих, с одной стороны, создание благоприятных условий для развития растений и повышения сопротивляемости их к паразитам, с другой – подавление развития возбудителей болезней и максимальное снижение потерь

урожая, причиняемых ими. Основное внимание должно уделяться разработке и внедрению интегрированных систем с использованием методов и приемов, активизирующих естественные факторы, подавляющие возбудителей болезней. Важно, чтобы в систему мероприятий входили приемы, приемлемые для возделывания защищаемого растения, эффективные в борьбе не с одной, а с рядом главнейших и второстепенных болезней этого вида растений.

Основные методы борьбы с возбудителями болезней растений:

- агротехнические методы (селекционно-семеноводческие мероприятия, внедрение севооборотов, сочетание различных приемов обработки почвы, подготовку семенного и посадочного материала, соблюдение оптимальных сроков посева и уборки культур, проведение фитосанитарных мероприятий);

- химические методы (использование химических препаратов, обладающих фунгицидным и бактерицидным действием);

- физико-механические методы (уничтожение больных растений или их частей, применение мероприятий, основанных на изменении физических условий среды и губительно воздействующих на патогены);

- биологические методы (использование против возбудителей болезней растений других микроорганизмов или антагонистических взаимоотношений между патогенными и сапрофитными организмами, применение антибиотиков);

- карантин растений (система государственных мероприятий, направленных на защиту растительных ресурсов страны от заноса и вторжения из других государств особо опасных вредителей и возбудителей болезней растений, а в случае проникновения карантинных объектов – на локализацию их очага).

Следует отметить, что для одних и тех же культур и даже одних и тех же болезней в различных природно-климатических зонах или в различные по погодным условиям годы системы мероприятий не остаются неизменными. Они должны быть динамичными в зависимости от конкретных условий.

При подготовке лекции использованы следующие источники:

1. Воронкевич И.В. Краткий обзор работ по бактериозам растений // Фитопатогенные бактерии. – Киев: Изд-во «Наукова думка», 1975. – С. 9-20.
2. Матышевская М.С. Метаболизм растения-хозяина при бактериальной инфекции // Фитопатогенные бактерии. – Киев: Изд-во «Наукова думка», 1975. – С. 27-36.
3. Медведев С.С. Физиология растений: Учебник. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2004. – 336 с.
4. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. Как растения защищаются от болезней. – М., 1985. – 190 с.
5. Полевой В.В. Физиология растений: Учеб. для биол. спец. вузов. – М.: Высш. шк., 1989. – 464 с.
6. Усманов И.Ю., Рахманкулова З.Ф., Кулагин А.Ю. Экологическая физиология растений: Учебник. – М.: Логос, 2001. – 224 с.
7. Фитопатология / П.Н.Головин, М.В. Арсеньева, З.Н. Халеева, З.И. Шестиперова; Под ред. М.В. Горленко. – Л.: Колос. Ленингр. отд-ние, 1980. – 319 с.