

Т.В. Чиркова

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ



Чиркова Тамара Васильевна

Физиологические основы устойчивости растений

Код: {62E570B9-5889-4F40-A15A-FD31B8248BCE} (хранится с 07.06.2004)

Чиркова, Тамара Васильевна

Физиологические основы устойчивости растений: Учебное пособие студентов биологических факультетов вузов. - СПб.: СПбГУ, 2002.- 244 с. : ил.

ISBN 5-288-02413-8, 300 экз.

В учебном пособии изложены современные представления о механизмах стресса у растений, рассмотрены своеобразие функционирования систем регуляции в стрессовых условиях и их роль в устойчивости растений. Определены физиологические и биохимические основы устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды: недостатку кислорода и его активным формам, засухе и высокой температуре, низкотемпературным воздействиям, засолению почв и несбалансированному минеральному питанию, загазованности воздуха, ионизирующими излучениями, фитопатогенам. Показана общность физиолого-биохимических изменений при неспецифических защитных реакциях растений на различные воздействия и явление сопряженной устойчивости. Учебное пособие предназначено для студентов биологических факультетов университетов, физиологов, биохимиков, экологов растений и специалистов сельского хозяйства.

Биофизика, биохимия, физиология и иммунология растений

ББК 28.57

УДК 581.12 + 13

В руках ученого чаще всего имеются части, но, к сожалению, отсутствует священная связующая нить.

Гете

Для биолога такой нитью может быть идея приспособления, адаптации организма. Это очень точно подметил И.П. Павлов, который считал, что правильно понятая идея о приспособлении представляет неисчерпаемый источник для различных научных гипотез.

ВВЕДЕНИЕ

Одна из основных задач современной биологии состоит в исследовании особенностей существования организма в зависимости от экологических факторов среды. В силу прикрепленного образа жизни растения особенно подвержены влиянию ряда субоптимальных внешних воздействий. Это *физические факторы*: высокая и низкая температура и освещенность, недостаток или избыток влаги, повышенный уровень радиации, механические воздействия; *химические*: возросшая концентрация углекислоты, накопление солей в почве, загрязненные промышленными и бытовыми отходами воздух и вода, недостаток или несбалансированность элементов питания, высокие концентрации ксенобиотиков (гербицидов, фунгицидов, инсектицидов); *биологические*: поражение возбудителями болезней: грибами, бактериями, вирусами, гельминтами и т.д.

В настоящее время происходит серьезное ухудшение экологической ситуации на Земле в результате антропогенной деятельности: увеличивается загрязнение воздуха, повышается степень радиации, из-за несоблюдения правил орошения возрастает площадь засоленных почв. Поэтому для любого образованного человека необходимо знание особенностей влияния на растительный организм различных неблагоприятных воздействий, понимание того, как своеобразие почвы и климата способствует распространению видов растений или ограничивает его. Не постигнув сути процессов, происходящих в растениях, нельзя понять, как можно регулировать их рост и развитие в меняющихся условиях среды

обитания. Цель настоящего учебного пособия - рассмотреть, как растения противостоят различным неблагоприятным внешним факторам среды.

Известно, что одни растения хорошо приспособились к условиям своего произрастания (растения степей, пустынь, болот и т.д.), другие же быстро погибают при повышении напряженности того или иного фактора. Устойчивость растений - это способность их сохранять относительное постоянство внутренней среды, т.е. гомеостаз, в определенном диапазоне внешних воздействий. Она определяется степенью выживаемости растений в неблагоприятных условиях обитания. Устойчивость - такое же неотъемлемое свойство живого организма, как питание или размножение, которое реализуется при экстремальных воздействиях. Различают *биологическую* устойчивость, характеризующую предел воздействия, при котором растения могут дать жизнеспособные семена, и *агрономическую*, отражающую возможность сохранения продуктивности растений. Устойчивость следует рассматривать как отражение меры надежности организма, т.е. способности биологических систем выполнять свои функции не только в нормальных условиях, но и при отклонении от нормы. Формирование систем надежности происходит в процессе адаптации, направленной на поддержание постоянства внутренней среды. Если устойчивость повышается в результате предшествующего воздействия, то растения называются акклиматизированными. Адаптация генетически детерминирована и является следствием отбора в течение многих поколений. Акклиматизация же чаще всего не наследуется.

Устойчивость организма обеспечивается совокупностью механизмов: специфических, зависящих от особенностей фактора среды, и общих, неспецифических, характерных для различных воздействий и отражающих свойства самой реагирующей системы. Комплекс неспецифических изменений, возникающих при действии любых неблагоприятных факторов среды, называется *стрессом*, а сами факторы именуются *стрессорами*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АБК - абсцизовая кислота
- АДГ - алкогольдегидрогеназа
- АДФ - аденоzinифосфат
- цАМФ - циклический аденоzinмонофосфат
- АОС - антиоксидантная система
- АТФ - аденоzinтрифосфат
- АФК - активные формы кислорода
- АЦК - аминоцикlopрапанкарбоновая кислота
- БТШ - белки теплового шока
- ВП - вариабельный потенциал
- ГБ - гибереллин
- ГДФ - гуанозинификафат
- ГТФ - гуанозинтрифосфат
- ДАГ - диацилглицерол
- ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИУК - индолилуксусная кислота
- ИФ₃ - инозитолтрифосфат
- ЛДГ - лактатдегидрогеназа
- МДА - малоновый диальдегид
- МДГ - малатдегидрогеназа
- МЭ - малик-энзим
- НАД(Ф) - никотинадениндшгуклеотид (фосфат)
- ПВ - потенциал возбуждения
- ПД - потенциал действия
- ПДК - пируватдекарбоксилаза

- ПК - протеинкиназа
- ПН - пиридиннуклеотиды
- ПОЛ - перекисное окисление липидов
- ПП - потенциал покоя
- ПФП - пентозофосфатный путь
- РНК - рибонуклеиновая кислота
- СВЧ - реакция сверхчувствительности
- СДГ - сукцинатдегидрогеназа
- СОД - супeroxиддисмутаза
- СПУ - системная приобретенная устойчивость
- ТШ - тепловой шок
- ФГА - фосфоглицериновый альдегид
- ФГК - фосфоглицериновая кислота
- ФЛ - фосфолипиды
- ФФК - фосфофруктокиназа
- ЭПР - эндоплазматический ретикулум
- ЭТЦ - электронтранспортная цепь
- АБРЕ - элементы ответа на АБК
- ARE - анаэробные регуляторные элементы (5'- ГТГГ-3'=1/2G-box)
- В ZIP - семейство факторов транскрипции с Leu-zipper motif
- CAM - тип фотосинтеза - Crassulacean Acid Metabolism
- CDPK - Ca-зависимая протеинкиназа
- DRE - элементы ответа на дегидратацию
- DREB 1 и DREB 2 - независимые семейства белков, связывающих элементы ответа на дегидратацию при низкой температуре (1) и засухе или засолении (2)
 - G-белки - ГТФ-зависимые белки
 - GBF-G-box binding factor- ГТФ-зависимые белковые факторы транскрипции
 - GPCR (G-protein coupled receptors) - рецепторы, связанные с ГТФ- зависимыми белками
- LEA-late embryogenesis abundant - белки позднего эмбриогенеза
- МАРК - митоген-активируемая протеинкиназа
- МАРКК - протеинкиназа, фосфорилирующая МАРК
- МАРККК - протеинкиназа, фосфорилирующая МАРКК
- MYB - семейство белковых факторов транскрипции с Trp cluster motif
- MYC- семейство белковых факторов транскрипции с Leu-zipper motif
- PR-pathogenesis related - белки патогенеза
- RAB белки - ABA-responsive proteins - белки, связанные с АБК
- SAR - systemic acquired resistance - системная приобретенная устойчивость
- SHAM - салицилгидроксамовая кислота
- SOURCE-SINK - система донорно-акцепторных отношений

Глава 1 СТРЕСС И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ У РАСТЕНИЙ

Термин "стресс" был введен в 1936 г. канадским физиологом Гансом Селье для обозначения совокупности первичных неспецифических изменений животного организма под влиянием любых внешних воздействий. Исследуя гипофизарно-адренокортикопропную систему у животных, он открыл "синдром болезни" как таковой, т.е. неспецифический ответ организма на любое повреждение, вызванное бактериальной инфекцией, интоксикацией в связи с действием фармакологических и химических веществ, травмами, переохлаждением или ожогами, нервными потрясениями и т.д.

Селье обратил внимание на то, что изменения защитных сил животного (и человека) при различных заболеваниях обычно сопровождаются увеличением содержания в крови кортикостероидных гормонов, мобилизующих обмен веществ. При этом организм, несмотря на изменение своего состояния, приобретает способность сохранять относительную стабильность внутренней среды. Эта реакция была оценена им как адаптивная, т.е. приспособительная реакция целостного организма, и названа *генерализованным адаптационным синдромом*. Согласно Селье, способность к адаптации является наиболее характерной чертой жизни и приспособление всегда возникает в результате концентрации усилий (или напряжения). Отсюда и название "стресс" (англ. stress - напряжение). Подчеркнем, что Г. Селье увидел между неспецифическими признаками определенную связь, отражающую характер защитных реакций организма на воздействие, и понял, что это важнейший биологический феномен, присущий всем живым существам.

По Селье, кривая ответных реакций на воздействие включает три фазы ("триада Селье"): *тревоги, адаптации и истощения* (рис. 1.1). На протяжении триады формируется неспецифическая резистентность, но при увеличении силы эффекта и исчерпании защитных возможностей организма наступает его гибель. В последние годы жизни Селье ввел понятия *эустресс* (положительный стимуляционный стресс) и *дистресс* - патологический. Граница между ними расплывчата и зависит от дозы воздействия и исходной устойчивости организма.

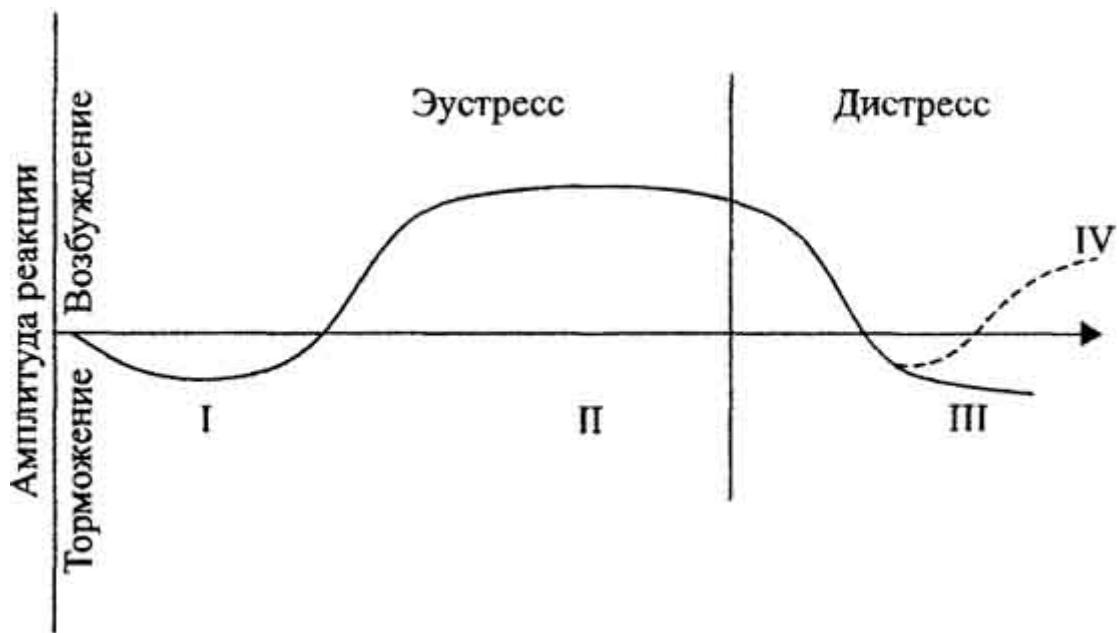


Рис. 1.1. "Триада" Селье и фаза репарации. I - фаза тревоги, II - фаза адаптации, III - фаза истощения, IV - фаза репарации. Объяснения в тексте.

Нельзя, однако, не отметить, что существование общих механизмов восприятия и быстрой реакции организма на внешние воздействия предполагал Клод Бернар в середине XIX в. Представление о фазности ответов организма на воздействия, о неспецифичности реакций нерва и мышцы на различные раздражители до Селье (в начале XX в.) развивал также Н.Е. Введенский. Его учение о парабиозе фактически служит предпосылкой становления теории неспецифического адаптационного синдрома. Им установлены общие закономерности реактивности, а значит, в частности, и стресса как комплекса реакций на раздражители.

1.1. МЕХАНИЗМЫ СТРЕССА

У растений нет нервной системы и, как считалось до последнего времени, нет тех гормонов, которые участвуют в стрессовых реакциях у животных. Поэтому, хотя Селье предполагал возможность стресса у растений, казалась спорной правомерность "автоматического" переноса теории стресса на растительные организмы. Вместе с тем и исключить это было нельзя, поскольку растение, так же как и животный организм, представляет собой саморегулирующуюся биологическую систему.

1.1.1. Особенности неспецифических реакций растений

Впервые понятие о комплексе неспецифических реакций растительной клетки на различные внешние воздействия (кислоты, щелочи, повышенное давление, тяжелые металлы) ввели в 1940 г. Д.Н. Насонов и В.Я. Александров. По их наблюдениям, при этом происходили увеличение вязкости цитоплазмы, повышение кислотности, денатурация белка и т.п. Этот комплекс реакций был назван *паранекрозом*.

Позднее, когда представление о стрессе было расширено и вышло за рамки изменения гормонального обмена, существование неспецифических реакций у растений не вызывало возражений. Формируется даже отдельная область науки - фитострессология. Интерес к изучению реактивности растений связан с тем, что они находятся в постоянно меняющихся условиях. Кроме того, в агрофитоценозах растения подвергаются влиянию необычных для растений соединений, в частности ксенобиотиков.

При сопоставлении фаз триады у растений и животных наибольшие сомнения возникали в идентичности первой фазы. Судя по доминирующим в ней реакциям, она не могла быть названа фазой тревоги. Ее предлагается именовать *первичной индуктивной стрессовой реакцией*. Приведенные ниже первичные неспецифические реакции включаются в виде каскада и касаются интегральных процессов: функций мембран, энергетики, роста, соотношения реакций синтеза и распада.

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^+ -АТФазы ведут к зачислению 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 люцфов тилакоидных мембран. Вслед за фотосинтезом ингибируется дыхание, происходят сдвиги в его структуре, снижается уровень АТФ, активируются свободнорадикальные процессы.

В этот период преобладающими становятся процессы катаболизма, т.е. накапливаются продукты распада. Их роль многообразна, что особенно проявляется в следующей фазе триады. Во-первых, они могут играть роль корректирующего фактора, поскольку в ходе деструкции обеспечивается устранение полимеров с ошибочной или нарушенной структурой. Во-вторых, мономерные соединения могут служить субстратами для синтеза стрессовых белков, фитогормонов и т.д. В-третьих, мономеры используются в качестве субстратов дыхания, с чем связывают их энергетическую роль. 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. Наконец, накапливается все

больше информации 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. И.А. 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 - физиологически активные продукты распада, подобно гормонам животных, оказываются способными выполнять регуляторную функцию в последующей перестройке обмена клеток и организма в целом на новый режим в экстремальных условиях существования.

В первую фазу стресса выявляются сдвиги в гормональном балансе. Несколько возрастает интенсивность синтеза этилена и ингибиторов роста, абсцизовой и жасмоновой кислот. Количество же 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, обнаруживается не активация, а торможение гормонального обмена. В последнее десятилетие в литературе стали появляться данные о содержании в растительных тканях тех же гормонов, которые участвуют в стрессовых реакциях у животных. Обсуждается роль в обмене веществ растений таких известных для животных нейротрансмиттеров, как ацетилхолин, катехоламин, гистамин, серотонин, норадреналин. Их рассматривают в качестве возможных химических медиаторов, регуляторов метаболических процессов при различных неблагоприятных условиях среды. Описаны пути и локализация синтеза этих веществ в растениях. Механизм действия биомедиаторов связывают с возможностью их взаимодействия с обычными фитогормонами растений.

Более того, все больше появляется фактов о сходной с имеющейся у животных передаче сигналов при изменении условий существования растений. Генерируются биоэлектрические импульсы, похожие на потенциал действия нервных клеток, которые могут служить сигналом об изменении внешних условий. Предполагается, что в качестве медиаторов в этом процессе участвуют ацетилхолин и биогенные амины. Способы передачи информации очень напоминают механизмы межклеточной передачи возбуждения в синапсе. Таким образом, определенно прослеживается аналогия в осуществлении первой фазы триады у животных и растений.

Описанные изменения взаимосвязаны и служат пусковым звеном для включения цепи последующих обменных реакций, назначение которых состоит не только в восстановлении исходного состояния клетки, но и в активации обмена веществ.

Во второй фазе триады Селье - *фазе адаптации* - у растений на основании изменений, прошедших 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 в результате гидролиза белка 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 помимо указанных выше растворимых углеводов и их производных обладает синтезируемый при дефиците воды белок осмотин. Продукты деградации гемицеллюлез, 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 (ПОЛ), регуляции pH и т.д. Физиологически активные вещества, способные к регуляции метаболических процессов, имеются и среди продуктов распада липидов.

Следовательно, и во второй фазе включаются защитные реакции, также в значительной степени неспецифичные. Они способствуют более интенсивному синтезу белка и нуклеиновых кислот, за счет образования стрессовых белков - изоферментов усиливается "мощность" ферментных систем. Происходит стабилизация мембран, в результате чего восстанавливается ионный транспорт. Повышаются активность функционирования митохондрий, хлоропластов и соответственно уровень энергообеспечения. Снижается генерация активных форм кислорода, и тормозится ПОЛ. Возрастает роль компенсаторных шунтовых механизмов, например, усиливается активность пентозофосфатного пути дыхания как поставщика восстановителя и пентоз, необходимых для синтезов (в частности, нуклеиновых кислот).

На уровне целостного 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 (притягивающих) центров. Такой механизм позволяет растению формировать в условиях стресса минимальное количество генеративных органов (аттрагирующих центров), 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 устойчивыми, способны дать потомство. Растения, генетически не приспособленные к стрессору, гибнут, устраняются, что ведет к возрастанию общего уровня устойчивости популяции. Таким образом, на популяционном уровне в стрессовую реакцию включается естественный отбор, в результате которого появляются более приспособленные организмы и новые виды. Предпосылкой к этому механизму адаптации служит внутрипопуляционная вариабельность уровня устойчивости к тем или иным факторам или их комплексу.

В условиях возрастания силы эффекта и постепенного исчерпания 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 изменения обмена в стрессовых условиях. Нарушение ультраструктуры основных энергетических генераторов - митохондрий и хлоропластов приводит к энергетическому истощению клетки, что влечет за собой сдвиги физико-химического состояния цитоплазмы. Эти сдвиги, свидетельствующие о сильных, необратимых повреждениях клетки, означают наступление последнего этапа схемы Селье - *фазы истощения*.

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

Исходная устойчивость определяет в значительной мере степень восприятия организмом той или иной "дозы" неблагоприятного воздействия и скорость включения фаз триады. Устойчивость в онтогенезе может меняться: особенно чувствительны к стрессорам растения в ювенильном возрасте (при прорастании), а также при цветении и плодоношении, а наиболее устойчивы в состоянии покоя.

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 сопутствуют слабая освещенность и избыток влаги и т.д. Вместе с тем к стрессу нельзя отнести такие обычные ритмические сдвиги метаболизма, как изменение скорости фотосинтеза, дыхания или транспирации при смене

режима освещения (солнце-тучи, день-ночь) 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 отмечавшиеся при стрессе.

Понятно, что в ответ на действие стрессоров возникают и специфические реакции, характерные для конкретного стрессового воздействия. К ним можно отнести 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 и т.д. Тем не менее именно неспецифические защитные реакции выступают наиболее "экономным" и универсальным средством сохранения равновесия биосистем с внешней средой, обеспечивая их надежность в быстро меняющихся условиях существования. После того как первичная, кратковременная адаптация достигнута и природа стрессора для организма ясна, запускаются механизмы основной фазы адаптации, в которой наряду с большой долей неспецифических реакций обнаруживаются и специфические ответы.

1.1.2. Общая стратегия адаптации растений к различным стрессорам

На всех этапах влияния стрессора отмечаются неспецифические реакции. Кроме того, неспецифичность проявляется и в стратегии включения адаптивных механизмов растений в ответ на воздействие. Эта стратегия, которая раньше других исследователей была предложена Дж. Левштом, состоит прежде всего в попытках организма или избежать неблагоприятного влияния для того, чтобы сохранить динамическое равновесие без серьезных отклонений от обычных условий, или приспособиться к нему (рис. 1.2). Уход от воздействия может быть обеспечен, например, образованием поверхностной корневой системы при недостатке кислорода, опущенностью листьев, их редукцией, опадением или закрыванием устьиц для снижения потери воды при засухе, смешением сроков вегетации и т.п. Если уклониться от стрессовых воздействий оказывается невозможным, организму приходится приспосабливаться иными путями к существованию в изменившихся условиях.



Рис. 1.2. пути адаптации растений к стрессорам

Один из таких способов состоит в торможении обмена веществ, поскольку при этом чувствительность объекта падает. Как указывалось выше, хорошо известно, что наиболее устойчивы растения в покоящемся состоянии (семена, луковицы, клубни). Другой путь для преодоления стрессовых воздействий - изменение обмена веществ, т.е. возникновение метаболических приспособлений. Последние требуют больших энергетических затрат, так как связаны с включением репараторных (восстановительных) механизмов, направленных

на предотвращение или исправление повреждения. Ввод в действие такого комплекса защитных реакций способствует поддержанию и удлинению фазы адаптации.

Следует отметить, что тот или иной набор защитных реакций имеется у любого растения независимо от его приспособленности. Однако степень сопротивляемости растений фактору оказывается решающей в их стрессовой реакции. У неустойчивых растений такие реакции, быстро вступая в действие, оказываются кратковременными и неспособными предохранить организм от гибели. Особо чувствительные организмы могут погибать даже в начале неблагоприятного воздействия - в первую фазу триады, т.е. до наступления фазы адаптации. Переход на новый режим устойчивых объектов, в отличие от неустойчивых, происходит постепенно, но при этом обеспечивается более длительное поддержание равновесного состояния обмена веществ.

Таким образом, разные по устойчивости растения могут реагировать на воздействие однотипно, но скорость и амплитуда физиологических перестроек у них различаются. В результате у организмов, устойчивых к стрессору, временные рамки фазы адаптации, когда сохраняется гомеостаз и возможна репарация изменений при возвращении в нормальные условия, оказываются значительно шире, чем у неустойчивых. Поэтому у неприспособленных растений гораздо раньше истощаются приспособительные возможности и возникают необратимые изменения.

1.1.3. Надежность

При усилении действия стрессоров увеличивается частота нарушений в работе систем жизнеобеспечения, что свидетельствует о снижении надежности организма. Рассмотрению понятия надежности и созданию теории надежности стало уделяться внимание лишь в последние десятилетия. Важная роль в изучении этих вопросов у растений принадлежит Д.М. Гродзинскому.

Надежность - предмет исследования теоретической биологии, занимающейся интеграцией биологических процессов в различных аспектах. Основные термины заимствованы из инженерной теории надежности. Однако если в технике надежные механизмы выбирает человек, то надежность биологических систем выявляется в процессе естественного отбора. Надежность живых систем обеспечивается их гибкостью, регуляторностью, целесообразностью и мультифункциональностью, в то время как в небиологических системах надежность связывают обычно с прочностью и жесткостью связей. В результате живые системы оказываются более надежными, чем неживые.

Высокая надежность свойственна сине-зеленым водорослям, способным обитать в кипящих гейзерах и переносить высокие дозы радиации; лишайникам, выдерживающим и перегрев, и обезвоживание; спорам многих грибов, стойким к высокой температуре, охлаждению, ультрафиолетовым лучам. Дикие растения отличаются от культурных природной надежностью. В процессе селекции на высокую урожайность человек лишил растение многих преимуществ, которыми наделила их природа. Поэтому у культурных растений природная надежность заменена системой надежности, обеспечивающей человеком. Если в технике замена нарушенных конструкций проводится при поломке, то в живых системах процесс самообновления происходит постоянно, а не только после их повреждения.

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 с учетом иерархии биологических систем: на субклеточном уровне, на уровне клетки, ткани, организма, в фитоценозе. На всех уровнях иерархии 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. Это более тонкий механизм, чем резервирование.

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

Рассмотрим, как эти способы обеспечивают надежность систем на разных уровнях иерархии. На субклеточном уровне повышению надежности растительного организма способствуют резервирование и дублирование генетического материала, что обеспечивается, например, двойной спиралью ДНК, увеличением пloidности, т.е. количества геномов внутри ядра. Благодаря разнообразным молекулам информационной РНК образуются гетерогенные полипептиды, что повышает надежность работы клетки в изменившихся условиях среды. Восстановлению нарушенных функций помогает механизм поиска повреждений - коррекции ДНК.

Надежности функционирования целой клетки способствуют также избыточное, по сравнению с необходимым для нормальной жизнедеятельности, содержание веществ; многообразные обходные пути метаболизма; пространственное разобщение запасов соединений, обеспечивающих отдельные метаболические системы клетки, и т.д. Репарация нарушений в клетке достигается устранением возникших сбоев не только после, но и во время воздействия и повышением устойчивости. Механизм репарации может быть связан, например, с обновлением белка или синтезом стрессовых белков.

Появление многоклеточных организмов в эволюции означало повышение надежности, так как создавались гетерогенные специализированные клетки и ткани, что лучше обеспечивало резервирование метаболитов, совершенствовало системы репарации и регуляции функций. Способы проявления надежности на уровне организма выражаются и в развитии замещающих побегов, пробуждении пазушных почек, в разновременной закладке большего, чем требуется для смены поколений, числа побегов, цветков, в огромном количестве пыльцы, колосков, семян. Таким образом, для решения проблем надежности, так же как это было отмечено для стресса и устойчивости, используются общие пути и принципы, хотя механизмы обеспечения ее на каждом из уровней иерархии многообразны и направлены на выполнение специальных задач.

1.1.4. Закаливание растений и устойчивость. Сопряженная устойчивость

Становление систем адаптации происходит в процессе эволюции, однако, зная механизмы этого процесса, путем целенаправленного закаливания (акклиматации) организмов можно повысить их устойчивость в ходе онтогенеза. Этому способствуют повторяющиеся в невысоких дозах стрессовые воздействия, к которым проводится закалка. В том же направлении действует введение защитных веществ, нормализующих обмен (АТФ, моносахаров при нарушении метаболизма, мембранотропных соединений, т.е. способствующих стабилизации мембран, при их разрушении). При закаливании растения проходят фазу эустресса, во время действия которого закладываются механизмы адаптации. Понятно, что положительный эффект закалок достигается в определенных границах воздействий, когда растения находятся в фазе адаптации, но никак не истощения.

Отметим, что и при закалках проявляется неспецифическая устойчивость, поэтому закаливание к одному агенту может повышать стойкость и к некоторым другим стрессорам. П.А. Генкель назвал это явление *сопряженной устойчивостью*. Например, закаливание озимой пшеницы к низкой температуре ведет к возрастанию стойкости ее и к недостатку кислорода, который испытывают растения при образовании на озимых посевах ледяной корки. Хорошо известна положительная роль солевой обработки в повышении ус-

стойчивости растений к высокой температуре, засухе и даже затоплению, что объясняется нормализацией водного режима, который обычно нарушается при всех этих воздействиях.

Таким образом, при использовании метода закаливания в практических целях важно представлять себе весь комплекс изменений, в ходе которых формируется устойчивость организма в естественных условиях обитания.

1.2. СИСТЕМЫ РЕГУЛЯЦИИ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Во время переключения обмена веществ на новый режим при стрессовых воздействиях резервные возможности организма объединяются благодаря системам регуляции (рис. 1.3). Для координации функциональной активности клетки в нормальных и неблагоприятных условиях среды необходим аппарат регуляции, включающий тесно связанные между собой генетическую, метаболическую (ферментную) и мембранные системы. Взаимодействию различных органов растений способствуют межклеточные дистанционные системы: гормональная, трофическая, электрофизиологическая.



Рис. 1.3. Система регуляции у растений

1.2.1. Перцепция и трансдукция сигнала

Обязательное условие работы систем регуляции состоит в восприятии (рецепции или перцепции), передаче и преобразовании (трансдукции) внешних сигналов, что опосредуется специальными рецепторами белковой природы. Механизмы этой передачи, или сигнальной трансдукции, - предмет новой области биохимии, получившей название "клеточная сигнализация" (англ. cell signaling). Она включает исследование молекулярных механизмов регуляции клеточного метаболизма внешними сигналами. Понятие "клеточная сигнализация" подразумевает не только передачу сигналов на генетический аппарат клетки, но и весь комплекс событий, с ней сопряженных (усиление, ослабление, подавление сигналов). Например, взаимодействие одной сигнальной молекулы с рецептором может привести к появлению миллионов молекул, определяющих ответную реакцию клетки. Прежде чем перейти к рассмотрению процессов перцепции и трансдукции различных сигналов внешней среды, необходимо остановиться на отдельных компонентах этих систем.

Основные типы мембранных рецепторов

В основе всех форм внутриклеточной регуляции лежит единый первичный рецепторно-конформационный принцип: белковая молекула - receptor "узнает" специфический для нее фактор и, взаимодействуя с ним, изменяет свою конформацию. Существуют три основных типа receptorов, интегрированных во внешнюю клеточную мембрану: 1) receptorы, сопряженные с G-белками; 2) receptorы - ионные каналы; 3) receptorы, ассоциированные с ферментами. Вещества, инициирующие трансмембранный передачу сигналов, активируют receptorы, после чего активированный receptor передает сигнал к внутриклеточным мишениям. Если мишень, или effекторный белок представлен ферментом, то сигнал модулирует (увеличивает или уменьшает) его каталитическую активность; если effекторным белком служит ионный канал, то модулируется проводимость этого канала. Во всех случаях результатом будет изменение активности какой-то метаболической стадии либо цитоплазматической концентрации того или иного иона и, как следствие, возникновение клеточного ответа.

Receptorы, сопряженные с G-белками (такие receptorы обозначают GPCR - G-protein coupled receptors), передают сигнал к внутренним мишениям с помощью каскада GPCR- G-белок- effекторный белок (рис. 1.4, а). Эти ГТФ-связывающие белки меняют конформацию при связывании с ГТФ или ГДФ. Изучены они в основном на животных. Представляют собой гетеротримерные белки (рис. 1.5), состоящие из трех различных субъединиц: G_α (45-55 кД), G_β (35 кД) и G_γ (8 кД). Три-меры могут взаимодействовать с receptorом. Субъединица G_α имеет связывающие центры и с ГТФ, и с ГДФ. Связывание с ГТФ ведет к изменению конформации G_α и отделению субъединицы от тримера. Связанная с ГТФ субъединица G_α функционирует как активатор энзимов, играющих роль посредников в передаче сигналов. Так, в животных клетках G_α-ГТФ стимулирует аденилатциклазу, катализирующую синтез цАМФ из АТФ. Однако для растений участие цАМФ в сигнальной трансдукции пока не установлено. Первичными сигналами для этих receptorов служат разнообразные молекулы, в том числе гормоны, действующие обычно при очень низких концентрациях, порядка 10⁻⁸ моль/л и ниже. Один и тот же первичный сигнал может инициировать передачу сигнала через несколько разных GPCR, так что если число внешних сигналов для GPCR составляет несколько десятков, то таких receptorов известно более 200. При всем разнообразии GPCR они представляют собой мономерные интегральные мембранные белки, полипептидная цепь которых несколько раз пересекает клеточную мембрану. Во всех случаях участок receptorа, ответственный за взаимодействие с первичным сигналом, локализован на внешней стороне мембраны, а участок, контактирующий с G-белком, на ее цитоплазматической стороне.

Receptorы - ионные каналы - это интегральные мембранные белки, состоящие из нескольких субъединиц, полипептидная цепь которых так же, как и у связанных с G-белками, несколько раз пересекает мембрану. Они действуют одновременно как ионные каналы и как receptorы, которые способны специфически связывать с внешней стороны первичные сигналы, изменяющие их ионную (катионную или анионную в зависимости от типа receptorа) проводимость (рис. 1.4, б). В отсутствие сигнала канал закрыт, он открывается при связывании с receptorом.

У receptorов, ассоциированных с ферментом, участок для связывания первичного сигнала локализован на той стороне, которая обращена во внеклеточное пространство. По механизму взаимодействия с цитоплазматическими мишениями эти receptorы разделяются на две группы. У receptorов одной группы каталитический участок, активируемый при действии внешнего сигнала, находится на цитоплазматической стороне (рис. 1.4, в, слева). receptorы данного типа участвуют в регуляции водно-солевого ответа. receptorы другой группы собственной ферментативной активностью не обладают (рис. 1.4, в, справа). Однако под действием внешнего сигнала, как показано для животных, они приобретают способность связывать цитоплазматические (нерецепторные) протеинкиназы, которые в свободном состоянии неактивны, но в комплексе с receptorом активируются и фосфорилируют его. Включение фосфатных остатков в такой receptor- "якорь" создает

условия для связывания с ним других белков-мишеней, которые также фосфорилируются и тем самым передают сигнал дальше в систему трансдукции.

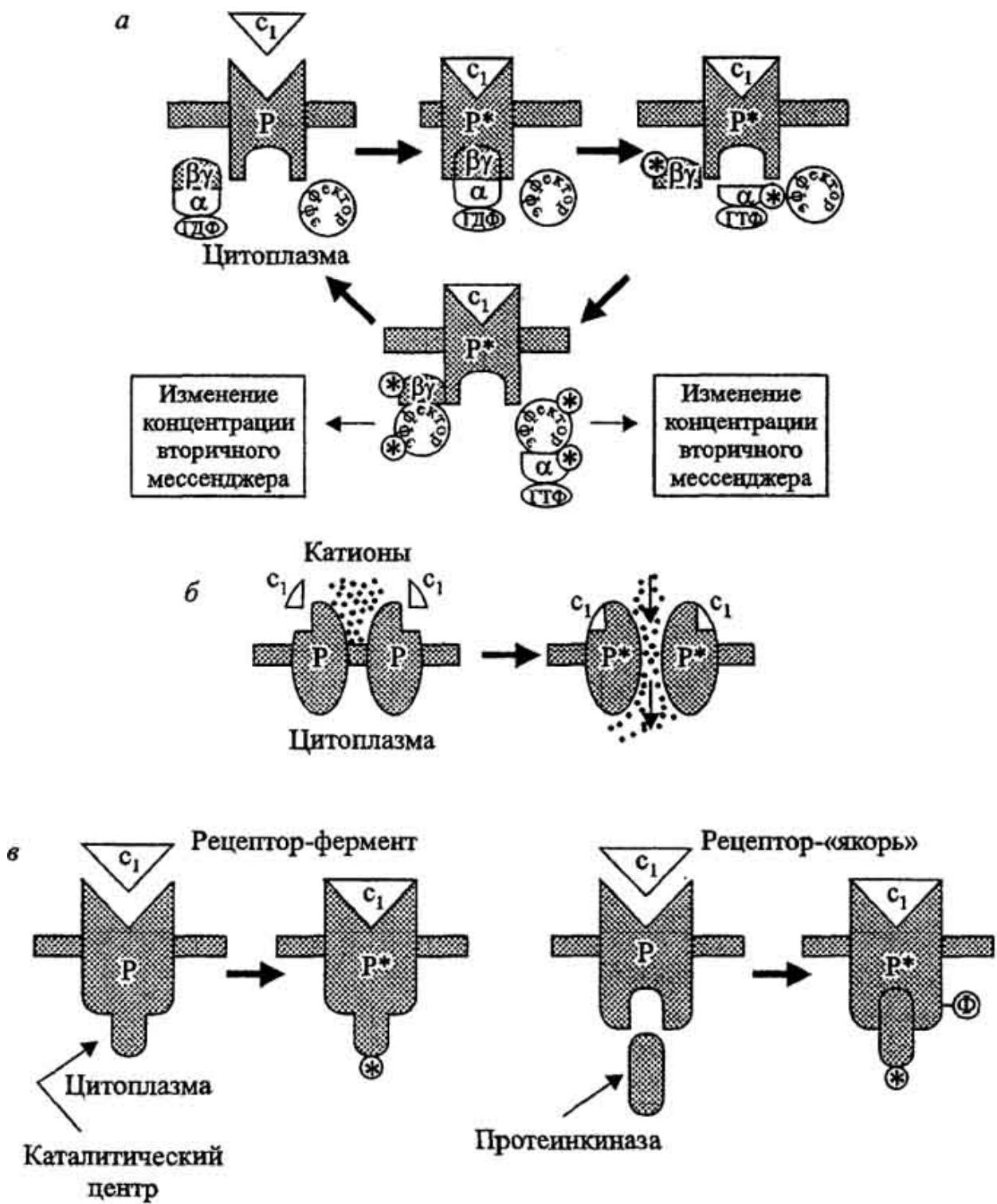


Рис. 1.4. Основные типы мембранных рецепторов [по: П.П. Филиппов, 1998].

c₁ - внешний сигнал; R - рецепторный белок; звездочкой отмечены компоненты сигнальной системы в состоянии "включено"; α - субъединица G-белка, которая находится в связанной с ГДФ или ГТФ форме; комплекс α β γ - субъединицы G-белка; Ф - фосфатный остаток, ковалентно связанный с рецептором; a - рецепторы, сопряженные с G-белками; б - рецепторы - ионные каналы; в - рецепторы, ассоциированные с ферментами. Объяснения в тексте.

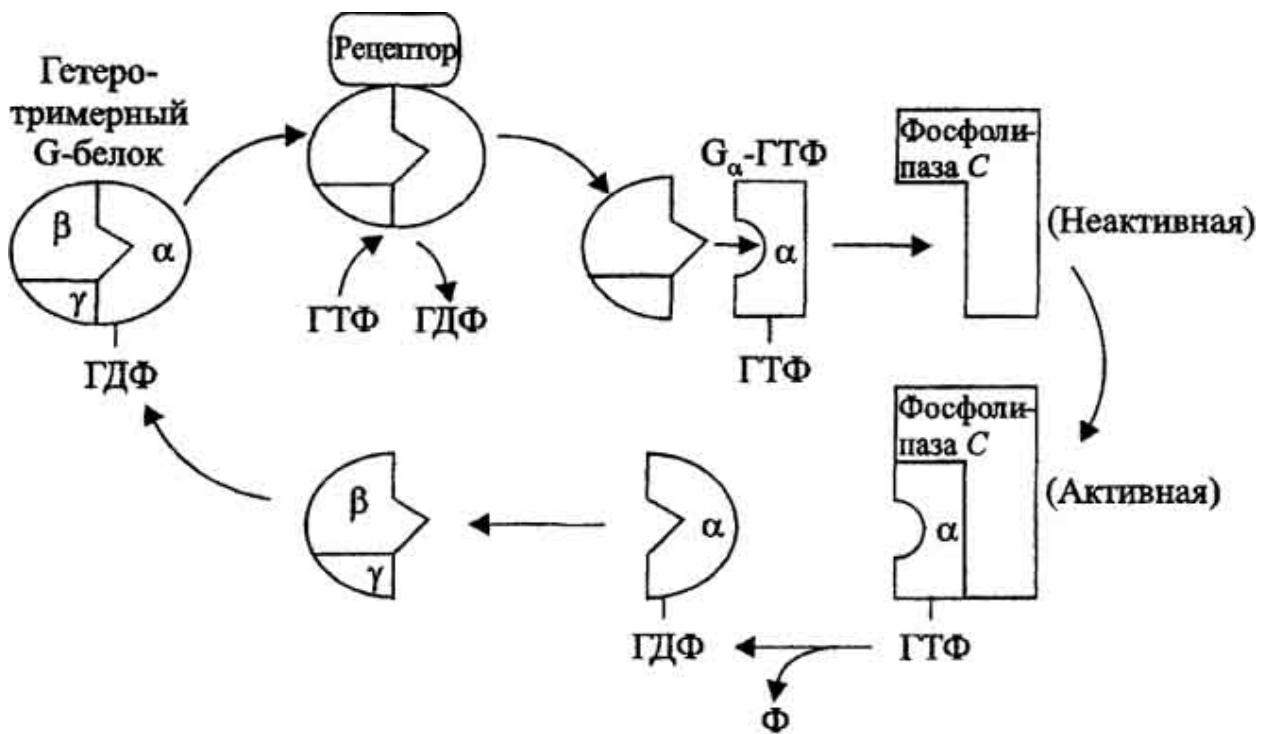


Рис. 1.5. Схема функционирования G-белка по аналогии с метаболизмом животных. Обозначения те же, что на рис. 1.4.

Компоненты сигнальной трансдукции

Передача и преобразование сигналов от рецепторов к внутриклеточным мишеням происходят с помощью нескольких белковых компонентов, совокупность которых называют каскадом передачи сигналов. Помимо белковых посредников в передачу сигналов вовлекаются и относительно небольшие молекулы, служащие вторичными сигналами. Это вторичные посредники, или мессенджеры. Разница функций белковых и небелковых посредников состоит в том, что белки образуют своеобразную молекулярную машину, которая, с одной стороны, чувствительна к внешнему сигналу, а с другой - обладает ферментативной или иной активностью, модулируемой этим сигналом, в то время как малые молекулы (например, ионы кальция), действительно, служат посыльными (мессенджерами) между различными белками, полиферментными комплексами или клеточными структурами.

G-белки. Воспринимаемый GPCR сигнал передается на G-белок. Это может быть активирование ГТФ-зависимой G_{α} фосфолипазы C (рис. 1.5). Фосфолипазы (A_1 , A_2 , C , D) различаются в зависимости от того, куда направлено их действие в молекуле фосфолипида (рис. 1.6). С активированием фосфолипазы C связано освобождение кальция как посредника сигнальной трансдукции. Связь G_{α} с ГТФ уже через несколько минут гидролизуется ГТФазой до ГДФ, в результате меняется конформационное состояние белка и активаторная функция его теряется. Однако G_{α} может снова войти в состав тримера, и цикл будет повторен. Несмотря на кратковременность жизни сигнала, а также посредников, участвующих в его дальнейшей передаче, процесс его трансдукции очень эффективен.

Как отмечалось выше, при передаче сигнала в каскаде от рецептора через G-белок до эффекторного белка (например, энзима) исходный внешний сигнал многократно усиливается, поскольку одна молекула рецептора за время пребывания в активированном состоянии успевает перевести в активированную форму несколько молекул G-белка. У эукариотов имеются также малые G-белки (Ras-белки), которые состоят из одной субъединицы и действуют как молекулярные переключатели, подобно большим G-белкам.

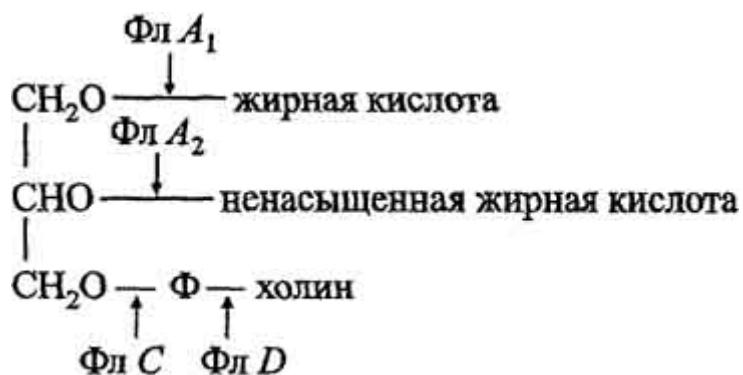


Рис. 1.6. Обозначения фосфолипаз (Фл) в зависимости от локализации их действия в молекуле фосфолипида

Ионы кальция. К характерным свойствам вторичного мессенджера, роль которого играют ионы кальция, относится его небольшая по сравнению с биополимерами молекулярная масса, что необходимо для высокой скорости диффундирования в цитоплазме. Кроме того, мессенджер должен быстро расщепляться или удаляться. Иначе сигнальная система может остаться во включенном состоянии после того, как действие внешнего сигнала прекратится.

Сигналы индуцируют открытие кальциевых каналов, концентрация кальция в цитозоле резко возрастает, что стимулирует активность почти всех участвующих в регуляции энзимов. Снижение концентрации Ca^{2+} в цитозоле обеспечивается благодаря работе АТФ-зависимых кальциевых насосов (рис. 1.7), которые способствуют накоплению кальция в вакуоли или транспорту через плазмалемму в клеточную стенку.

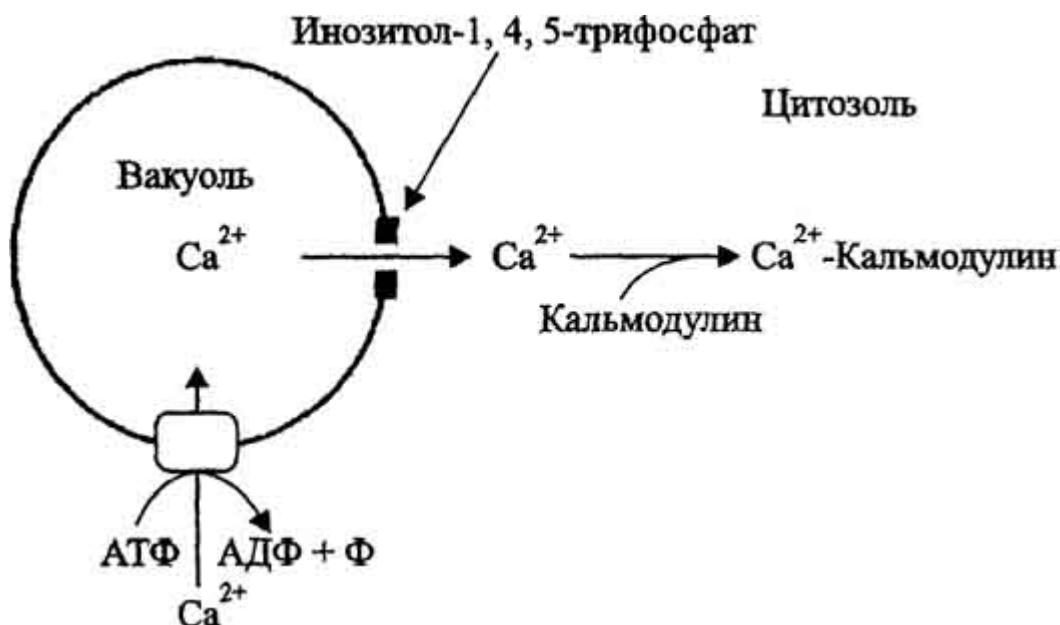


Рис. 1.7. Действие АТФ-зависимого транслокатора ионов Ca^{2+} . Объяснения в тексте.

Роль фосфоинозитольного пути. Кальциевые каналы контролируются фосфоинозитольным каскадом сигнальной трансдукции (рис. 1.7; 1.8). Фосфатидилинозитол- компонент мембран, в животных клетках включает две жирные кислоты: стеариновую и арахидоновую. Инозитольный остаток фосфорилируется киназой по гидроксильным группам в положениях 4 и 5. Фосфолипаза C , стимулированная G-белком, расщепляет липид на 1,4,5-трифосфат (ИФ_3) и диацилглицерол (ДАГ). Эти соединения тоже участвуют в сиг-

нальной трансдукции: ИФ₃ открывает кальциевые каналы (рис. 1.7), а ДАТ активирует Са²⁺-зависимую протеинкиназу. Быстрый вход ионов кальция в цитозоль лимитируется краткой жизнью ИФ₃ (в животных клетках меньше 1 с). Моментальный распад ИФ₃ связан или с его дальнейшим фосфорилированием, или с гидролизом фосфатных групп фосфатазой (рис. 1.8). Две гидроксильные группы остатка инозитола мембранных фосфолипида фосфорилируются киназой, в результате чего ИФ₃ освобождается зависимой от G-белка фосфолипазой C. Фосфат отделяется с помощью фосфатазы от ИФ₃, который превращается в неактивный инозитол. У растений компоненты фосфоинозитольного каскада также идентифицированы и показана их важная роль в передаче сигналов.

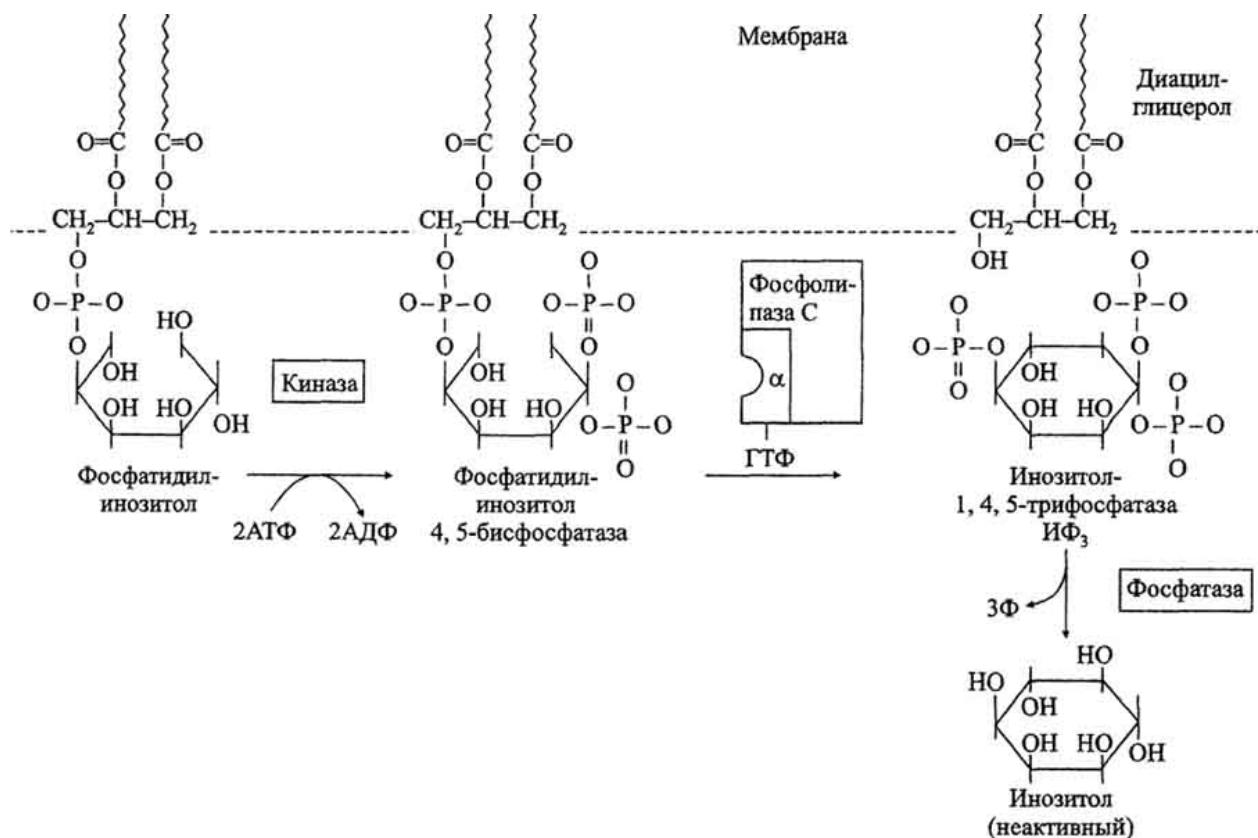


Рис. 1.8. Роль инозитол-3-фосфата (ИФ₃) в передаче сигналов (в животных тканях). Объяснения в тексте.

Участие кальмодулина. Часто кальций действует как посредник только после взаимодействия с кальмодулином (рис. 1.7), растворимым цитозольным белком (17 кД), встречающимся и у животных, и у растений. Кальмодулин отличается высокой консервативностью, например, у пшеницы и коровы эти белки гомологичны на 90%. Он состоит из двух доменов, связанных гибкой α-спиралью. Каждый домен содержит два центра связывания Са²⁺ (рис. 1.9). Взаимодействие Са²⁺ со всеми четырьмя связывающими его центрами приводит к изменению конформации кальмодулина, в результате он образует комплекс с протеинкиназами, которые, в свою очередь, активируются.

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 зависит от фосфорилирования. Протеинкиназы исследовались в основном у дрожжей и животных.



Рис. 1.9. Роль кальмодулина в активации протеинкиназ

У эукариот большая часть протеинкиназ фосфорилирует ОН-группы сериновых или треониновых, а также тирозиновых остатков белков. В регуляторных процессах протеинкиназы образуют каскад взаимосвязанных реакций. Известны протеинкиназы *A* - цАМФ-зависимые, которые относятся к аденилатциклазному сигнальному каскаду; протеинкиназы *C*- Ca^{2+} -фосфолипидзависимые пируваткиназы, активируемые ДАГ, Ca^{2+} и фосфолипидами и включенные в фосфоинозитольный каскад; протеинкиназы *G* - цГМФ-зависимые; протеинкиназы Ca^{2+} -кальмодулинзависимые. Киназы МАРкиназного каскада работают следующим образом: митоген-активируемая протеинкиназа (МАРК) активируется МАРК-зависимой протеинкиназой (МАРКК), а последняя активируется МАРКК-зависимой пируваткиназой (МАРККК). У растений в настоящее время идентифицированы гены около 100 протеинкиназ, в том числе несколько Ca^{2+} -зависимых и Ca^{2+} -кальмодулин зависимых, но физиологические функции установлены лишь у некоторых из них.

Уровни восприятия и передачи сигналов. У многоклеточных организмов выделяют два 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 процессами пролиферации клеток и естественной гибелью - апоптозом. При стрессовых воздействиях это равновесие может быть нарушено, что приводит к преобладанию апоптоза и дегенерации тканей.

1.2.2. Генетическая регуляция

Воспринятый клеткой сигнал передается в ядро. Выделяют несколько уровней регуляции клеточного ответа. Во-первых, уровень транскрипции, когда регулируется как собственно транскрипция, так и последующий процессинг (созревание) предшественника информационной РНК, а также деградация предшественника иРНК. Во-вторых, уровень трансляции: регуляции может подвергаться собственно синтез белка, его последующий процессинг либо деградация предшественника или самого белка после завершения процессинга. В-третьих, уровень зрелых белков. Такая регуляция может реализовываться в процессах фосфорилирования-дефосфорилирования белков, а значит, и в изменении их свойств, в сдвигах каталитической активности под действием вторичных мессенджеров, модуляции свойств белков в результате белок-белковых взаимодействий. 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 три основных варианта такого взаимодействия (рис. 1.10).

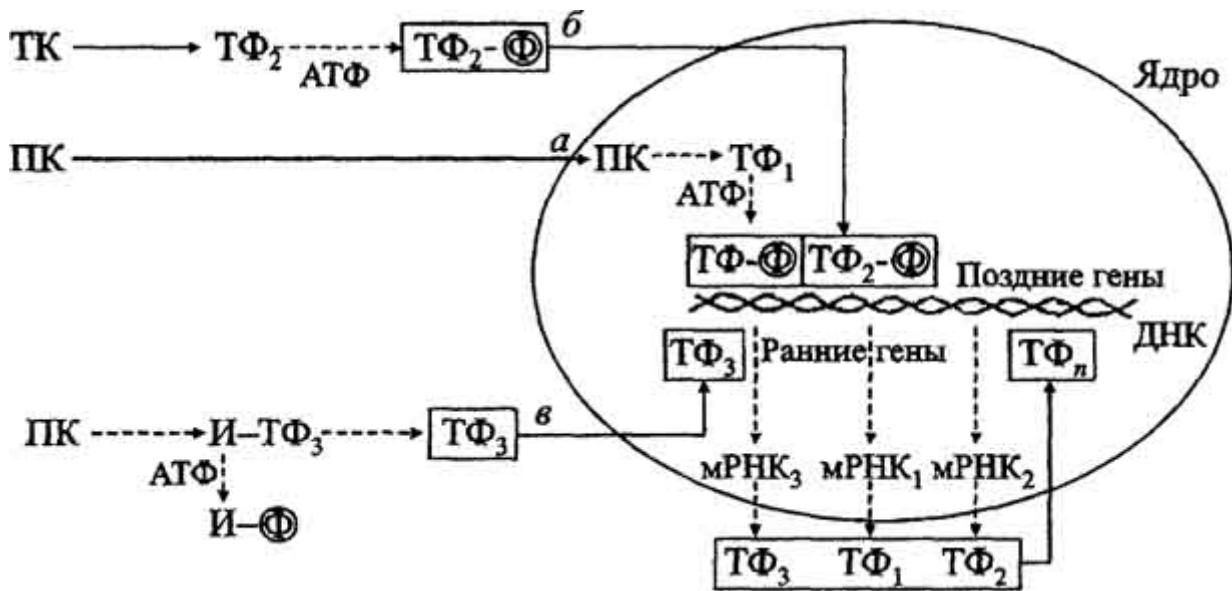


Рис. 1.10. Основные пути передачи сигнала из цитозоля в ядро [по: В.И. Кулинский, 1997].

ТФ - транскрипционный фактор, ПК - протеинкиназа, Φ - остаток фосфата, И - ингибитор, ТК - тирозинкиназа; сплошная линия - транслокация сигнальной молекулы в ядро, штриховая - другие варианты передачи сигнала. Объяснения в тексте.

В первом из них (рис. 1.10, а) в ядро проникают цитозольные протеинкиназы, например МАР-киназа или катализическая субъединица протеинкиназы А. В ядре они фосфорилируют один (или более) внутриядерный транскрипционный фактор (регуляторный белок), что изменяет его сродство к ДНК и/или степень его активности. Например, протеинкиназа А участвует в развитии клеток, синтезе гормонов и поддержании суточного ритма. Во втором варианте (рис. 1.10, б) 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. В третьем варианте (рис. 1.10, в) 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, все три варианта 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, т.е. генов, ответственных за быстрые (в пределах 15 мин) ответы клетки. Возникающие мРНК определяют синтез белковых продуктов ранних генов, которые становятся новыми транскрипционными факторами. Последние стимулируют поздние гены, активность которых реализуется в течение нескольких часов и суток.

Рассмотренные пути перцепции и трансдукции сигналов используются и при воздействии стрессовых факторов. Восприятие и передача стрессового сигнала (засуха) в ядро (рис. 1.11) осуществляются следующим образом. Рецептор, локализованный на плазматической мембране, принимает сигнал и передает его через систему интермедиаторов - трансдукторов сигнала. Протеинкиназы и фосфатазы или сами фосфорилируют транс-

крипционные факторы в ядре, или фосфорилированные ими белки, проникая в ядро, взаимодействуют с факторами транскрипции. Это приводит к активированию стресс-индуцируемого гена и, как следствие, к синтезу мРНК и стрессовых белков (при засухе - осмотина), способствующих повышению устойчивости растения.

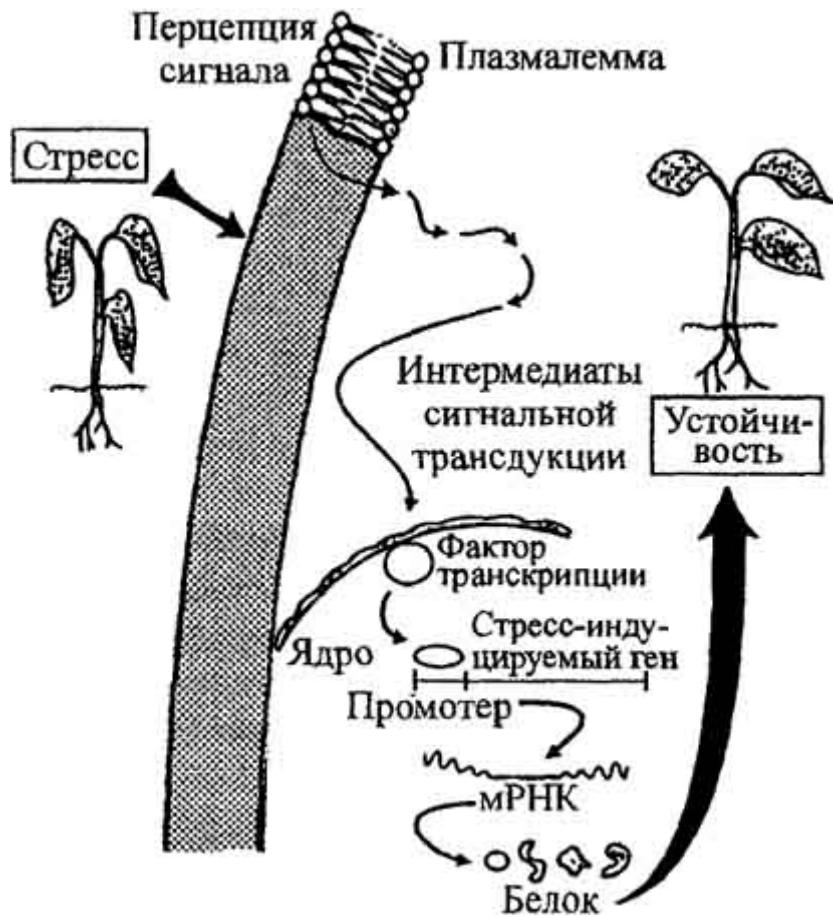


Рис. 1.11. Роль перцепции и трансдукции стрессового сигнала в активации генома

1.2.3. Метаболическая регуляция на примере регуляции pH

Метаболическую систему регуляции, которая основана на изменении активности ферментов, называют также ферментной. Поскольку активность ферментов зависит от pH, а влияние стрессоров приводит обычно к снижению pH цитоплазмы, регуляция внутриклеточного pH в условиях стресса приобретает особое значение. Поэтому важно рассмотреть роль метаболической системы регуляции на примере поддержания pH-гомеостаза клетки.

У растений за эту регуляцию отвечают два механизма: биофизический - электрогенная АТФ-зависимая протонная помпа, с помощью которой ионы водорода выводятся через мембранны наружу против электрохимического градиента, и биохимический: pH-чувствительные процессы карбоксилирования и декарбоксилирования органических кислот, в ходе которых продуцируется или потребляется протон.

Градиенты pH и мембранный потенциала генерируются электрогенной H⁺-помпой, что является движущей силой вторичного активного транспорта, такого как H-субстратный симпорт и H⁺-субстратный антипорт. Поскольку этот вторичный транспорт переносит протоны в цитоплазму, всегда существует потенциальная опасность ее подкисления, несмотря на то что их выбрасывает протонная помпа плазматической мембранны. Действительно, закисление цитоплазмы возможно не только при стрессовых воздействиях, которые ингибируют протонную помпу, но и в нормальных физиологических условиях.

ях, когда вход протонов преобладает над их выходом. Вероятно, поэтому растительные клетки приобрели уникальный биохимический pH-стат для поддержания протонного гомеостаза.

Классический pH-стат состоит из комплекса карбоксилирующих (ФЕП-карбоксилаза) и декарбоксилирующих (НАД-малик-энзим) ферментов, различающихся по pH-оптимуму (рис. 1.12). Когда pH цитоплазмы приобретает щелочное значение, активируется ФЕП-карбоксилаза, оптимум pH 8, что ведет к увеличению продукции оксалоацетата (ОА), который восстанавливается до малата малатдегидрогеназой (МДГ). Малат, как сильная кислота, нейтрализует pH. Когда pH сдвигается в кислую сторону, НАД-малик-энзим (МЭ), оптимум pH 6, декарбоксилирует малат и pH сдвигается в щелочную сторону. Таким образом, происходит регуляция pH цитоплазмы благодаря синтезу или распаду малата путем координации работы двух энзимов.

Однако, судя по результатам детальных исследований последних лет, система биохимического pH-стата не способна выполнить ожидаемую роль и требует существенного дополнения, включающего пути дыхания, альтернативные известным (рис. 1.12). В дополнение к обычному для всех организмов пути гликолиза через пируваткиназу (ПК) - единственному в нерастительных организмах, растения обладают упомянутым выше альтернативным путем через ФЕП-карбоксилазу, МДГ и малик-энзим. Одна из физиологических функций этого пути предназначена для перекрывания реакции пируваткиназы при недостатке неорганического фосфора (Фн).

Другая уникальная особенность гликолиза у растений состоит в способе его контроля. Если в нерастительных системах гликолитический поток контролируется путем активации или ингибирования первого ключевого фермента - фосфофруктокиназы (ФФК) с помощью ряда эффекторов, то у растений регуляция происходит по принципу обратной связи: потребление ФЕП или пируваткиназой, или ФЕП-карбоксилазой ведет к ингибированию реакций в направлении основного энзима гликолиза - ФФК. Более того, Фн - другой продукт ФЕП-карбоксилазной реакции, аллостерически также активирующий ФФК, вместе с тем облегчает ее ФЕП-ингибирование, так как участвует в реакции использования ФЕП (рис. 1.12). С помощью обратной связи контролируется удаление "липших" протонов, поскольку протоногенный гликолиз может протекать только тогда, когда цитоплазма подщелачивается, что, в свою очередь, активирует и ФЕП-карбоксилазу. Такая ситуация в аэробных условиях возникает в том случае, когда экссудация протонов H^+ -помпой активируется повышением концентрации ионов калия снаружи. Пируваткиназа же активируется пониженным pH, например, в анаэробных условиях или при активном ионном транспорте. По-видимому, при возникновении особой потребности в энергии растительные клетки готовы пойти на ацидофикацию цитоплазмы, которая может быть компенсирована "открыванием шлагбаума" для гликолиза через ФЕП-карбоксилазу. Далее, как указано выше, образуется оксалоацетат (ОА), который в МДГ-реакции восстанавливается до малата. При декарбоксилировании малата НАД-малик-энзимом образуются пируват, НАДН и углекислота. Эти продукты служат регуляторами путей дыхания по принципу обратной связи.

Пируват должен окисляться в цикле Кребса, но он выполняет не только функции дыхательного интермедиата, его роль значительно шире. Он аллостерически регулирует распределение электронов между цитохромным путем и альтернативным, нечувствительным к цианиду, наряду с регуляцией через SH-SS-редокс-систему. НАДН поступает как в основную ЭТЦ дыхания, так и в альтернативный путь с альтернативной оксидазой (АО). Однако углекислота - продукт той же малик-энзимной реакции, при низкой концентрации ингибирует цитохромный путь. Поэтому в альтернативный путь поступает больше электронов и протонов. Таким образом, в том случае когда альтернативный путь связан с малик-энзимной реакцией, он приобретает преимущества в потреблении протонов. В результате осуществляется тесная связь альтернативного пути с малик-энзимом: низкое значение pH активирует малик-энзим, а альтернативный путь резервирует его продукты для окис-

ления. Независимый от контроля энергетического заряда альтернативный путь способен в течение короткого времени реагировать на сдвиги pH, что весьма важно, поскольку в ситуациях, требующих pH-регуляции, необходима быстрая реакция клетки. Предполагается, что уникальность (только у растений) альтернативного пути дыхания связана именно с участием его в pH-стаде. Этот путь электронов, не сопряженный с образованием энергии, обычно активируется при стрессовых условиях.

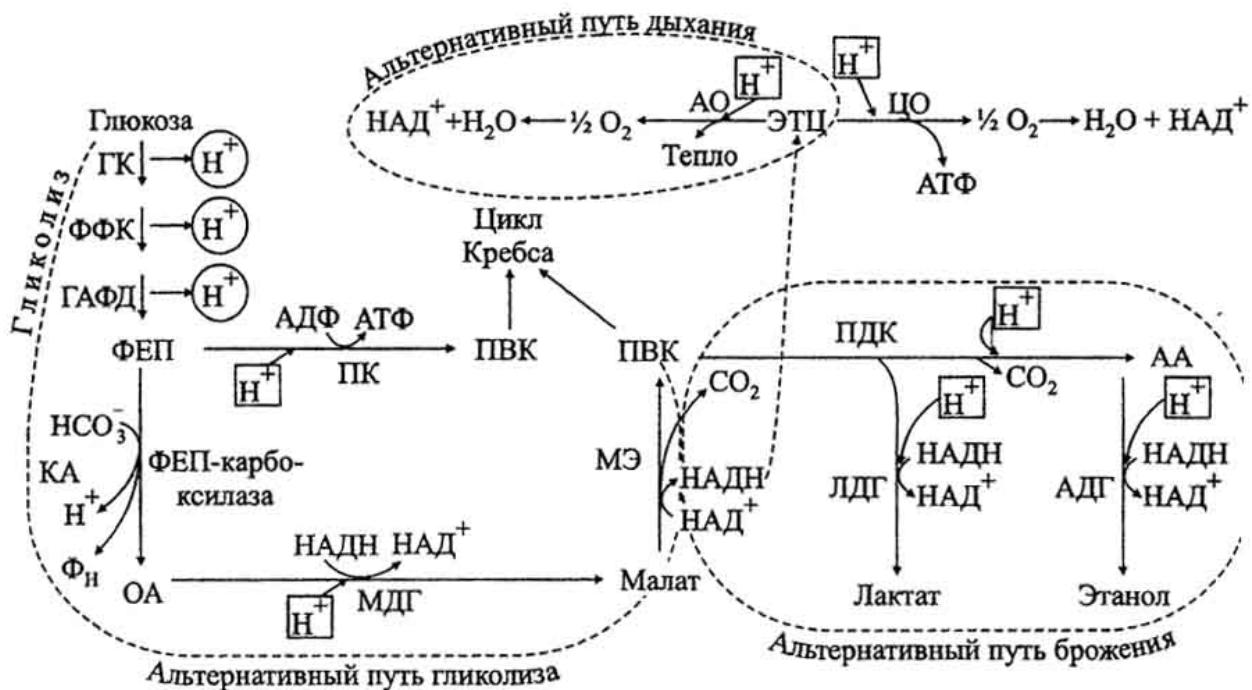


Рис. 1.12. Структурам функции биохимического pH-стата [по: K. Sakano, 1998].

ГК - гексокиназа, ФФК - фософруктокиназа, ГАФД - глицеральдегид-фосфат-альдегидогеназа, КА - карбоангидраза, ПК - пируваткиназа, АА - ацетальдегид, АО - альтернативная оксидаза, ЦО - цитохромоксидаза, ЛДГ - лактатдегидрогеназа, ПДК - пируватдекарбоксилаза, АДГ - алкогольде-гидрогеназа, ФЕП - фосфоенолпируват, МЭ - малик-энзим, H^+ - образование протонов, H^- - потребление протонов. Объяснения в тексте.

В анаэробных условиях пируват может использоваться в реакциях ЛДГ или ПДК и АДГ с образованием лактата или этанола. При этом происходит регенерация НАД⁺ и образуется Н⁺. При синтезе лактата из глюкозы через гликолиз и пируваткиназу продуцируется по одному протону на каждую молекулу лактата. Образование этанола из глюкозы тем же путем не связано ни с выделением, ни с потреблением протонов. Если же лактат и этанол образуются из малата через малик-энзимную реакцию, то протонов потребляется больше (один Н⁺ на одну молекулу лактата и 2Н⁺ на молекулу этанола). Таким образом, малик-энзим рассматривается как pH-чувствительный триггер переключения системы с продуцирования протонов (при гликолизе) на потребление Н⁺: в альтернативном пути дыхания в аэробных условиях и при образовании лактата или этанола в анаэробных.

Цепь реакций от глюкозы через ФЕП и малат до пирувата предлагают назвать *альтернативным гликолизом* (поставщиком протонов), а дальнейший путь - до лактата или этанола - *альтернативным путем брожения* (потребителем протонов). Их общая физиологическая функция состоит в регуляции pH и сопровождается издержками энергии. К такому же типу энергетически затратных pH-регулирующих реакций относится и альтернативный, цианид-нечувствительный путь дыхания (потребление протонов). Этот путь универсален для растений и связан, возможно, с интегральным механизмом Н⁺-системы, возникшей в ходе эволюции. Другие физиологические функции его (удаление активных форм

кислорода, термогенез, наличие у CAM-растений) рассматривают как эволюционные варианты дыхания, адаптированные к различным стрессовым воздействиям.

1.2.4. Мембранные системы регуляции

Мембранные регуляции осуществляются благодаря изменениям в мембранном транспорте, связыванию или освобождению ферментов и регуляторных белков и путем изменения активности мембранных ферментов. Основные функции клеточных мембран заключаются в отделении содержимого клеток от внешней среды, в создании внутренней архитектуры клетки, поддержании электрохимического градиента, осуществлении транспорта веществ. Многообразные функции мембран: барьерная, транспортная, осмотическая, структурная, энергетическая, биосинтетическая, секреторная, рецепторно-регуляторная и др., составной частью входят в регуляцию внутриклеточного обмена веществ. Мембранные как естественный барьер первыми подвергаются действию стрессовых факторов. Они представляют собой мишени первичного воздействия и первую линию защиты от него. Будучи динамическими структурами, мембранные способны быстро реагировать на отклонения в условиях существования, причем, как отмечено выше, изменения, возникающие в них, влекут за собой каскад сдвигов в обмене веществ всей клетки. Рецепторно-регуляторная функция определяется наличием в мембранах хемо-, фото-, механо- и других рецепторов белковой природы, воспринимающих сигналы из внешней среды и способствующих возникновению ответных реакций на изменение условий существования.

Сдвиги в функциональной активности мембран сопровождаются перестройками их структуры, которые в начальной стадии способствуют повышению их стойкости до тех пор, пока действие стрессора не достигнет наибольшего напряжения. Структурные перестройки в мембранах в значительной мере затрагивают липиды, прежде всего жирные кислоты, как наиболее лабильные компоненты. При действии стрессора могут происходить сдвиги в соотношении различных групп жирных кислот, изменяется степень их насыщенности/ненасыщенности. Возможны также изменения длины цепей жирных кислот, позиционного расположения двойных связей, количества полярных групп.

Вследствие тесного взаимодействия липидных и белковых компонентов в мембранах изменения свойств липидов неизбежно должны влиять и на функции мембранных белков. Для нормального функционирования ферментных белков необходимо жидкостное состояние мембран, поэтому под влиянием липидных перестроек мембран изменяются и катализические функции белков. Согласно жидкостно-мозаичной модели, клеточную мембрану сравнивают с "липидным морем", в котором при различном уровне погружения, словно "айсберги", плавают белки.

Регуляторную роль в клеточном метаболизме играют и белки мембран. Помимо рецепторной функции они осуществляют регуляцию конформационных изменений мембран. С взаимодействием компонентов мембранный системы связаны межфазовые перестройки - липид-белковые взаимодействия, обеспечивающие в значительной степени необходимую интенсивность метаболизма клетки и контроль за ним.

Структурные изменения в мембранах под влиянием неблагоприятных воздействий касаются и освобождения связанного Ca^{2+} , образующего мостики между карбоксильными группами белков и полярными головками фосфолипидов. В ядре ионы Ca^{2+} участвуют в поддержании структуры хроматина, в митохондриях и хлоропластах они играют важную роль в регуляции активности ферментов. В основном Ca^{2+} локализован в клеточной стенке, где он связывает карбоксильные группы уроновых кислот. В цитозоле, как известно, концентрация Ca^{2+} невысока (10^{-5} - 10^{-8} моль/л), в то время как в апопласте и органеллах его в 103-104 раз больше. При деструкции клеточных компонентов в результате стрессового воздействия поток кальция из апопласта в цитоплазму резко возрастает. Вслед за тем "лишний" кальций выводится из цитоплазмы. Однако даже кратковременного повышения его концентрации достаточно, чтобы запустить специфические мембранные каналы и транспортные системы, а также вызвать структурные изменения в клетке.

Плазмалемма и мембранны клеточных органоидов (митохондрий, хлоропластов, ЭПР) устойчивых растений, в отличие от таковых неустойчивых, характеризуются повышенной стойкостью и сохранением целостности в условиях стресса. Стойкость мембран определяется состоянием их компонентов. Большую устойчивость мембран приспособленных растений связывают, в частности, с качественными и количественными особенностями состава липидов. Так, увеличение содержания или поддержание на уровне, соответствующем условиям нормы, ненасыщенных жирных кислот в мембранах митохондрий при различных воздействиях (охлаждении, недостатке кислорода, засухе, инфекции, действии этианола) способствует повышению стойкости мембран. Это объясняется более рыхлой упаковкой полиеновых жирных кислот, чем насыщенных, в бислое и в области контакта фосфолипидов с белками, что придает мемbrane большую пластичность, текучесть, гибкость. Ясно, что такие изменения физических свойств мембран создают лучшие условия и для их функционирования. Поскольку повышение степени ненасыщенности жирных кислот наблюдается при многих внешних воздействиях, оно представляет, по-видимому, неспецифическую реакцию растений, длительно сохраняющуюся у объектов, обладающих наибольшей устойчивостью.

Большую стабильность мембран устойчивых растений связывают также с количественными изменениями в составе их липидов, в частности с высоким содержанием общих липидов и фосфолипидов. Стабильность свойственна и белковому комплексу мембранных компонентов у растений, устойчивых к различным воздействиям, что определяется поддержанием структуры макромолекул в состоянии высокой конформационной гибкости. Длительному сохранению целостности мембран способствует торможение распада их компонентов - липидов и белков, которое может быть связано с эффективной работой механизмов антиоксидантной защиты, с ингибирированием ферментов распада белка.

При различных стрессовых воздействиях происходит увеличение проницаемости мембран, которое влечет за собой нарушение клеточного гомеостаза. Для устойчивых растений нарушение проницаемости мембран выражено в меньшей мере, поскольку ингибирование H^+ -насосов заторможено по сравнению с неустойчивыми растениями. Этому способствует длительное поддержание у них поставки энергии, необходимой для работы насосов в стрессовых условиях.

Стабилизатором клеточных мембран выступают ионы Ca^{2+} . В присутствии кальция происходит увеличение электрического сопротивления мембран. Он оказывает влияние на проницаемость мембран для других ионов, участвует в регуляции транспорта воды. Стабилизирующее действие Ca^{2+} может проявляться и косвенно, например через содержание в клетке полиаминов, необходимых для восстановления проницаемости мембран. Накопление же полиаминов коррелирует с устойчивостью растений. Таким образом, повышение проницаемости мембран при стрессовых воздействиях связано с нарушением кальциевого обмена, поэтому его нормализация должна способствовать регуляции проницаемости.

Итак, к числу причин большей стабильности клеточных мембран устойчивых растений могут быть отнесены: 1) адаптивные перестройки в составе мембран, 2) торможение распада их компонентов и 3) поддержание регуляции кальциевого режима клетки. По всей вероятности, эти реакции взаимосвязаны благодаря мембранный системе регуляции.

Поскольку мембранны устойчивых растений меньше повреждаются при действии стрессоров, можно ожидать, что системы регуляции проницаемости и поддержания гомеостаза работают у них эффективнее, чем у неустойчивых. Действительно, подобные данные получены для растений, устойчивых к засухе, высокой и низкой температуре, инфекции, гипоксии и аноксии. Поэтому проницаемость мембран растительных клеток служит показателем устойчивости растений при разработке экспресс-методов диагностики, например определения интенсивности выхода из тканей электролитов. Использование же веществ, стабилизирующих мембранны и предотвращающих их распад, снижает проницаемость мембран и способствует повышению устойчивости растений. К таким мембронотропным соединениям относятся соли кальция, антиоксиданты (витамин Е). Следова-

тельно, мембранные системы регуляции, составляющая часть комплекса систем регуляции организма, вносит свой вклад в координацию обмена веществ в условиях стресса.

1.2.5. Гормональная система регуляции

Это одна из наиболее важных регуляторных систем, которая контролирует жизнь каждого растения на всех этапах его развития не только в нормальных условиях существования, но и при различных стрессовых воздействиях. Обычно под влиянием стрессоров тормозится рост растений, снижается содержание ИУК, гиббереллинов и цитокининов, но возрастает количество ингибиторов - 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, действие АБК распространяется практически на все процессы клеточного метаболизма. АБК играет крайне важную роль в ответе растения на обезвоживание, засоление, действие низких температур, гипо- и аноксию. При перечисленных воздействиях содержание АБК в растениях повышается 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, называемых белками ответа на АБК. Взаимодействуя с рецептором, АБК запускает каскад трансductционных реакций, который приводит к накоплению кальция и подщелачиванию цитоплазмы. Это, в свою очередь, активирует ряд ферментов трансductции: Ca-зависимые протеинкиназы, Mg-зависимые протеинфосфатазы, МАРКиназный каскад. В результате в цитоплазме усиливаются процессы фосфорилирования и дефосфорилирования. Таким образом осуществляется регуляция активности как ключевых ферментов различных метаболических путей, так и факторов транскрипции. Последние, как указано выше, поступая в ядро, связываются с промоторами различных генов и приводят к их экспрессии или ре-прессии.

Все белки- продукты генов, индуцируемых АБК, можно разделить на две группы. Первую составляют регуляторные белки: различные транскрипционные факторы и трансductционные ферменты, а также белки семейства 14.3.3. Регуляторные белки - продукты ранних генов, которые экспрессируются уже в первые моменты действия стрессора. Они обычно контролируют дальнейшую экспрессию стресс-активируемых генов, к продуктам которых относят различные функциональные белки. Стрессовые функциональные АБК-зависимые белки или Rab-белки (*responsible to ABA*) - это, например, большая группа LEA-белков, защищающих клетку от гибели в условиях глубокого обезвоживания. При нормальном развитии растений они синтезируются в период позднего эмбриогенеза, когда происходит естественное обезвоживание семян. Синтез таких белков в позднем эмбриогенезе также индуцируется АБК, которая накапливается в семенах перед началом их обезвоживания. В листьях в нормальных условиях эти белки не обнаружены. Засуха вызывает накопление в листьях АБК, что и индуцирует синтез белков позднего эмбриогенеза, необходимых для выживания клеток листа при водном дефиците. Исследование этих белков и их генов крайне важно для создания устойчивых к засухе сортов сельскохозяйственных растений. На помощь здесь может прийти генная инженерия, которая позволяет трансформировать растения нужными генами, т.е. вводить эти гены в ДНК растений и создавать новый генотип. К индуцируемым АБК белкам относятся также ферменты биосинтеза осмотиков, транспортные белки - аквапорины, ионные каналы, транспортеры сахарозы и липидов, ферменты антиоксидантной защиты, ферменты C₄- и CAM-фотосинтеза, белки

патогенеза (подробнее см. гл. 9). Влияние АБК на мембранный транспорт лежит в основе таких быстрых гормональных реакций, как закрывание устьиц. Ухудшение газообмена, вызываемое АБК при засухе или затоплении, способствует стабилизации водного режима. АБК ингибирует деятельность Н⁺-АТФаз, 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 гормона покидает растение в течение 1 мин. Тем не менее он успевает связаться с расположенным в плазмалемме рецептором. Система трансдукции сигнала включает ГТФ-связывающие белки, протеинкиназы и кальций. Этилен менее сильный ингибитор, чем АБК. При гипоксии этилен индуцирует эпинастию черешков; стимулирует старение и опадение листьев; у приспособленных растений ускоряет рост побегов при затоплении, что необходимо для их выхода на поверхность воды; активирует работу ферментов, участвующих в лизисе клеточных стенок и образовании аэренихимы, и тем самым спасает растения от гибели в результате кислородного голодаия. При патогенезе растение воспринимает сигнал патогена и включает в ответ синтез этилена, а тот, в свою очередь, запускает сложную программу химической защиты растений, в которую, в частности, входит синтез фитоалексинов, играющих роль противоядия против паразитов. Этилен также влияет на содержание, транспорт, образование или распад ауксина, цитокинина, АБК. Таким образом, действие этилена связано с регуляцией процессов, происходящих в клеточной стенке, экспрессии генов апоптоза, стрессовых белков, с взаимодействием с другими фитогормонами.

Восприятие гормонального сигнала

При изучении механизма действия фитогормонов необходимо рассмотреть вопросы о восприятии гормонального сигнала клеткой и передаче его на генетический аппарат, о роли гормонов во включении, подавлении или переключении генетических программ. В связи с этим особый интерес вызывает вопрос о рецепторах фитогормонов в клетках растений. Рецепторы узнают гормональный сигнал, образуют гормон-рецепторный комплекс, который, в свою очередь, определяет цепь событий в клетке, необходимых для ее высоко-специфичного ответа на фитогормон. Чем глубже идут исследования рецепторов гормонов растений, тем больше общего обнаруживается у них с хорошо изученными рецепторами гормонов животных. Роль рецептора в восприятии и передаче гормонального сигнала может быть представлена следующим образом: гормон+рецептор ↔ гормон-рецепторный комплекс → система трансформации и передачи сигналов в клетке → индукция физиологических программ.

Для гормонов животных установлены рецепторы двух основных типов. К первому типу относятся рецепторы гормонов, не проникающих в клетку, которые расположены в мемbrane. Они узнают молекулы гормона на внешней поверхности мембраны и в результате взаимодействия с ними изменяют свое конформационное состояние; далее происходит передача сигнала через G-белки ферментам, участвующим в синтезе вторичных посредников. Посредники же способствуют усилению сигнала и его передаче к различным компонентам клетки, в частности протеинкиназам, фосфорилирующим клеточные белки, а значит, меняющим их свойства. Сдвиги в активности ферментных, регуляторных и структурных белков клетки передаются на генетический аппарат, и происходит включение (или выключение) определяемых действием гормонов программ. Рецепторы второго типа, к которым относятся рецепторы стероидных гормонов, взаимодействуют с гормонами в цитоплазме или ядре, и гормон-рецепторный комплекс непосредственно участвует в регуляции генетических программ, индуцируя или репрессируя экспрессию генов.

Успехи генной инженерии позволили с помощью генетических зондов обнаружить в геноме растения гены, ответственные за все основные звенья передачи гормонального

сигнала по первому типу. Локализованные в мемbrane гормон-связывающие белки - кандидаты на роль рецепторов первого типа обнаружены для ауксина, этилена, гиббереллина. Секвенирован (установлена аминокислотная последовательность) белок со свойствами рецептора ауксина. Коллективными усилиями ученых из разных стран удалось установить, что этот белок функционирует по типу мембранных рецепторов гормонов животных с использованием вторичных посредников.

Передача гормонального сигнала

Соответственно двум типам рецепторов существуют два основных механизма трансдукции гормонального сигнала в клетку. При первом комплекс гормон-рецептор образуется на наружной поверхности плазматической мембраны. Это вызывает либо быстрое открытие ионного канала и вход ионов в клетку, либо включение систем вторичных посредников - протеинкиназ, что приводит к более медленным изменениям метаболизма и функций клеток. При втором механизме гидрофобный гормон проникает через плазматическую мембрану, а затем через цитозоль (последнему, очевидно, способствуют транспортные рецепторы цитозоля) в ядро, где образует комплекс с ядерными рецепторами и изменяет матричные синтезы. Оба механизма могут приводить к более поздним эффектам изменениям процессов, которые регулируются ядром клетки.

В клетках животных обнаружены четыре основные системы посредников передачи гормонального сигнала от рецепторного комплекса в цитозоль (рис. 1.13).

1. Образование комплекса гормон-рецептор через G-белки активирует или ингибирует адешшилцилазу, с помощью которой из АТФ образуется цАМФ (своеобразный сигнал стресса). Этот вторичный посредник вызывает диссоциацию зависимой от него протеинкиназы A на регуляторную и каталитическую субъединицы. Каталитическая субъединица активируется и фосфорилирует многочисленные белки.

2. В другой системе участвуют цГМФ и две гуанилилцилазы. В этом случае мембранные гуанилилцилазы активируются гормонами без участия G-белков, а цитозольная гуанилилцилаза - монооксидами NO, CO и OH. Последние только недавно (в 1990-е годы) стали рассматриваться как класс неорганических посредников, проявляющих свойства иногда межклеточных, иногда внутриклеточных регуляторов. Установлено, что цГМФ активирует протеинкиназу G и, кроме того, изменяет активность других белков, включая ионные каналы.

3. Гормоны могут действовать через G-белок и при участии рассмотренной выше системы фосфолипазы C. В результате из фосфатидилинозитолов образуются два вторичных посредника: ИФ3 и ДАТ. Гормоны и другие внеклеточные факторы регулируют матричные синтезы, деление и дифференцировку клеток и иные процессы, определяемые ядром клетки. Однако в ядро проникают немногие гормоны. Все остальные регулируют ядерные процессы, не проникая не только в ядро, но даже в клетку. Это возможно лишь в том случае, если в ядро поступает сигнал гормона. Очевидно, что для этого межклеточный сигнал, передаваемый гормоном, должен трансдуцироваться вначале во внутриклеточный, а затем во внутриядерный сигнал. На первом этапе преобразования гормонального сигнала происходит накопление в клетке вторичных посредников и/или активация протеинкиназы. Отметим, что ядерные эффекты гормонов наиболее часто связаны с активацией тиро-зинкиназы - протеинкиназы, фосфорилирующей в белках остатки тирозина, протеинкиназы C и A.

4. Гормоны, наиболее эффективно регулирующие ядерные процессы, - это факторы роста клеток и цитокины. Факторы роста клеток регулируют деление и дифференцировку клеток и поддерживают их жизнестойкость. Цитокины - носители своеобразного межклеточного языка взаимодействия - передают сигналы от клетки к клетке. Они регулируют также деление и дифференцировку иммунных клеток и другие иммунные реакции. Образование комплекса гормон-рецептор активирует рецепторные тирозинкиназы, и они фосфорилируют различные белки. Это включает системы малого G-белка (Ras) и фосфолипазы C.

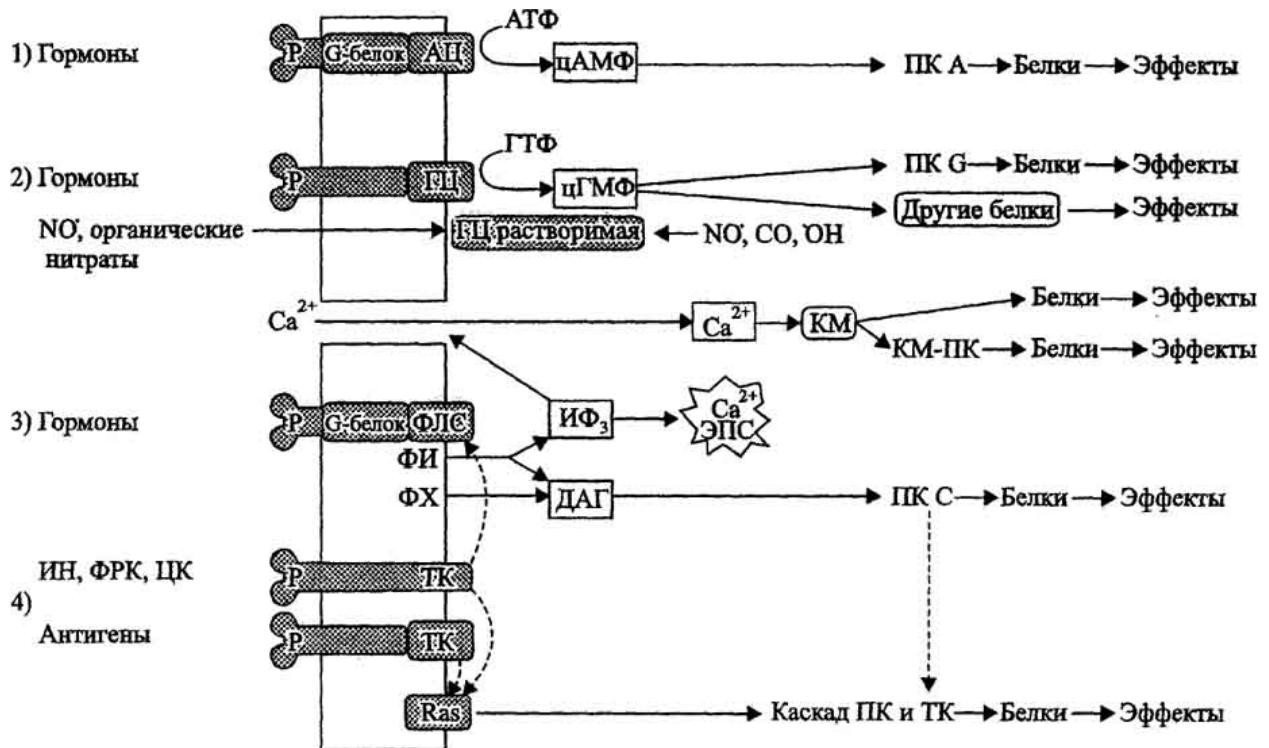


Рис. 1.13. Основные сигнал-трансдукторные гормональные системы клетки (у животных) [по: В.И. Кулинский, 1997].

АЦ - аденилциклизаза, ГЦ - гуанилциклизаза, КМ - кальмодулин, КМ-ПК - кальмодулиновая протеинкиназа, ФЛС -фосфолипаза С, ФИ - фосфоинозитиды, ФХ - фосфатидилхолин, ИФ₃ - инозитолтрифосфат, ДАГ - диацилглицерол, ИН - инсулин, Р - рецептор, ФРК - факторы роста клеток, ЦК - цитокины, ТК - тирозиновая протеинкиназа, RAS - малый G-белок.

Стероидные гормоны после образования комплекса со своими ядерными рецепторами также взаимодействуют с регуляторными участками ДНК. Это означает, что конечные этапы регуляции ядерных процессов разными гормонами, по сути, сходны: происходит взаимодействие гормон-рецепторного комплекса или модифицированного транскрипционного фактора с регуляторными участками ДНК.

Изложенные данные не исчерпывают возможных механизмов и уровней регуляции. При стимуляции деления клеток в ядре увеличивается концентрация Ca²⁺ (рис. 1.13). Следовательно, проникать в ядро могут не только протеинкиназы и модифицированные ими транскрипционные факторы, но и вторичные посредники. Однако трансдукция сигнала Ca²⁺ в ядре пока не выяснена. Цитозольные вторичные посредники и протеинкиназы могут регулировать экспрессию генов и на посттранскрипционных уровнях, но конкретные механизмы передачи сигналов в ядро еще не установлены.

В последние годы окончательно доказано, что существует множественная регуляция гормонами и вторичными посредниками всех основных функций митохондрий: активности ферментов, включая цикл трикарбоновых кислот Кребса, работы дыхательной цепи, окислительного фосфорилирования и процессов энергопотребления. Регуляция осуществляется двумя группами гормонов: Ca²⁺-мобилизующими и цАМФ-зависимыми. Общее для обоих механизмов - первичный регуляторный сигнал в клетке возникает в гормональных рецепторах плазматической мембранны, затем он трансдуцируется в увеличение концентрации вторичных посредников: Ca²⁺ и/или цАМФ, в цитозоле. Их влияние на митохондрии вторично и осуществляется в результате воздействия на наружную сторону внутренней мембранны митохондрий или проникновения через нее в матрикс (рис. 1.14).

Конкретные механизмы этих процессов различны. Существует постоянный обмен Ca^{2+} через внутреннюю мембрану митохондрий: вход в матрикс за счет энергии мембранныго потенциала и выход в цитоплазму в обмен на Na^+ или H^+ за счет энергии, связанной с градиентом рН. Расход энергии при этом невелик и оправдан: он необходим для кальциевої регуляции функций митохондрий. Кроме того, Ca^{2+} активирует как минимум один фермент на наружной стороне внутренней мембраны митохондрий - глицерофосфатдегидрогеназу. С рецепторным белком внутренней мембраны митохондрий взаимодействует цАМФ, что, очевидно, и приводит к активации их функций. Кроме того, цАМФ проникает во все компартменты митохондрий, а в каждом из них есть протеинкиназа A (правда, ее роль в регуляции функций митохондрий еще не вполне доказана). В результате описанных процессов цитозольный сигнал способствует увеличению концентрации Ca^{2+} и/или цАМФ и трансдуцируется в митохондриальный, что и вызывает множественные изменения функций этих субклеточных частиц.

Необходимо обратить внимание на две важные особенности:

1) ионы Ca^{2+} действуют не через специализированные рецепторные белки типа кальмодулина, а прямо на митохондриальные ферменты матрикса и внутренней мембраны;

2) эффекты цАМФ могут реализовываться не только через протеинкиназу A, но и путем связывания с рецепторным белком на внешней стороне внутренней мембраны митохондрий, что изменяет ее свойства и соответственно функции митохондрий; это существенно отличается от классических механизмов, характерных для эукариот.

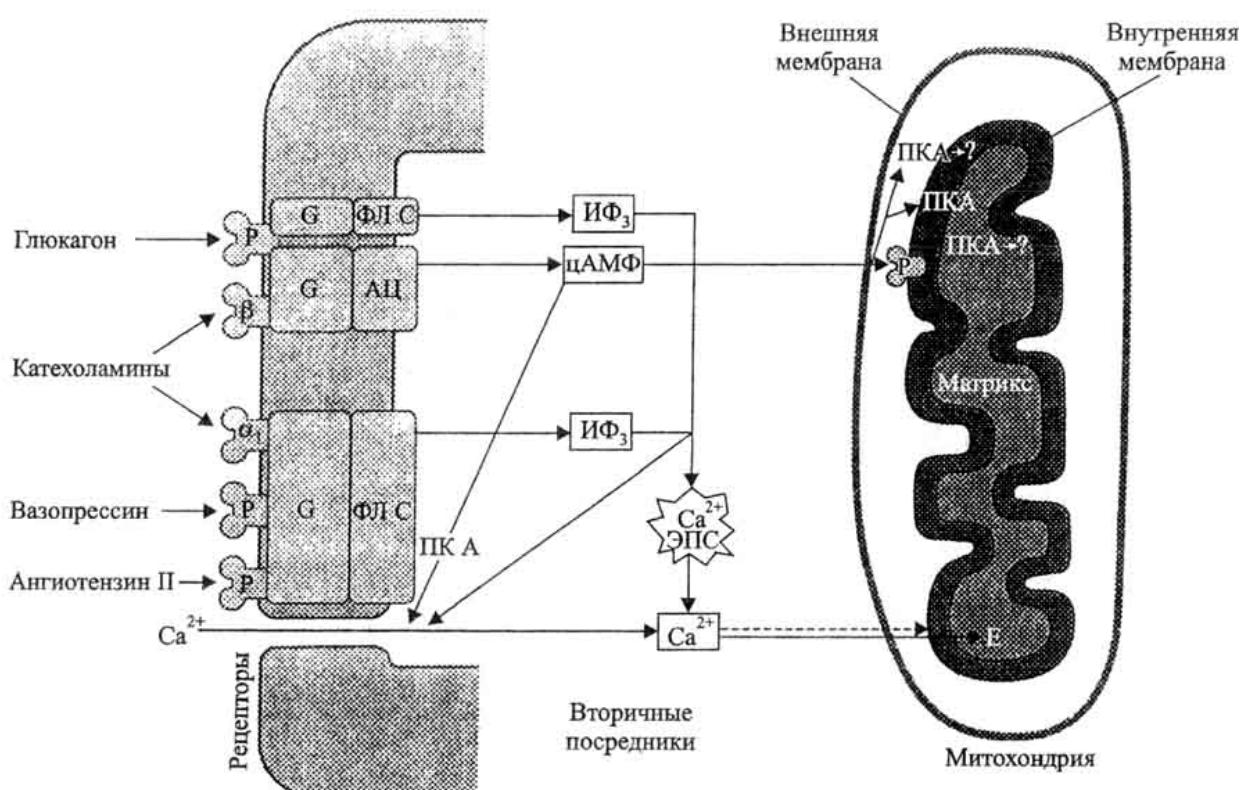


Рис. 1.14. Передача гормонального сигнала в митохондрии (у животных) [по: В.И. Кулинский, 1997].

Е - фермент митохондрий, ФЛ С - фосфолипаза С, ЭПС - эндоплазматическая сеть, цАМФ - циклический аденоцимофосфат, АЦ - аденилилциклизаза, ПК - протеинкиназа, Р - рецептор, G - G-белок.

Регуляция функций митохондрий не ограничивается рассмотренными четырьмя гормонами и двумя вторичными посредниками; Ca^{2+} -мобилизующих и цАМФ-зависимых

гормонов очень много. Биосинтезы (особенно матричные), ионный транспорт (прежде всего натрия и калия) - основные способы расхода энергии, поэтому их регуляторы должны стимулировать и энергообеспечение. Функции митохондрий могут стимулироваться и другими вторичными посредниками и их рецепторными белками.

Таким образом, в каждой клетке существует комплекс сигнал-трансдукторных систем, преобразующих внешние сигналы во внутриклеточные, а затем и в сигналы органелл. Сигналы подавляющего большинства гормонов от рецепторов плазматической мембраны в цитозоль передаются системой вторичных посредников (чаще всего протеинкиназ), фосфорилирование же белков изменяет их активность. В ядро сигнал обычно передается путем транслокации в него цитозольной протеинкиназы или активированного транскрипционного фактора (фосфорилированного ю или освобожденного из комплекса с другим белком). В митохондрии сигнал передается иначе - путем транслокации из цитозоля вторичных посредников: Ca^{2+} или цАМФ, которые действуют в основном не через свои специфические рецепторы, а прямо на функциональные белки митохондрий. Механизмы трансдукции в органеллах отличаются от классических цитозольных, но обеспечивают эффективный контроль гормонами ядерных и митохондриальных процессов.

1.2.6. Трофическая система регуляции

Взаимодействие с помощью питательных веществ - наиболее простой способ связи между клетками, тканями и органами. В корни и другие гетеротрофные органы растений поступают ассимиляты, образующиеся в листьях в процессе фотосинтеза. Надземные части, в свою очередь, нуждаются в минеральных веществах и воде, поглощаемых корнями из почвы. Корни используют ассимиляты, поступающие из побега, на собственные нужды, а часть трансформированных органических веществ передвигается в обратном направлении. Таким образом, ассимиляты осуществляют связь между их поставщиками и потребителями.

Проблема производства и потребления углеводов или их донорно-акцепторных взаимоотношений в настоящее время интенсивно разрабатывается. В последние годы проводятся исследования этих вопросов на клеточном и молекулярном уровнях. Оказалось, что сахара (гексозы и сахароза) выполняют не только роль субстратов для роста гетеротрофных органов, но служат также сигнальными молекулами, которые контролируют экспрессию генов, регулируя и производство Сахаров в листьях, и потребление их другими органами растений. Сенсором гексозного сигнала, возможно, является гексокиназа, а сахарозного - экстраклеточная или мембранные инвертаза. Поступающие в клетку гексозы участвуют в репрессии генов, кодирующих синтез ряда фотосинтетических ферментов (фотосинтез-зависимые гены), что приводит к ингибированию фотосинтеза (рис. 1.15). Вместе с тем происходит индукция специфических генов потребления, т.е. генов, кодирующих экстраклеточную инвертазу, которая, гидролизуя поступающую из ситовидных трубок сахарозу на глюкозу и фруктозу, способствует снабжению углеводами потребляющих тканей.

При сопоставлении действия на геном различных стрессоров и углеводов выявлены общность происхождения различных сигналов и сходные черты воздействия на взаимосвязи производства и потребления Сахаров. Активируемые стрессором и сахарами сигнальные пути включаются независимо друг от друга, но могут взаимодействовать в процессе трансдукции (рис. 1.15). Абиотические стрессоры (засуха, засоление, низкая температура) ведут к усилию гидролитических процессов, в частности гидролиза крахмала. В результате происходит накопление Сахаров, что сопровождается торможением их образования в процессе фотосинтеза. В случае инфекций (биотических стрессоров) в состав выделяемых патогенами веществ входят высокомолекулярные глюканы - олигогликозиды, которые "узнаются" мембранными рецепторами растения. Так, элиситоры углеводной природы индуцируют экспрессию тех генов, которые кодируют синтез соединений, играющих защитную роль. Все указанные воздействия, а также фитогормоны (ауксин, эти-

лен, гиббереллин, цитокинин) участвуют в регуляции синтеза экстраклеточной инвертазы. По всей вероятности, это может свидетельствовать о ее важной роли в усилении углеводных сигналов и регуляции синтеза и потребления углеводов.

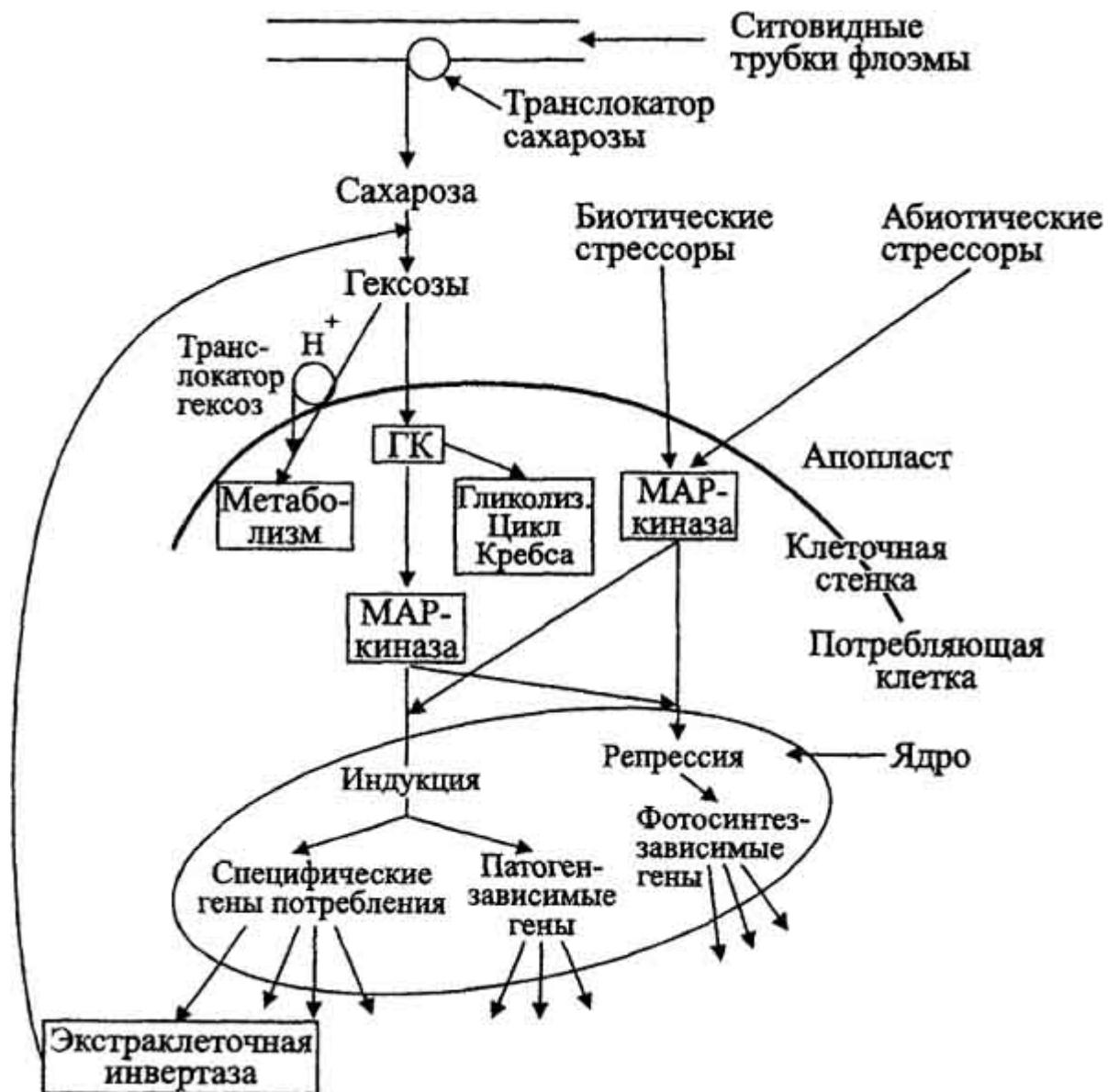


Рис. 1.15. Регуляция генома стрессорами и сахарами как сигнальными молекулами. ГК - гексокиназа.

Каскад передачи углеводных сигналов включает протеинкиназы и фосфатазы. В трансдукции участвуют МАР-киназа, ионы кальция, т.е. как промежуточные соединения они могут, вероятно, быть включены и в трофическую систему регуляции образования и потребления углеводов.

Сдвиги в содержании различных элементов питания оказывают влияние на обмен веществ, физиологические и морфогенетические процессы у растений. Изменения в растительном организме, вызванные недостатком или избытком минеральных веществ, рассмотрены ниже (см. 6.2).

При стрессовых воздействиях усиливается конкуренция различных органов за питательные вещества, но обычно развитие растений продолжается, его скорость может даже увеличиться, т.е. ускоряется формирование семян. Однако образующиеся органы мельче обычных, а число листьев, плодов, семян уменьшается. Тем не менее конечная величина

семян мало отличается от нормальной. Это указывает на взаимодействие трофической регуляции с другими системами, обеспечивающими связи всех частей организма.

1.2.7. Электрофизиологическая регуляция

Биоэлектрогенез, т.е. способность генерировать электрические потенциалы - одно из универсальных и существенных для жизнедеятельности свойств живых систем. Биоэлектрогенез растений важен для координации их функциональной активности и процессов морфогенеза

В результате биоэлектрогенеза возникают биоэлектрические потенциалы (БЭП). Различают потенциалы покоя (ПП) - разность потенциалов на мемbrane в покоящемся состоянии, и потенциалы возбуждения (ПВ) - изменение ПП при возбуждении.

Потенциал покоя состоит из двух компонент - диффузионной и метаболической. Диффузионная компонента возникает при пассивном перераспределении ионов на мемbrane соответственно ранее сформированным ионным градиентам. При этом особенно важны два фактора - величина градиента концентрации ионов и коэффициент их проницаемости через мемрану. Метаболическая компонента генерируется с помощью электротропного насоса, представленного у растений преимущественно H^+ -насосом- H^+ -АТФазой. Потенциалы возбуждения представлены двумя типами - вариабельным потенциалом (ВП) и потенциалом действия (ПД). Первый возникает под влиянием сильных раздражителей (ожог, механическое повреждение ткани). Второй по ряду признаков соответствует таковому у животных, но длительность ПД у растений больше. Основу ПД (местных и распространяющихся) составляют пассивные ионные потоки. Все эти виды электрической активности входят в электрофизиологическую систему регуляции.

Функции биоэлектрогенеза у растений подразделяют на управляющую (преимущественно ПП) и сигнальную (ПД). К управляющим функциям ПП относят энергетическую, регуляторную и адаптивную. Рассмотрим биоэлектрогенез на поверхностной мемbrane (на внутриклеточных мембрах тоже возникает разность потенциалов, но электрические свойства клетки определяются преимущественно электротропезом на плазмалемме). Разность потенциалов имеет ионную природу, т.е. обусловлена возникновением ионной асимметрии, неодинаковым распределением по обе стороны мембранны катионов и анионов. Величина мембранныго потенциала составляет 100-300 мВ. Электрическая энергия, запасенная в мемbrane, может переходить в другие формы энергии. При толщине мембранны 100 Å, напряженность электрического поля на ней составляет 10^5 В/см, что не может не влиять на ее фазово-структурное состояние. Молекулы мембранных белков меняют ориентацию или конформационное состояние, в липидном матриксе происходят изменения микровязкости, а также явления электрострикции (электромеханического сжатия). Изменения разности потенциалов на мемbrane под действием тех или иных факторов оказывают влияние на работу мембранных белков - ферментов, рецепторов, каналов систем первичного и вторичного активного транспорта. Таким образом, осуществляется регуляция ПП активности клетки.

Мембранные потенциалы весьма лабильны, их изменения при действии различных внешних условий могут иметь приспособительное значение. На первом этапе стрессовой реакции происходит *первая деполяризация* - резкое падение мембранныго потенциала, что сопровождается снижением интенсивности многих мембранозависимых процессов. Это способствует "уходу" клетки от негативного влияния стрессора. В следующую фазу *адаптивной деполяризации* мембранный потенциал возрастает, мембраносвязанные системы начинают работать на более высоком уровне и клеточная активность восстанавливается. Изменения мембранных потенциалов являются, по-видимому, наиболее ранними в развитии общего синдрома адаптации и, возможно, служат стимулом для возникновения приспособительных ответов на других уровнях организма.

У растений из всех типов электрических сигналов особое внимание уделяется ПД, поскольку их генерация и распространение представляют собой один из универсальных

способов передачи информации о внешнем воздействии, т.е. основная функция ПД сигнальная. Она хорошо изучена на нервных волокнах животных, но имеются данные о важности ее и для растений. Например, при движении листа мимозы возникают колебания ПД, которые сходны с таковыми в нервных волокнах. Однако в отличие от ПД животных в них участвуют не Na^+ и K^+ , а Cl^- и K^+ . Вначале под влиянием внешнего раздражителя увеличивается проницаемость мембраны для ионов кальция в результате открывания кальциевых каналов (рис. 1.16). Концентрация ионов кальция гораздо выше во внешней среде, поэтому они входят внутрь проводящих ПД клеток по градиенту. Войдя внутрь возбужденных клеток, ионы Ca^{2+} активируют хлорные каналы, которые тоже открываются. Это дает возможность выйти наружу ионам хлора, которых больше внутри клеток. Поток отрицательно заряженных ионов хлора наружу приводит к деполяризации мембранны, поскольку ее внешняя сторона заряжена положительно, а внутренняя отрицательно, при этом возникает восходящая ветвь ПД (рис. 1.16). Деполяризация мембранны способствует открыванию калиевых каналов и возникновению направленного наружу потока ионов калия, которых, так же как и ионов хлора, больше внутри клетки, чем в наружной среде. Этот поток оказывает на мембранный потенциал реполяризующее действие, т.е. приводит к восстановлению его исходного значения.

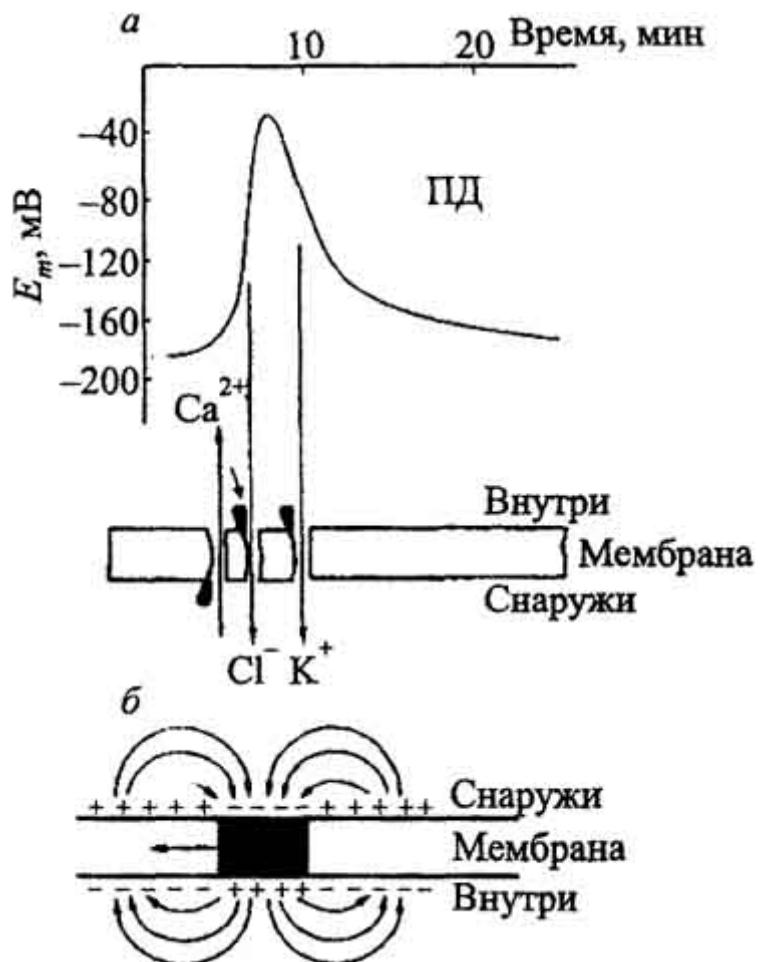


Рис. 1.16. Генерация потенциала действия у высших растений (а) и его распространение в воздушной мембране (б) [по: В.А. Опритов, 1998]. Объяснения в тексте.

Распространяясь по растению и достигая определенных органов, ПД значительно изменяют ионный состав клеток, особенно содержание ионов калия и хлора. Поскольку уровень обменных процессов в тканях сильно зависит от ионного состава, ПД могут вызывать в них функциональный ответ. При этом надо иметь в виду, что возникновение ПД

в ответ на действие внешнего раздражителя неспецифично. Распространяющиеся ПД не несут конкретной информации, а представляют собой лишь сигнал о внешнем воздействии. Однако в тканях и органах ПД может вызывать наряду с неспецифическими ответами изменения некоторых специфических процессов, свойственных данному органу (например, в листьях изменение фотосинтеза, в корнях усиление поглощения веществ и т.д.).

Сигнальная (информационная) роль ПД в обычных процессах роста и развития проявляется, например, в распространении электрических импульсов по направлению к заязи для подготовки ее к восприятию пыльцы и оплодотворению или у растений с двигательными реакциями: мимозы, росянки, венериной мухоловки и т.п. Кроме того, генерация ПД у растений происходит при умеренных изменениях в окружающей среде, даже при перепаде температур 1-2°C. По всей вероятности, это своеобразное "предупреждение" органов и тканей о возможном предстоящем заметном понижении температуры. "Предупреждающая" роль ПД сводится к временному повышению устойчивости органов и тканей растения к неблагоприятным воздействиям, которое носит неспецифический характер. Таким образом, при слабых воздействиях функция ПД связана с опережающим отражением действительности, а при сильных раздражителях - с выполнением первичной экстренной сигнальной связи, которая позволяет растению оперативно начать перестройку жизненных функций.

Все межклеточные системы регуляции тесно взаимосвязаны. Фитогормоны оказывают влияние на активность мембран и транспорт трофических факторов. Электрические сигналы действуют на транспорт ионов, метаболитов и т.д. Вместе с тем межклеточные системы регуляции на клеточном уровне действуют только через внутриклеточные системы. Иными словами, в целом организме при сохранении принципа иерархии систем осуществляется взаимосвязь всех регуляторных механизмов.

Системы регуляции включаются у растений и неустойчивых, и устойчивых. Однако у первых переключение метаболизма на новый уровень происходит очень быстро, что затрудняет регуляторное объединение защитных реакций. Поэтому сбалансированность работы отдельных защитных реакций скоро нарушается и происходит разупорядочение обмена веществ. У приспособленных же растений в процессе длительной эволюции сформировалась необходимая для выживания способность к постепенному и последовательному взаимодействию различных систем регуляции. Только согласованная работа ансамбля систем регуляции, необходимая для координации компонентов комплекса защитных реакций, способствует обеспечению длительного существования организма в неблагоприятных экологических условиях.

Глава 2 УСТОЙЧИВОСТЬ К НЕДОСТАТКУ ИЛИ ОТСУТСТВИЮ КИ- СЛОРОДА

Способность организмов переносить условия гипо- или аноксии, т.е. временный дефицит или отсутствие кислорода, широко распространена в природе и наиболее хорошо исследована у животных, а также в микробиологии, медицине. Влияние гипо- и аноксии на растения изучено меньше, особенно по сравнению с воздействием других факторов внешней среды. Рассмотрение указанных вопросов необходимо в связи с тем, что постоянное или временное переувлажнение характерно для многих районов земного шара, в России это Северо-Запад, Сибирь, Дальний Восток.

При затоплении или заболачивании почвы воздух вытесняется из нее водой. Диффузия же его в воде происходит примерно в 10^4 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. Поэтому особенность местообитания затопляемых растений состоит в выраженной в той или иной степени гипоксии или даже аноксии. Наиболее часто в условиях дефицита кислорода оказываются озимые хлеба

(пшеница, рожь, ячмень), а также соя, рис, ежовник, хлопчатник (при орошении), некоторые древесные растения (ива, ель, сосна, береза, фруктовые деревья) и т.д.

Явления гипоксии и аноксии имеют много общего, так как и при гипоксии некоторые ткани испытывают недостаток кислорода, особенно в активно функционирующих органах. Например, для нормальной жизнедеятельности кончиков корней необходимо не меньше 20% кислорода в среде. Однако у разных по устойчивости к гипо- и аноксии растений (или их органов) могут быть неодинаковые потребности в кислороде. Согласно мнению итальянских исследователей А. Бертани и И. Бромбilla, 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. Свообразие 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 (K_m цитохромоксидазы ниже 1 мкмоль O_2). В отличие от нее flavиновые 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 митохондрии способна частично работать. При аноксии ЭТЦ полностью отключается (если нет соединений, заменяющих кислород как акцептор электронов).

Одни растения при переувлажнении или затоплении погибают очень быстро, другие способны существовать в условиях не только дефицита, но и отсутствия кислорода. Напомним, что растения - аэробы, поэтому речь может идти только об их временном выживании при аноксии.

2.1. 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 развивающимся дополнительным корням, когда основные погибают при погружении в воду (рис. 2.1).

Для представителей болотной флоры типичны также глубокие структурные изменения в анатомическом строении тканей - образование непрерывной системы воздухоносных полостей (аэренихимы), по которой воздух идет от надземных частей растений к корням. Возникновение аэренихимы при ограничении доступа кислорода к корням происходит не только у гигрофитов, но и у 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 (рис. 2.2).

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 метаболическая адаптация листьев к поглощению дополнительного кислорода и транспорту его в корни. У неустойчивых к ги-

окисли растений приобретение листьями функции передачи кислорода корням служит кратковременным приспособлением. У древесных растений, сбрасывающих листья в условиях умеренного климата на шесть-семь месяцев в году, снабжение корней атмосферным кислородом осуществляется не только через листья, но и через чечевички ветвей. В той или иной степени используются и внутренние запасы кислорода. Например, у лобелии имеются огромные вместилища газов, откуда воздух транспортируется по растению.

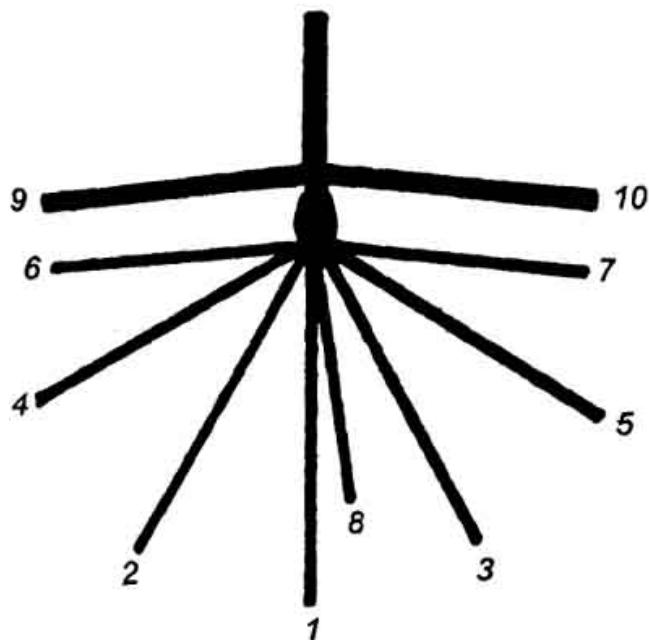


Рис. 2.1. Корневая система десятидневных проростков пшеницы.

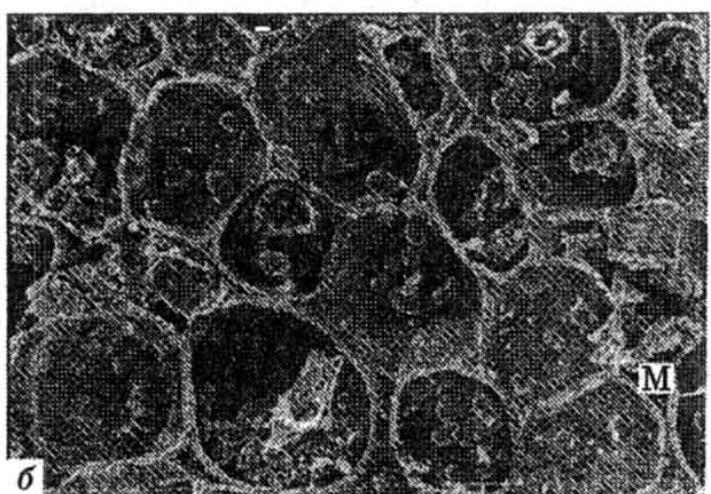
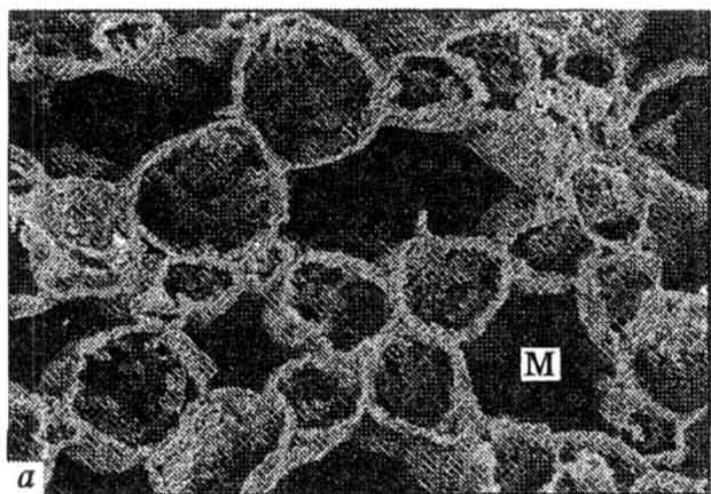
1 - главный корень, 2-8 - последовательно образующиеся корни в процессе прорастания; 9,10 - дополнительные корни, появляющиеся после четырех дней корневого анаэробиоза.

Таким образом, попытка "уйти" от кислородной недостаточности корней путем транспорта атмосферного кислорода из надземной части, оказывается важным способом адаптации растений, особенно при образовании дополнительных морфологических и анатомических приспособлений.

Однако не только у мезофитных растений, но даже и у гигрофитов при продолжительном и особенно полном затоплении вентиляция корней, прежде всего их дистальных концов, может оказаться недостаточной. Об этом можно судить по ответным реакциям растений, указывающим на дефицит кислорода: понижению интенсивности дыхания корней при затоплении, накоплению у приспособленных растений этанола, хотя и не столь значительному, как у неприспособленных, торможению скорости поглощения минеральных веществ, падению энергетического заряда, повышению активности алкогольдегидрогеназы (АДГ). Более того, не у всех влаголюбивых растений хорошо представлена аэренохима, способная быть резервуаром для воздуха. Таким образом, транспорт кислорода как физиологическая адаптация, вероятно, не универсален даже для гигрофитов. Вместе с тем некоторые растения, например из древесных, не обладающие системой межклетников, также способны переживать затяжные периоды корневого анаэробиоза. Наконец, гигрофиты в условиях полной аноксии, когда вентиляционная система не играет адаптационной роли, довольно долго (несколько недель) сохраняют жизнеспособность. Все это свидетельствует о том, что помимо приспособления к сохранению близкого к нормальному содержанию кислорода в корнях при затоплении и особенно при возрастании силы эффекта, т.е. при аноксии, растения должны использовать и приспособления к функционированию

при недостатке или полном отсутствии кислорода. Такими приспособлениями могут быть изменения в обмене веществ или метаболические способы адаптации.

A



B

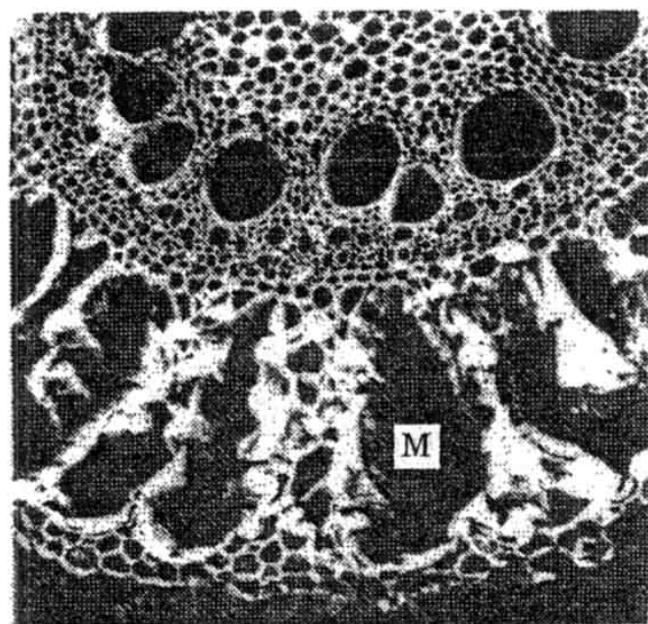


Рис. 2.2. Электронные микрофотографии поперечных срезов корневищ двух видов ирисов (А) и корня кукурузы, выращенной в неаэрируемом питательном растворе (Б).
а - устойчивый, б - неустойчивый к затоплению виды ириса. М - межклетник.

Глава 4 УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАСУХЕ И ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Большинство стрессовых воздействий изменяют водный статус растений. Значение воды как растворителя и транспортной среды, донора электронов в реакции Хилла, охладителя при испарении проявляется при различных абиотических стрессах. С током воды в лист поступают минеральные вещества и оттекают ассимиляты, достаточная оводненность тканей необходима, наконец, для поддержания устьиц в открытом состоянии для нормального газообмена.

Повышение температуры на 10-15°C относительно нормы, т.е. до 35-40°C также значительно усиливает испарение воды и быстро приводит, особенно у вегетативных оводненных органов, к дефициту воды, поэтому реакции растений на возрастание температуры в значительной мере сходны с таковыми на засуху.

4.1. ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Более трети земной поверхности составляют территории засушливых регионов (годовая сумма осадков ниже 250 мм). Половина этой площади (около 12% суши) относится к крайне аридным территориям. Многие сельскохозяйственные районы расположены в аридных зонах. Ежегодные потери урожая от засухи огромны, так как даже в умеренной зоне за вегетационный период растения испаряют воды больше, чем выпадает атмосферных осадков. Понятно поэтому, насколько важно знать механизмы устойчивости растений к водному дефициту и способы ее повышения.

Засухи, т.е. явления, при которых расход воды превышает ее поступление, бывают почвенные и атмосферные. Чаще всего засуха начинается с *атмосферной*, характеризующейся низкой относительной влажностью воздуха, чему сопутствуют повышенная температура и высокая инсоляция. При длительном отсутствии дождей к атмосферной засухе добавляется *почвенная*, возникающая в результате усиливающегося испарения воды и транспирации растений. Вместе с тем суховей - атмосферная засуха с сильным ветром может и не вызывать почвенного дефицита влаги. При сильном ветре происходит быстрое высыхание тканей без пожелтения ("захват") или появляются ожоги в виде бурых пятен ("запал").

Как известно, разнообразные глинистые минералы (алюмосиликаты) и гумусовые вещества почвы - коллоиды могут удерживать значительное количество воды. Кроме того, вода входит в состав многих сложных химических комплексов, образующихся в почве. Эта вода называется *связанной* и недоступна для растений. Доступна растениям 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 влагоемкостью*. 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 соущая сила листьев, что активизирует поступление воды из почвы и раскрывание устьиц.

Тургор листьев, потерянный днем, восстанавливается вечером и ночью. Такое состояние растений называется *временным завяданием*, а влажность почвы, приводящая к этому, - *влажностью временного завядания (ВВЗ)*. Когда запасы доступной воды в почве исчерпаны, развивается *глубокое*, или *стойкое*, *завядание* растений, в этом случае тurgесцентность 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. В песке содержание доступной воды и влагоемкость ниже, чем в глине (рис. 4.1).

Большинство активно вегетирующих растений завядают при водном дефиците $-1,5$ МПа, а гибнут при -15 МПа ($\text{ВВЗ} = 2,5 \div -3,5$ МПа). Пыльца растений выносит водный дефицит до -100 , семена до -150 МПа.

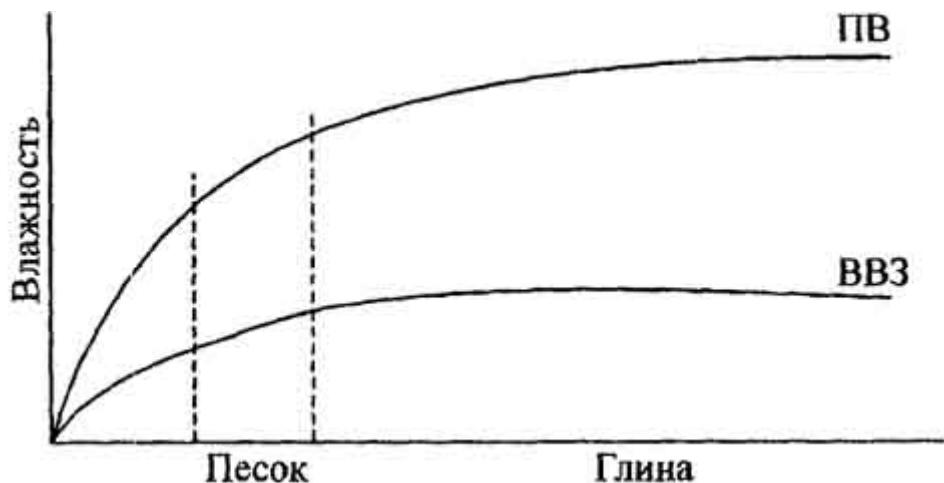


Рис. 4.1. Соотношение доступной и недоступной воды в почвах.
ПВ - полевая влагоемкость, ВВЗ - влажность временного завядания.

При небольшом дефиците воды (5-10%) интенсивность метаболизма у большинства растений достаточно велика. В этих условиях транспирация высока при максимально открытых устьицах. Эффективно осуществляются фотосинтез и другие процессы обмена веществ. Снижение содержания воды на 20-30% приводит к развитию водного дефицита в тканях, который возникает задолго до того, как содержание влаги в почве достигнет уровня устойчивого завядания.

4.1.1. Реакции растений на засуху

При недостатке влаги в растениях происходят значительные изменения обмена веществ. Содержание свободной воды в клетках уменьшается, возрастает концентрация клеточного сока и цитозоля. Гидратные оболочки белков и других полимеров уточняются 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 мембранны утрачивают бислойные структуры и в них обнаруживаются значительные конформационные изменения (образование гелевой фазы). Меняется и качественный состав мембран, поскольку инактивируются десатуразы, что приводит к уменьшению количества ненасыщенных жирных кислот (линолевой, линоленовой) в составе липидных компонентов мембран. В результате индекс ненасыщенности падает, что установлено для хлоропластов, митохондрий, ЭПР. Текущесть 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 актив-

ность 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 Ca^{2+} .

Гидролиз различных органических веществ начинает преобладать над их синтезом. В результате протеолиза 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, и 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 транспираирующую поверхность.

Идет интенсивный распад полирибосом, снижается интенсивность синтеза РНК, и уменьшается ее количество. Активируются рибонуклеазы. Изменение же ДНК наблюдается только при сильной и длительной засухе.

Происходит задержка роста вследствие торможения и клеточного деления и растяжения, для которого особенно необходима вода. В результате клетки становятся более мелкими, чем обычно. Наряду с ингибированием роста листьев и стеблей рост корней, особенно у засухоустойчивых растений, может даже активироваться для скорейшего достижения водоносных слоев почвы.

Изменения интенсивности дыхания в зависимости от содержания воды в тканях графически в большинстве случаев могут быть представлены колоколообразной кривой, отражающей их двухфазный характер. При небольшой потере воды наблюдается возрастание интенсивности дыхания, а при глубоком дефиците - понижение. Первоначальное повышение интенсивности дыхания связано с увеличением энергетических затрат на синтез осмотиков, защищающих белки при обезвоживании. При более продолжительном воздействии происходит спад интенсивности дыхания и снижается его энергетическая эффективность в результате повреждения дыхательных систем.

Интенсивность фотосинтеза снижается раньше, чем интенсивность дыхания. Ингибируются как фотохимические реакции, так и реакции восстановления CO_2 . Ограничение работы фотосинтетического аппарата обусловлено закрыванием устьиц и уменьшением поступления углекислого газа, а также нарушением структуры хлоропластов и синтеза хлорофилла, разобщением транспорта электронов и фосфорилирования, что ведет к дефициту АТФ в клетке. В совокупности с ингибированием ЭТЦ дыхания это способствует торможению синтетических процессов у растения в целом. К тому же при засухе накапливаются токсические продукты обмена, в том числе интермедиаты ПОЛ, особенно в связи с инактивацией фотосинтетического и окислительного фосфорилирования и высокой интенсивностью света.

Таким образом, неблагоприятное действие засухи состоит в первую очередь в обезвоживании и нарушении метаболических процессов. Такие реакции растений развиваются в ответ на недостаточное снабжение водой или комплексное действие водного дефицита, интенсивного света и перегрева. Кроме того, надо иметь в виду, что в онтогенезе существуют наиболее чувствительные периоды к высокой температуре и дефициту влаги. Эти периоды совпадают с наиболее интенсивным ростом растений и образованием гамет. Максимально устойчивы растения в период покоя, в виде семян, луковиц и т.п.

4.1.2. Группы растений, способных переносить засуху

По способности переносить условия засухи различают растения *гомойогидические*, т.е. способные активно регулировать свой водный обмен, и *пойкилогидические*, водный

обмен которых определяется содержанием воды в окружающей среде. При засухе они пассивно теряют воду.

Гомойогидрическими являются большинство высших растений. 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: *ксерофиты* - растения сухих местообитаний, *мезофиты* - обитатели мест с умеренным содержанием воды, и *гигрофиты* - наземные растения, находящиеся обычно в условиях избыточной влажности. Гигрофитам близки *гелофиты* - растения болот, берегов водоемов, и *гидрофиты*, обитающие в водной среде.

Ксерофиты, в свою очередь, по механизму приспособления к засухе подразделяются на следующие группы (рис. 4.2).

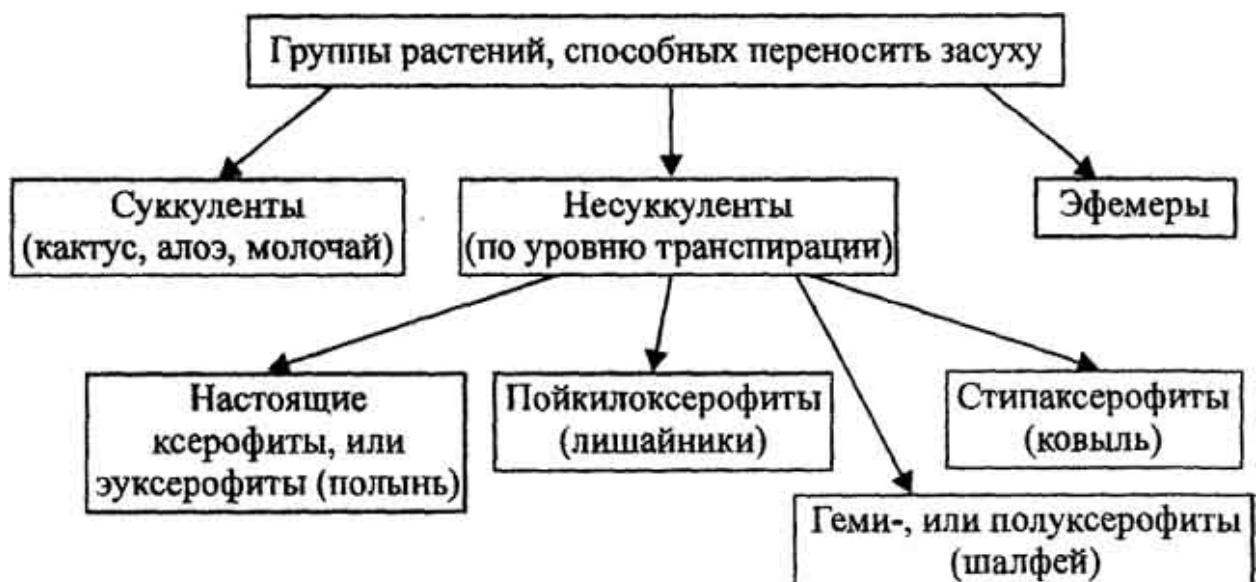


Рис. 4.2. Классификация; групп растений в зависимости от приспособления к засухе [по: П.А. Генкель, 1988]

Первая - *суккуленты*, или *псевдоксерофиты* (кактус, алоэ, молочай), запасающие влагу в листьях, стеблях, покрытых толстой кутикулой, волосками. Транспирация, фотосинтез, рост осуществляются медленно. Разветвленная корневая система уходит в почву неглубоко. Траты воды сведены к минимуму, и обезвоживание суккуленты переносят плохо. Эти растения способны использовать даже скучную влагу атмосферных осадков. К ним относятся растения с CAM-типом фотосинтеза (Crassulacean Acid Metabolism), которые эффективно используют воду. У таких растений мало устьиц, днем они обычно закрыты, что предотвращает потерю воды, а открываются ночью. Тогда CO₂ поступает в листья и в результате карбоксилирования фосфоенолпиривата сохраняется в виде оксалоацетата, который, восстанавливаясь до малата, накапливается в вакуолях клеток листа. Использование внутренних резервов CO₂ происходит днем при закрытых устьицах. Малат из вакуоли поступает в цитоплазму, декарбоксилируется НАДФ-зависимым малик-энзимом, в результате чего образуются пируват и CO₂. Углекислота поступает в хлоропласти и включается в цикл Кальвина.

Вторая- *несуккулентные ксерофиты*, которые, в свою очередь, по уровню транспирации делятся на четыре группы:

1) *эуксерофиты*, или *настоящие ксерофиты* (полынь), жароустойчивы, с небольшими, опущенными листьями, транспирация невысока, могут выносить сильное обезвоживание, осмотическое давление велико; корневая система разветвлена, находится на не-

большой глубине; для них характерно экономное расходование воды благодаря регуляции работы устьиц; они переносят как обезвоживание, так и перегрев; тем не менее при обилии воды в почве рост этих растений интенсифицируется;

2) *гемиксерофиты*, или *полуксерофиты* (шалфей), отличаются очень интенсивной транспирацией благодаря деятельности глубокой корневой системы, доходящей 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;

3) *стипаксерофиты* (степные злаки - ковыль) быстро используют влагу кратковременных дождей, хорошо выносят перегрев, но лишь недолгое обезвоживание;

4) *пойкилоксерофиты*, в отличие от гомойогидрофитов, не способны регулировать водный режим, поэтому теряют воду, вплоть до перехода в воздушно-сухое состояние, и при засухе впадают в анабиоз; к этой группе относятся лишайники, мхи, ряд цветковых растений; водный дефицит вызывает у них постепенное снижение интенсивности обмена веществ; клетки пойкилоксерофитов, отдавая воду, постепенно уменьшаются в объеме.

Третья - *эфемеры*, растения, которые "уходят" от засухи: их короткий вегетационный период совпадает с периодом дождей.

Мезофиты также могут приспосабливаться к временной засухе, при этом у них выявляются признаки ксерофитов. Например, верхние листья, которые хуже снабжаются водой, у мезофитного растения отличаются мелкоклеточностью. У них большое количество мелких устьиц на единицу поверхности, которые дольше остаются открытыми; сеть проводящих пучков гуще, палисадная паренхима развита лучше. Явление ксероморфизаций верхних листьев известно как закон В.Р. Заленского (1904). 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 наряду с редукцией листьев, опущенностью, толстой кутикулой и т.п. служит анатомическим приспособлением к недостатку воды.

4.1.3. Механизмы приспособления растений к засухе

Существование растений при водном дефиците зависит от доступности воды и от эффективности ее использования. Лучше переносят засуху растения, обеспечивающие себя водой или использующие ее наиболее продуктивно. Механизмы устойчивости к водному дефициту обычно делят на способы избежания стресса, т.е. сохранения нормальной оводненности растительных тканей, и механизмы толерантности, позволяющие функционировать при дегидратации (рис. 4.3).



Рис. 4.3. Пути приспособления растений к засухе

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 их 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 опущенность, многослойный эпидермис и палисадная паренхима (мезофиты, ксерофиты);
- 6) толстая кутикула для снижения кутикулярной транспирации, которая может составлять от 5% до 25% 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 к перенесению 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.

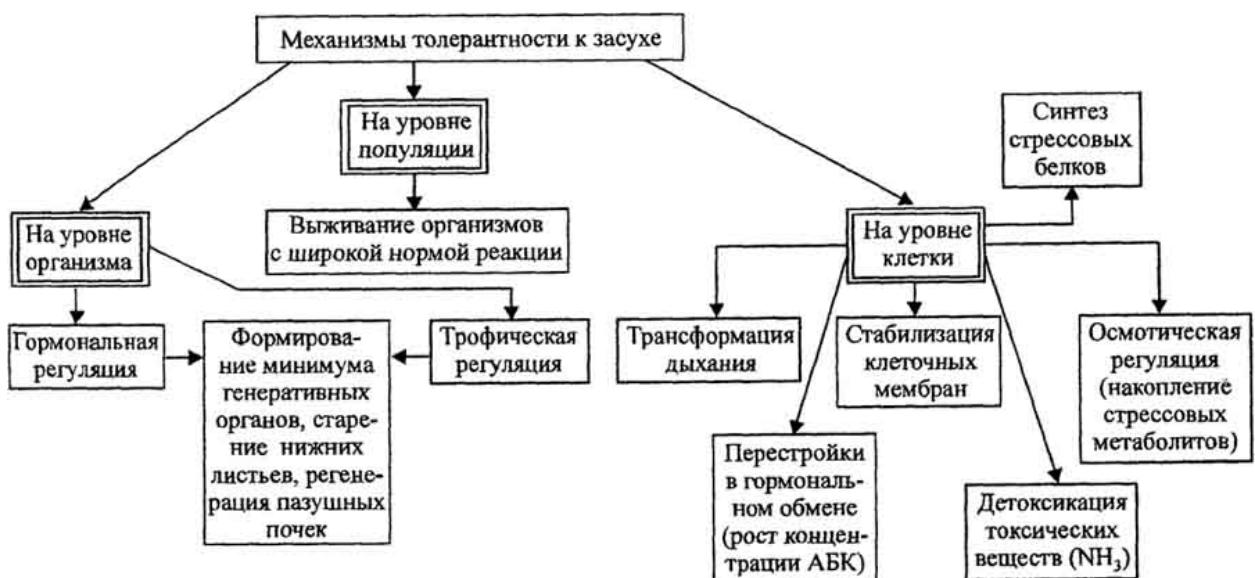


Рис. 4.4. Механизмы приспособления растений к засухе на уровне клетки, организма и популяции

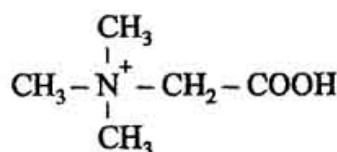
Нередки также случаи "ухода" от периода засухи. Например, прохождение вегетации до наступления сильной засухи (эфемеры).

Механизмы толерантности (рис. 4.4) обеспечивают растениям выживание и рост при низком водном потенциале в результате снижения интенсивности обмена веществ (пойкилоксерофиты) или метаболических перестроек (эуксерофиты). Во многом эти механизмы те же, что и для избежания обезвоживания.

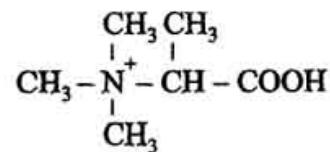
Особое значение они имеют в аридных зонах при экстремальных условиях, когда доступных запасов влаги в почве нет, а водоудерживающей способности оказывается недостаточно, чтобы защитить растения от обезвоживания и низкого водного потенциала (настоящие ксерофиты - эуксерофиты, пойкилоксерофиты, впадающие в анабиоз). При

этом у мезофитов и ксерофитов высокий водный потенциал может сочетаться как с большой эффективностью использования воды (низкий коэффициент транспирации у эуксенофитов), так и со значительной потребностью в воде (высокий транспирационный коэффициент у теми- и стипаксерофитов).

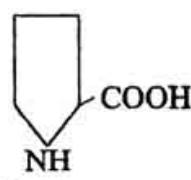
Механизмы толерантности функционируют на уровне клетки, организма и популяции. На уровне клетки большую роль в обеспечении высокого водного потенциала играет *осмотическая регуляция* (рис. 4.4). Осмотики должны быть нетоксичными, обладать очень высокой растворимостью, по возможности быть биполярными, чтобы заменять диполи воды, и не участвовать в основных метаболических процессах (именно поэтому сахара - плохие осмотики). Роль осморегулирующих веществ играют различные моно- и олигосахариды, аминокислоты, в первую очередь пролин, производные аминокислот - бетаины и многоатомные спирты (рис. 4.5). Особое значение в осморегуляции имеет *свободный 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. Он синтезируется из глутамина, а бетаин - из аминоспирта холина, входящего в состав фосфолипидов. Содержание этих предшественников увеличивается в стрессовых условиях в связи с активацией гидролитических процессов и распадом белков и липидов.



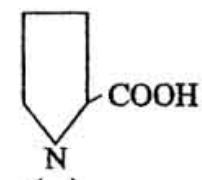
Бетаин
(глицинбетаин)



Аланинбетаин



Пролин

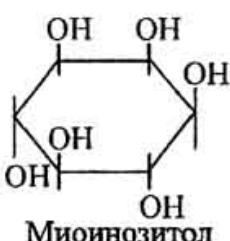


Пролинбетаин

Полиолы



Глицерол



Миоинозитол



Сорбитол



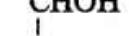
Маннитол



Арабитол



Сорбитол



Маннитол

Рис. 4.5. Структура основных осмофильных соединений

В условиях водного дефицита активируется синтез не только низкомолекулярных осмотиков, но и различных стрессовых белков, в том числе и белков, удерживающих воду и ионы. Так, в клетках при засухе накапливается осмотин-катионитный белок, его содержание может составлять 12% от общего содержания белка. Он локализован в вакуолях и везикулах тонопласта. Стимулируют синтез осмотина и его мРНК иАБК.

При обезвоживании синтезируются белки - дегидрины семейства LEA. Эти белки, как указывалось выше (см. 1.2), при нормальном водоснабжении растений обычно синтезируются в зародышах на стадиях позднего эмбриогенеза, когда происходит естественное обезвоживание созревающих семян. Различные представители этого семейства белков взаимодействуют с клеточными структурами, предохраняя их от деградации при обезвоживании, связывают воду. В состав стрессовых белков входят также аквалорины - каналы для поступающей воды, которые облегчают водный транспорт через мембранны в осмотически зависимых ситуациях. У растений найдены два типа аквапоринов - в плазматической и вакуолярной мембранах.

К функциональным белкам, способствующим повышению устойчивости к засухе, относятся и многочисленные гидролазы, в том числе ферменты протеолиза, ингибиторы протеаз, ферменты биосинтеза осмотиков. При водном стрессе синтезируются также регуляторные белки, которые участвуют в экспрессии генов и сигнальной трансдукции.

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-лути, способствующая увеличению эффективности использования воды. Другой пример: при засухе увеличивается уровень активных радикалов кислорода - супероксидов, и вместе с тем экспрессируются некоторые изоформы СОД, что ведет к удалению радикалов и увеличению устойчивости.

Накопление указанных осмотически активных веществ обеспечивает высокую вододержающую способность цитоплазмы. Благодаря осмотической регуляции у растений при засухе сохраняются тургор и открытость устьиц, а следовательно, возможность нормального роста и поддержание других физиологических процессов. Степень осморегуляции специфична для видов и сортов и зависит от интенсивности засухи. При жестком водном дефиците ее роль в устойчивости снижается (суккуленты, гемиксерофигы).

Помимо осмотической регуляции в обеспечении толерантности клетки важную роль играет *стабилизация клеточных мембран* (рис. 4.4). У растений, устойчивых к засухе, при дегидратации предотвращаются разрушение бислойной структуры липидов и соответствующие структурные и конформационные изменения белков мембран. Этому способствует накопление при обезвоживании ди- и олигосахаридов. Они взаимодействуют с полярными головками фосфолипидов, не допуская слипания мембран. Эти соединения противостоят также повышению температуры фазового перехода гель-жидкий кристалл (гель-золь). В результате целостность мембран у организмов, устойчивых к засухе, сохраняется лучше. Так, плазмалемма у приспособленных к засухе растений теряет барьерные свойства в ходе дегидратации при значительно более низком содержании воды, чем у чувствительных. Сохранение стабильности мембран важно для эффективной осморегуляции, поскольку только функционально активные мембранны способны выдержать большие концентрации осмотиков. Стабильность мембран необходима для поддержания энергетических процессов - аэробного дыхания и фотосинтеза.

У мезофитов, различающихся по устойчивости к засухе, кривые интенсивности дыхания в зависимости от степени обезвоживания отличаются по положению максимума. У устойчивых растений максимальная интенсивность дыхания достигается при более сильном водном дефиците, чем у неустойчивых (рис. 4.6). Если сравнивать интенсивность дыхания у растений, относящихся к различным группам по способности переносить засуху, оказывается, что у ксерофитов с потерей воды дыхание долгое время не меняется, т.е. их дыхательные системы более устойчивы к обезвоживанию. У пойкилоксерофитов, например фиалки сербской (*Ramondia serbica*), наоборот, интенсивность дыхания определяется насыщенностью клеток водой (рис. 4.7).

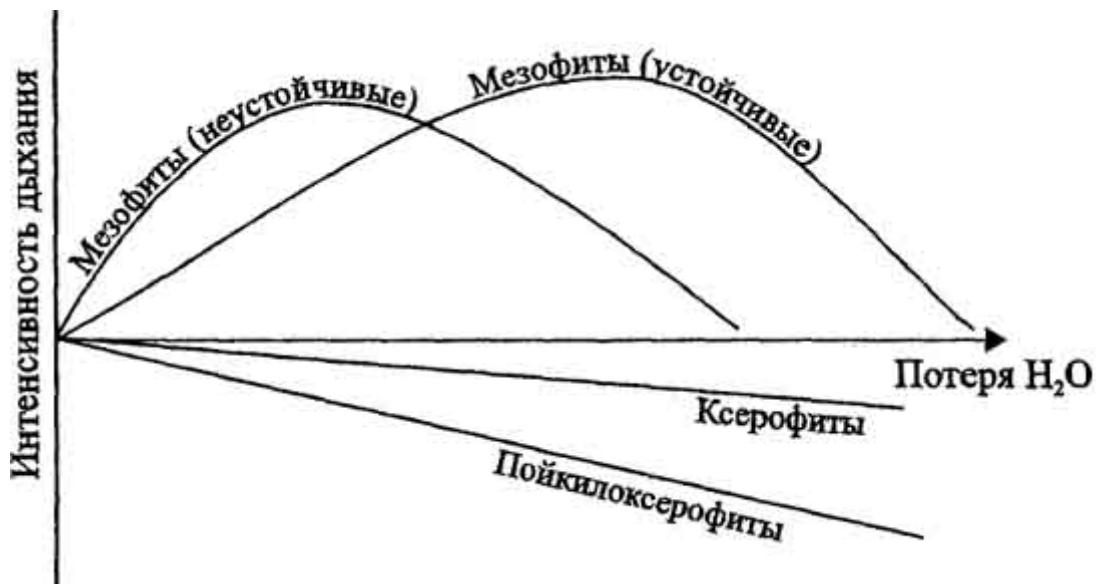


Рис. 4.6. Влияние дефицита воды на интенсивность дыхания растений в зависимости от их устойчивости к засухе

Что касается качественных перестроек дыхания, то при засухе возрастает доля ПФП по сравнению с дихотомическим. Это явление связывают с потребностью в увеличении оттока восстановительных эквивалентов, необходимых для процессов гидроксилирования, в ЭПР.

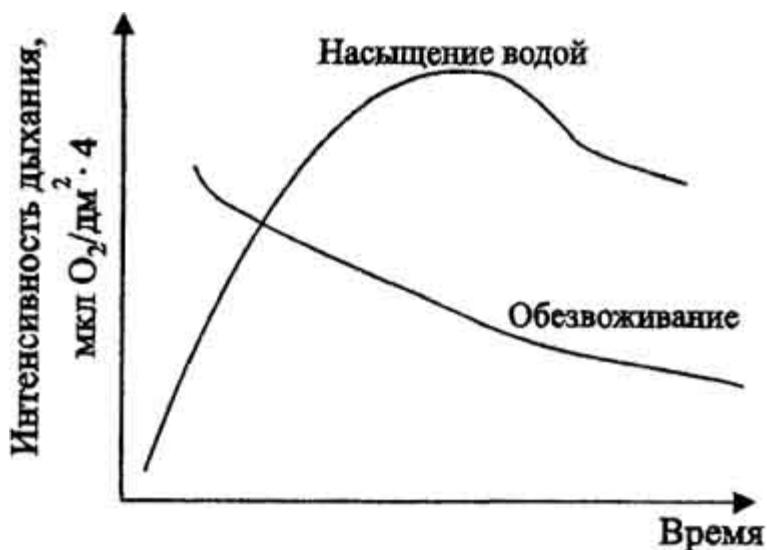


Рис. 4.7. Зависимость дыхания пойкилоксерофита фиалки сербской (*Ramondia serbica*) от обеспеченности водой

Усиливается активность внемитохондриальных систем окисления в результате ослабления переноса электронов в ЭТЦ митохондрий при засухе, что связано с обеспечением детоксикации продуктов распада. Обезвреживание (жободнорадикальных соединений, которые образуются при засухе, как и при других стрессовых воздействиях, за счет активации анти-оксидантных систем весьма существенно для устойчивости к обезвоживанию. Таким образом, *детоксикация продуктов распада* также входит в число важных механизмов толерантности (рис. 4.4).

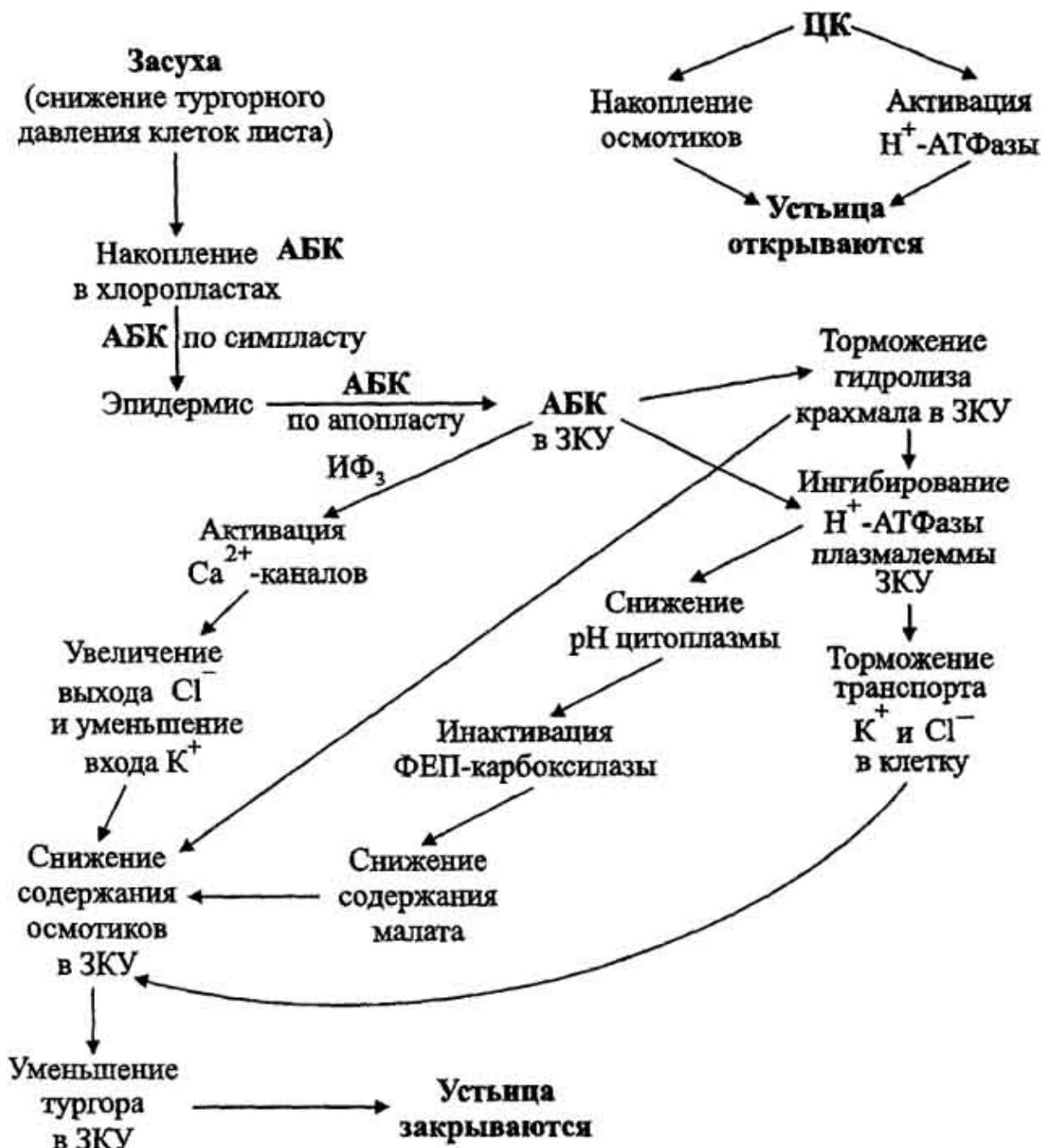


Рис. 4.8. Гормональная регуляция работы устьиц при засухе. ЗКУ - замыкающие клетки устьиц. Объяснения в тексте.

Детоксикация образующегося при протеолизе аммиака осуществляется с участием органических кислот, количество которых возрастает при засухе и высоких температурах за счет активации дыхания. С необходимостью обезвреживания накапливающихся при

засухе фенольных соединений связывают и повышение активности пероксидазы-окси-пролинсодержащего белка. Считается, что это стрессовый фермент, который активируется при различных воздействиях. Под влиянием засухи появляются новые изоизомы пероксидазы. Поскольку пероксидаза частично выполняет функции ИУК-оксидазы, увеличение числа ее изоизомов объясняется необходимостью разрушения с их помощью ИУК и торможением роста. Кроме того, повышение активности этого фермента и расширение ее изоэнзимного спектра при засухе может быть связано с разрушением пероксида водорода и ограничением свободнорадикальных процессов. Пероксидаза активируется также под влиянием этилена, уровень которого, а также АБК возрастает при недостатке влаги. Количества же гормонов-активаторов роста: ауксина, гиббереллинов (ГБ), цитокинина (ЦК), наоборот, падает. Следовательно, перестройки в *гормональной системе растений* тоже относятся к механизмам устойчивости к засухе.

Накопление АБК вызывает закрывание устьиц (рис. 4.8). Работа устьичного аппарата основывается на осморегуляции замыкающих клеток устьиц, которые благодаря асимметрическому утолщению клеточной стенки открывают устьичную щель в тurgесцентном состоянии и закрывают ее при потере тургора. Высокое осмотическое давление в замыкающих клетках поддерживается за счет образования маната при карбоксилировании ФЕП и активного транспорта ионов калия и хлора. Снижение тургорного давления в клетках при обезвоживании резко активирует синтез АБК, которая накапливается главным образом в хлоропластах листа. АБК выходит из хлоропластов и по симпласту транспортируется в эпидермис. Оттуда по апопластву гормон попадает в замыкающие клетки устьиц, где ингибирует работу H^+ -АТФаз плазмалеммы и гидролиз крахмала в хлоропластах. Инактивация протонной помпы снижает поступление ионов калия и хлора (вторичный активный транспорт тормозится при ингибировании первичного). Это приводит к закислению цитоплазмы. Низкое значение pH инактивирует ФЕП-карбоксилазу, оптимум активности которой находится в щелочной среде, и ведет к снижению уровня малага. Через фосфоинозитольный цикл АБК активирует кальциевые каналы. Нарастание содержания кальция в цитоплазме ведет к деполяризации мембранных ионных каналов плазмалеммы открываются, и ионы хлора покидают клетку. Одновременно закрываются калиевые каналы, что приводит к снижению поступления в клетку калия. В результате этих процессов содержание осмотиков в замыкающих клетках падает, они теряют тургор и устьица закрываются.

В отличие от АБК накопление ЦК способствует открыванию устьиц вследствие активации протонной помпы и накопления осмотиков в замыкающих клетках, что весьма неблагоприятно при обезвоживании. Однако во время reparации после засухи обработка ЦК значительно улучшает состояние растений. Поэтому открывание устьиц во время засухи осуществляется посредством регуляции уровней АБК и ЦК в растительных тканях.

Кроме того, АБК участвует в осморегуляции и других клеток. Она активирует синтез пролина и целого ряда стрессовых белков: аквапоринов, дегидринов, осмотина, ферментов синтеза пролина и т.п. Это способствует запасанию гидратной воды, тормозит синтез РНК и обычных белков. Действие АБК затрагивает метаболизм других фитогормонов. Она усиливает синтез этилена, оказывает ингибирующее воздействие на транспорт ауксина, задерживает синтез и ускоряет распад цитокинина. Совместно с этиленом или самостоятельно АБК вызывает опадение листьев.

Изменение гормонального статуса приводит к *торможению роста*, при этом потребности организма в воде уменьшаются. Обмен веществ переводится в режим покоя, энергетические процессы переключаются на поддержание целостности растения и reparацию повреждений.

Отметим, что у пойкилоксерофитов, переходящих при наступлении засухи в состояние анабиоза, прекращение роста не связано с накоплением ингибиторов роста, хотя у некоторых растений повышается содержание ингибиторов роста фенольной природы, например хлорогеновой кислоты, flavonoidов, фенолкарбоновых кислот. Изменения в со-

держании фитогормонов, но более кратковременные, наблюдаются и у мезофитов при засухе.

Для синтеза стрессовых белков и успешного восстановления обмена после засухи важно сохранение ненарушенным *генетического аппарата клетки*. Защита нуклеиновых кислот от засухи осуществляется различными стрессовыми белками - шаперонами. Они в состоянии долгое время поддерживать целостность ДНК даже при абсолютном обезвоживании (у пойкилоксерофитов). Повреждение ДНК обнаруживается лишь при сильной и длительной засухе. На этом этапе главную роль играют системы reparации повреждений.

Сигнал засухи воспринимается осмосенсорами, которыми могут быть механические изменения плазматической мембраны или состояния цитоскелета, окислительный взрыв, т.е. накопление активных форм кислорода (рис. 4.9). В цитоплазме клетки имеются белковые факторы транскрипции (трансфакторы), DREB (dehydration responsible elements binding), связывающиеся с элементами дегидратации - регуляторными элементами (промоторами) генов в ядре (DRE) TACCGACAT.

Трансдукция сигнала из цитоплазмы в ядро связана с участием ионов кальция, ионитольного цикла, фосфорилированием, которое осуществляется Са- или МАР- 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 и даже кислородной недостаточности, т.е. при нарушении осмотической регуляции, может быть и АБК. Последовательность и компоненты реакций при действии АБК подобны описанным выше (рис. 4.9). Их дополняет только иной регуляторный белок, относящийся к белковым факторам транскрипции (b-zip), и регуляторный элемент генов - ABRE (PyACGTGGC), т.е. элементы ответа на 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.

Итак, к клеточным механизмам толерантности относятся: 1) осмотическая регуляция; 2) стабилизация клеточных мембран; 3) перестройки в процессе дыхания; 4) детоксикация токсических продуктов обмена; 5) изменение гормональной регуляции обмена веществ; 6) перестройки в работе генетического аппарата, направленные на регуляцию синтеза стрессовых белков (рис. 4, 4).

Помимо механизмов устойчивости к действию обезвоживания на клеточном уровне включаются защитные реакции и на уровне организма (рис. 4.4), в которых участвует трофическая система регуляции. 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 относится и формирование минимума (вследствие опадания или недоразвития) генеративных органов, которые растение в состоянии обеспечить питательными веществами. Это обусловлено конкурентными отношениями между организмами за воду, питательные и другие вещества. Ускоряется также старение нижних листьев, происходят регенерация и рост пазушных почек или регенерация утраченных органов.

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, т.е. существует внутривидовая вариабельность уровня устойчивости.

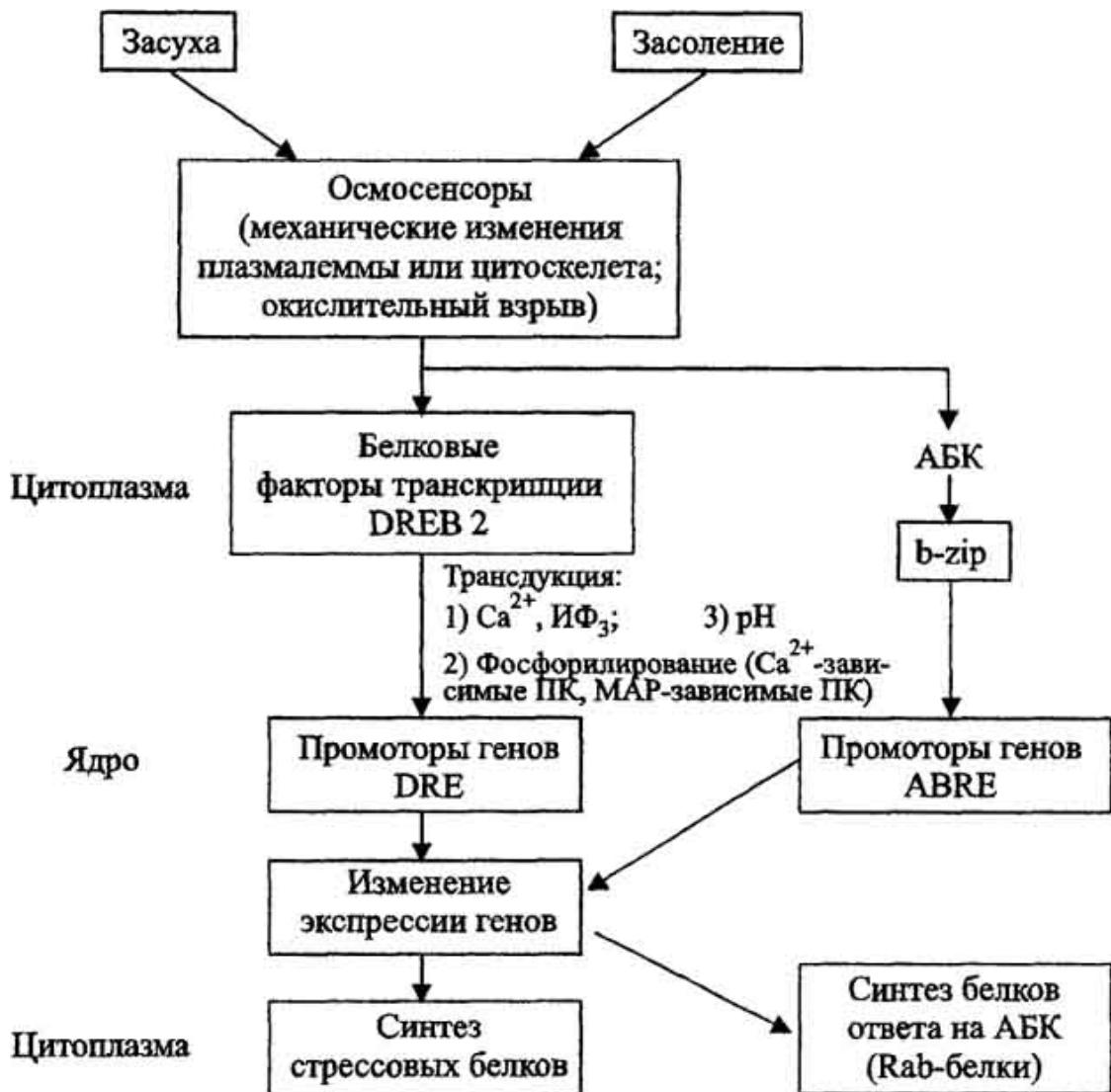


Рис. 4.9. Индукция синтеза стрессовых белков при засухе и засолении.

ПК - протеинкиназы, ИФ₃ - инозитолтрифосфат, DREB 2 - dehydration responsible elements binding - белковые факторы транскрипции, отвечающие на засуху; DRE - dehydration responsible element - элементы ответа на засуху в промоторах генов; b-zip - регуляторный белок; ABRE - элементы ответа на АБК; Rab - белки ответа на АБК.

4.1.4. Повышение устойчивости 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. Защитное действие цитокинина связывают с его влиянием на структуру и функции макромолекулярных компонентов клетки.

Обработка гормонами важна и в целях повышения деятельности белок-стимулирующих систем. При предпосевной закалке к засухе функциональная активность рибосом стимулируется, что также определяется большой устойчивостью белоксинтезирующей системы. 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 как работа фотосинтетического аппарата, так и отток ассимилятов в репродуктивные органы, поскольку калий участвует в транспорте сахарозы. Будучи кофактором многих реакций фотосинтеза и дыхания, калий оказывает стимулирующее действие на поддержание основных физиологических процессов. Итак, закалке, или акклиматации к осмотическому стрессу, способствует обработка защитными веществами (сахарами, АТФ, пролитом), гормонами (цитокинином, а также препаратом цитокининподобного действия - картолином), 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. Так, например, ген *p5cs* из *Vigna aconitifolia*, который кодирует бифункциональный энзим, обладающий каталитическими активностями γ -глутамилкиназы и глутамил- γ -семиальдегид-дегидрогеназы, использовался для трансформирования табака. Этот энзим катализирует превращение глутамата до Δ' -пирролин-5-карбоксилата, который затем восстанавливается до пролина. 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. В листья табака вводили также ген *TPS1*, кодирующий трегалозо-6-fosфатсингазу из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Трансгенные растения табака приобретали устойчивость к засухе при возрастании уровня нередуцирующего дисахарида трегалозы, также обладающей осмозащитными функциями. Близкие данные получены при стимулировании синтеза фруктана и ряда других веществ с осмотическими свойствами. Трансгенные растения табака, у которых удалось экспрессировать СОД, также оказались более толерантными к дефициту воды.

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

4.2. ЖАРОСТОЙКОСТЬ

Высокие температуры растениями переносятся гораздо хуже, чем низкие. Снижение температуры зимой растения могут переживать в течение нескольких месяцев, тогда как перегрев вызывает гибель у большинства растений через несколько часов. Истинных термофилов среди высших растений почти нет, хотя некоторые суккуленты, например *Opuntia*, приспособленные к условиям жаркого климата, выдерживают температуру 60-65°C. В основном термофилы - это различные бактерии, некоторые водоросли, живущие в термальных источниках или в кратерах вулканов и выдерживающие температуры 60-90°C.

Мембранны при высоких температурах повреждаются в первую очередь, увеличивается их проницаемость. В отличие от других воздействий при повышении температуры увеличение текучести мембран приводит к потере физиологических функций. Растет вяз-

кость цитоплазмы, поэтому интенсивность циклоза (движения цитоплазмы) тормозится, возрастает и концентрация клеточного сока. Усилившийся экзосмос веществ из клетки приводит к снижению осмотического давления. Одновременно происходит повышение осмотического давления за счет активации гидролиза основных полимеров органических веществ. Гидролиз оказывается более мощным, чем в условиях засухи, поэтому распад белков, например, может идти вплоть до токсичного для растений амиака. 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. Правда, известны данные и об отсутствии активации альтернативного пути при повышенной температуре.

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

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 эффекта высокотемпературного стресса, что особенно характерно для C₃-растений, в отличие от более устойчивых к засухе и высокой температуре C₄- и CAM-растений.

Продолжительное воздействие или действие очень высокой температуры (55–65°C) 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", называемые "запалом", в отличие от "захвата" при засухе, когда листья остаются зелеными.

Механизмы приспособления к засухе и высокой температуре в значительной мере сходны, поскольку более высокая засухоустойчивость способствует повышению и жароустойчивости. Вместе с тем высокие температуры действуют на растения и в атмосфере, насыщенной влагой, например в экваториальных лесах.

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, во-первых, 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 лишенные волосков, а летом белые и сильно опущенные. Все эти приспособления обеспечивают отражение интенсивной солнечной радиации и снижение потерь воды при испарении. Во-вторых, 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 биохимической адаптации. Жаростойкие растения отличаются: 1) значительным содержанием

нием прочносвязанной воды, что приводит к высокой вязкости цитоплазмы; 2) наличием тех же осмотически активных веществ, что и у засухоустойчивых растений: пролина, бетаинов, многоатомных спиртов, углеводов и гидрофильных олигопептидов; 3) повышенным содержанием органических кислот, которые связывают аммиак; 4) 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; 5) обезвреживанием продуктов ПОЛ с помощью системы антиоксидантов; 6) стабильностью липидов и белков мембран, что поддерживает их функциональную активность.

Приспособление к высоким температурам коррелирует с возрастанием степени насыщенности жирных кислот мембранных липидов. Ослабляются водородные связи и электростатические взаимодействия между полярными группами белков в водной фазе мембран. Поэтому интегральные мембранные белки, которые связаны с гидрофильными и липидными участками мембран, преимущественно взаимодействуют с липидной фазой, т.е. при высокой температуре модифицируются состав и структура мембран. Структурные белки и ферменты жаростойких растений отличаются термостабильностью, выдерживая температуру до 60-65°C. Это позволяет растениям осуществлять процессы обмена веществ в широком диапазоне температур. Важно также, что у термоустойчивых растений сохраняется высокая скорость ресинтеза белка и синтеза при перегреве белков теплового шока.

Роль синтеза стрессовых белков в устойчивости к высокой температуре пока доказана не полностью. Обсуждение этого вопроса началось с работ Ф. Риттозы в 1962 г. на полипенных хромосомах слюнных желез личинок дрозофилы. Полипенными называются гигантские хромосомы, образованные стопками параллельно упакованных гомологичных нитей хроматина, которых может быть больше 1000. Это позволяет изучать полипенные хромосомы под световым микроскопом, различать в них отдельные "диски", соответствующие генам, и наблюдать, как при активации генов плотная структура диска переходит во вздутие - "пуф", образующийся за счет разрыхления структуры хроматина в активном гене и накопления синтезирующихся молекул РНК. Ф. Риттоза обнаружил, что повышение температуры от 20 до 37 ° С приводит к образованию пуфов там, где они не появлялись при нормальной температуре. Так, были открыты гены теплового шока. Правда, позднее было обнаружено, что их можно активировать рядом воздействий и при нормальной температуре. Кодируемые этими генами белки были идентифицированы только в 1974 г. Они получили название белков теплового шока (БТШ). У всех организмов БТШ представлены большим набором полипептидов, их принято именовать в соответствии с молекулярной массой. Например, БТШ с молекулярной массой 70 кД называют БТШ70.

Вскоре выяснилось, что синтез БТШ в ответ на увеличение температуры характерен для клеток организмов всех типов: бактерии, грибов, животных всех уровней организации, человека, низших и высших растений. Обнаружена слабая гомология большинства БТШ у животных и микроорганизмов. Однако некоторые, например БТШ70 у кукурузы, дрозофилы и человека, гомологичны на 75%.

У растений БТШ впервые 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 двумерном 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. Отличительными чертами БТШ растений являются множественность их низкомолекулярных представителей и высокая интенсивность синтеза при тепловом шоке.

Синтез БТШ- стрессовая программа, включаемая при подъеме температуры на 8-10 ° С выше нормальной. В клетках растений мРНК, кодирующая синтез БТШ, обнаруживаются через три-пять 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 (рис. 4.10). Такое стремительное включение синтеза БТШ не только на транскрипционном, но и на трансляционном уровнях достигается в результате многих событий. Тепловой шок (ТШ) вызывает изменение мРНК, синтезированных в клетке до шока, происходит модификация белковых факторов трансляции и рибосомных белков. Кроме того, мРНК БТШ имеют отличия от мРНК обычных белков. Все это обуславливает ослабление, а затем и прекращение синтеза обычных белков в клетках и переключение аппарата белкового синтеза на синтез БТШ. В результате БТШ обнаруживаются в клетках уже через 15 мин после начала теплового шока, их синтез активируется, достигая максимума через два-четыре часа теплового шока, а затем ослабевает. Это указывает на быстрое изменение синтеза РНК, на образование de novo специфической мРНК, способной транслировать несколько полипептидов. Синтез БТШ подавляется при более высоких температурах, чем синтез обычных белков.

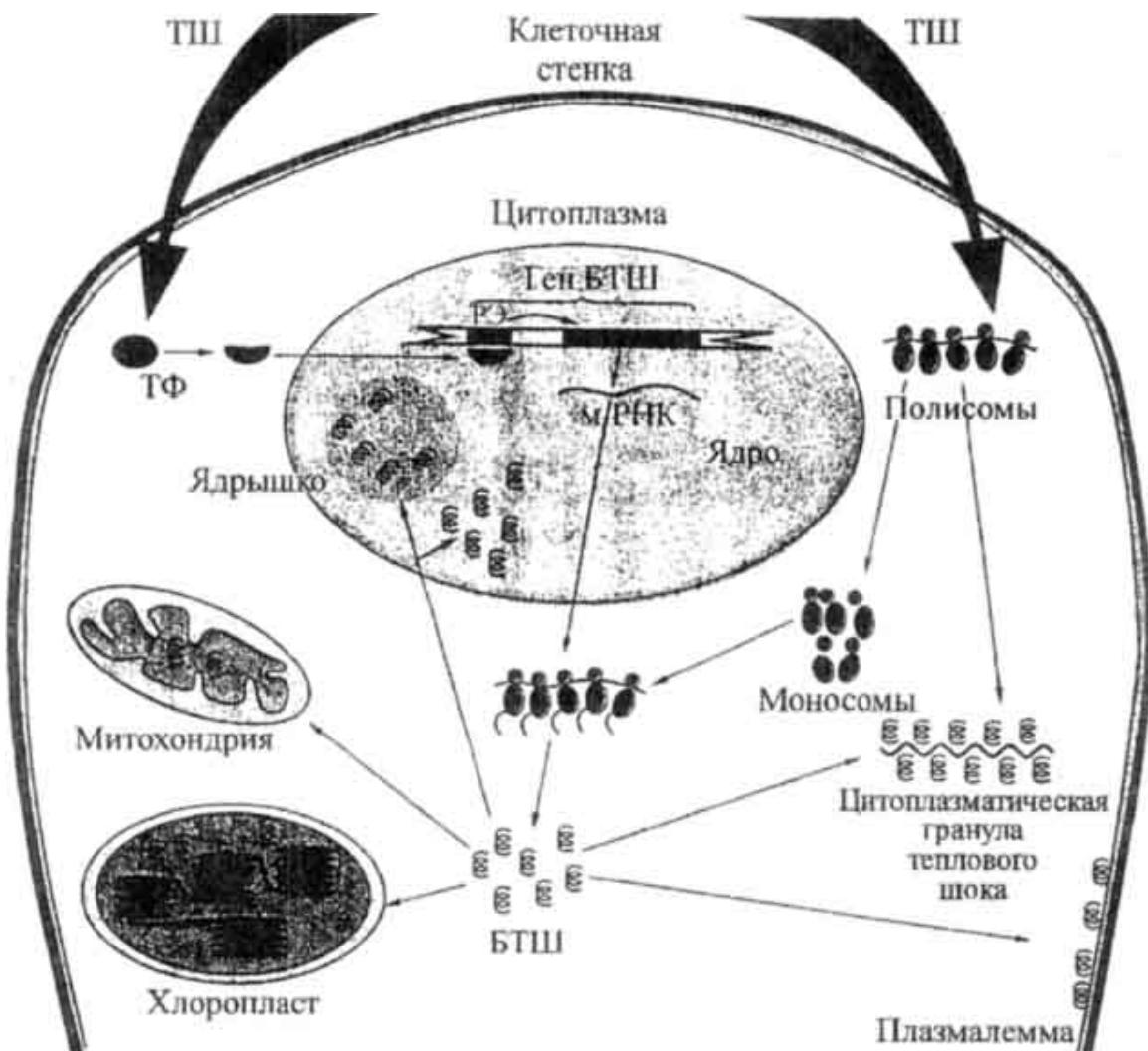


Рис. 4.10. Индукция синтеза белков теплового шока (БТШ) [по: О.Н. Кулаева, 1997].

ТШ - тепловой шок, ТФ - трансфактор генов БТШ, РЭ - регуляторный элемент генов БТШ, включающий их экспрессию при ТШ; спирали - БТШ. Объяснения в тексте.

Необходимо подчеркнуть, что 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 в индукции или репрессии синтеза специфических мРНК, или их трансляции, что приводит к изменению синтеза специфических полипептидов (рис. 4.10). 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) (рис. 4.10), т.е. специфическими нуклеотидными последовательностями ДНК в промоторной (регуляторной) зоне этих генов. У генов разных БТШ РЭ сходны, они высокогомологичны 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.

Эти механизмы, вероятно, сходны у всех эукариот. Так, введение в геном растительной клетки генетической конструкции, содержащей чужеродный репортерный ген (репортер - дающий информацию), под контролем РЭ гена БТШ70 дрозофилы вызывало экспрессию этого ре-портерного гена при тепловом шоке в клетках растения. Следовательно, трансфактор генов БТШ, находящийся в цитоплазме растительной клетки, узнавал в условиях теплового шока РЭ гена БТШ70 дрозофилы и включал экспрессию репортерного гена.

После окончания теплового шока синтез БТШ прекращается и возобновляется синтез белков, характерных для клетки в нормальных температурных условиях. При этом мРНК БТШ быстро разрушаются, тогда как белки могут сохраняться существенно дольше, обеспечивая, по-видимому, 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.

Однако функциональная роль этих белков не совсем ясна. В связи с тем что клетки всех живых организмов в условиях теплового шока переключаются на синтез БТШ, высказано предположение о защитной роли белков при повышенной температуре. Так, например, если проростки сои сразу помещали в условия высокой температуры - 52°C, то все они погибали, синтез БТШ не обнаруживался. Если проростки оставляли при 34°C на один час, а затем переносили в условия при 52°C, то выживало 50%. Синтез БТШ происходил, причем и у тех особей, которые погибали. Если же подъем температуры проводили постепенно (по 3°C в час), то все растения выживали. Синтез БТШ при этом происходил. Таким образом, термоустойчивость при синтезе БТШ повышалась.

Общность структуры БТШ и молекулярных механизмов включения их синтеза у самых разных организмов позволяет отметить следующее. Выключение синтеза белка специфическими ингибиторами во время теплового шока, когда происходит синтез БТШ, приводит к гибели клеток. Клетки можно закаливать, повышая их термоустойчивость путем предварительного кратковременного воздействия повышенных температур. Условия такой закалки совпадают с условиями индукции синтеза БТШ. Синтез БТШ индуцируется не только тепловым шоком, но и рядом других неблагоприятных воздействий (водным

дефицитом, засолением, тяжелыми металлами, обработкой АБК, поранением, низкой температурой и др.), причем синтез БТШ, вызванный, например, солями кадмия или другими нетемпературными воздействиями, повышает устойчивость клеток к нагреву. Изменения в структуре гена при мутации, например, нарушающей синтез БТШ, приводят и к потере устойчивости к нагреву.

Представленные аргументы убедительно свидетельствуют в пользу защитной роли БТШ при тепловом шоке. Тем не менее для выяснения молекулярного механизма защитных систем клеток важны исследования конкретной функции каждого БТШ определенной молекулярной массы. Так, БТШ70 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 БТШ70 необходимо для проникновения через мембранные хлоропласты, митохондрии, ЭПР. Агрегация белков резко усиливается при повышении температуры. Активация синтеза БТШ70 в этих условиях должна защищать белки от необратимого повреждения. Поскольку БТШ70 влияют на конформационное состояние других белков, их относят к группе шаперонов (англ. chaperon - провожатый, наставник при молодой особе). Взаимодействие БТШ70 с другими белками зависит от АТФ/АДФ: постулируется, что БТШ70 в комплексе с АДФ удерживает на себе расплетенный белок. Замена АДФ на АТФ приводит к освобождению этого белка из комплекса с БТШ70. Связанный с БТШ70 АТФ освобождается за счет АТФазной активности БТШ70 и замещается на АДФ. Возможно, БТШ70 совершает АТФ-зависимый цикл работы по "протаскиванию" белков через мембрану, в основе которого лежит изменение конформации БТШ70 в зависимости от связи с АТФ или АДФ.

Белки другой группы- БТШ60, также относятся к шаперонам. Эти белки обеспечивают правильную сборку четвертичной структуры клеточных белков. К шаперонам относят и БТШ90. Они играют важную роль в образовании комплекса стероидных гормонов с их рецептором. Например, БТШ90 образуют комплексы с некоторыми протеинкиназами, контролируя их активность. Таким образом, БТШ60, БТШ70 и БТШ90, по-видимому, 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 мишенью 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, называемых протеасомами. Поскольку тепловой шок, как и другие стрессовые факторы, приводит к появлению в клетках недостроенных и поврежденных белков, убиквитин может быть полезен для их удаления. Появление в клетках таких дефектных или недостроенных белков служит сигналом к синтезу БТШ даже при нормальной температуре. Более того, денатурированные или поврежденные белки могут быть индукторами синтеза и других стрессовых белков. Напротив, факторы, стабилизирующие структуру белков, тормозят синтез таких белков. Возможно, после действия стрессовых факторов возникает большое количество денатурированных белков и убиквитиновая система оказывается перегруженной. Оставшиеся "непомеченными" и нерасщепленными денатурированные белки дерепрессируют гены, кодирующие стрессовые белки. Таким образом, функции распознавания и деградации денатурированных при тепловом шоке полипептидов у растений способны выполнять некоторые БТШ.

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 полагают, что ГТШ предохраняют "дошоковые" мРНК, что дает возможность использовать их для синтеза белка после окончания шока. Термоустойчивость может и не сопровождаться образованием ГТШ.

Специфичность реакции на тепловой шок относительна, разные факторы (аноксия, высокая или низкая температура, химические агенты, засоление или поранение, голодание и др.) 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 reparации 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 пять-шесть 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. Исключение составляли полипептиды 33 кД, которые синтезировались и при тепловом, и при аноксическом стрессе.

Сходство некоторых стрессовых белков обнаружено и при других неблагоприятных воздействиях. Например, полипептиды молекулярной массы около 70 кД, выполняющие при тепловом шоке роль молекулярных шаперонов, появлялись в проростках кукурузы не только при повышении температуры/ но и при водном дефиците, поранении и под влиянием АБК. Вероятно, ген белков 70 кД активируется у кукурузы различными стрессорами и контролируется на транскрипционном уровне. Выдвинуто также предположение, что белки 24 и 82 кД, появляющиеся в проростках арабидопсиса в ответ на засоление, тепловой шок, действие тяжелых металлов, могут быть компонентами стрессовой реакции и иметь отношение к общей устойчивости растений. Высказана идея о существовании генов устойчивости, регуляция экспрессии которых осуществляется на уровне целого растения.

В настоящее время весьма актуально выяснение механизмов адаптации растений к комплексному действию стрессовых факторов. Так, после поранения картофельных клубней, находящихся в аэробных условиях, в растениях быстро синтезировался специфический набор белков. Однако после продолжительной инкубации поврежденных клубней в гипоксической среде индуцировался синтез другого набора белков. Некоторые из них определены как ферменты гликолиза, необходимые для анаэробного метаболизма. Таким образом, гипоксический стресс задерживал появление белков раневого ответа в клубнях картофеля.

Подобным образом при одновременном действии аноксии и высокой температуры на личинки дрозофилы происходила задержка образования пуфов теплового шока. Возможно, аноксия блокирует этап модификации транскрипционного фактора теплового шока, что приводит к задержке индукции генов теплового шока при одновременном действии двух стрессовых факторов.

В то же время есть доказательства и независимой экспрессии генов, кодирующих синтез как аноксических белков, так и белков теплового шока, при сочетании аноксического и высокотемпературного стрессов. Например, в зародышах риса большинство анаэробных полипептидов отличались от БТШ. У кукурузы идентифицированы два гена (ген 1005 и ген 217), шщукция которых также специфична только для кислородного голодания и не происходит при нагреве, охлаждении, солевом стрессе. Ген 1005 высокогомологичен упомянутой выше ксилоглюканэндотрансглюкозилазе, участвующей в структурных модификациях клеток коровой паренхимы при затоплении.

Последовательность включения разных сигналов из внешней среды, трансдукция их, связанная с участием ионов цитозольного кальция, с трансформацией белковых факторов, взаимодействием факторов транскрипции с промоторами и изменением экспрессии генов, т.е. с синтезом стрессовых белков, по существу, идентичны (рис. 1.10; 2.15; 4.9; 4.10). При этом белковые факторы транскрипции, способы их трансформации, промоторы и экспрессируемые гены обладают определенной специфичностью. Таким образом, проявляются как общие, так и некоторые своеобразные черты синтеза стрессовых белков при различных воздействиях на растение.

Повышения устойчивости к высокой температуре можно достичь закалкой семян или рассады. Опрыскивание 0,05%-ным раствором солей цинка тоже может способствовать термоустойчивости. Трансформация растений по ферментам синтеза осмотиков и ферментам антиоксидантной защиты также увеличивает их жаростойкость.

Изменение температуры выращивания приводит к сдвигу теплоустойчивости одних клеточных функций и не влияет на другие. Однако в случае фотосинтетического аппарата температурная акклиматизация повышает устойчивость всех мембранных и растворимых компонентов.

Усиливается при тепловом закаливании и поглощение кислорода, но дыхательный коэффициент не изменяется. При повреждающих значениях температуры происходит резкое снижение интенсивности дыхания и энергетического обеспечения клетки, активности дыхания. Указанные причины, а также нарушения структуры и функций мембран вследствие перехода липидов в нефункциональную кристаллическую форму и изменения белкового компонента приводят к снижению терморегуляции и повреждению растений. Таким образом, важно различать и закаливающее, и повреждающее воздействие температур.

Температура, которая вызывает снижение интенсивности дыхания более чем на 30% на протяжении одного часа, называется *критической* (например, 43°C). При таком значении температуры и выше отмечаются повреждающие воздействия. Если при закаливании происходят перестройка дыхания и повышение устойчивости, то при действии повреждающей температуры наблюдается нарушение функциональной активности клеток и организма в целом, которое восстанавливается лишь в случае кратковременных воздействий.

При закаливании изменяются и качественные особенности дыхания. Так, у закаленных при 38-40°C растений пшеницы и огурцов повреждение коферментов дегидрогеназ в листьях происходило при более высоких температурах, чем у незакаленных растений, т.е. теплоустойчивость ферментов дыхательного метаболизма при закаливании повышается параллельно изменениям дыхания в целом.

Глава 5 УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ

В зависимости от границ повреждающих пониженных температур растения делят на холода- и морозостойкие. Перепадам температур, действию заморозков и морозов подвергается значительная часть территории Земли. Большая территория России расположена севернее 60-й параллели, значительная часть ее занята вечной мерзлотой.

Под *холодостойкостью* растений понимают способность выносить низкие температуры, т.е. устойчивость теплолюбивых растений к низким положительным температурам. *Морозостойкостью* называют способность растений переносить температуры ниже 0°C - кратковременные заморозки и длительные зимние морозы. Различие значений температуры (положительные и отрицательные) влечет за собой качественно отличающиеся механизмы устойчивости.

5.1. ХОЛОДОСТОЙКОСТЬ

Для растений из различных мест обитания характерны неодинаковые границы повреждающих низких температур. Растения Крайнего Севера переносят охлаждение до -

60°C. Большинство теплолюбивых растений южного происхождения погибают при температуре 1-10°C. Хлопчатник при 1-3°C гибнет в течение одних суток, растения какао при +8°C - в течение нескольких часов.

5.1.1. Реакции растений на действие холода

При воздействии холода происходит потеря тургора листьями вследствие нарушения доставки воды к транспирирующим 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 (ниже порога), мембранные клетки 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⁺-АТФаза. 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. 5.1).

При действии более низкой температуры потеря мембранами ионов кальция очень велика (выше порога). В результате сильного воздействия количество ионов кальция в цитоплазме увеличивается и мембранные структуры нарушаются, так же как и функции мембраносвязанных энзимов. H⁺-АТФаза инактивируется, а фосфолипазы, наоборот, активируются, что вызывает утечку ионов и стимулирует деградацию мембранных липидов. В этом случае повреждения становятся необратимыми (рис. 5.1).

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, и тем чаще в ней возникают разрушения. Мутанты растений, дефектные по десатуразам жирных кислот, не способны переносить понижение температуры. В опытах по генной инженерии с использованием растительных десатураз жирных кислот было установлено изменение жидкостности мембран. При увеличении уровня ненасыщенных жирных кислот удавалось снизить чувствительность к понижению температуры, и наоборот, более высокая чувствительность к холду достигалась при возрастании количества насыщенных кислот (16:0). Так, у арабидопсиса мутанты по генам *fad5* и *fad6*, дефектные по синтезу хлоропластной десатуразы, отличались хлорозом листьев, замедлением роста и изменением формы хлоропластов при низких температурах. У мутанта по гену *fad2* при 16°C снижалась скорость роста, а при 6°C он погибал. Однако растения табака и арабидопсиса, трансгенные по *renyfad7*, кодирующему десатуразу, проявляли повышенную, по сравнению с диким типом, устойчивость к холду. Кроме того, изменения происходят и в составе фосфолипидов и стеролов, липиды теряют фосфаты, возрастает уровень свободных жирных кислот.

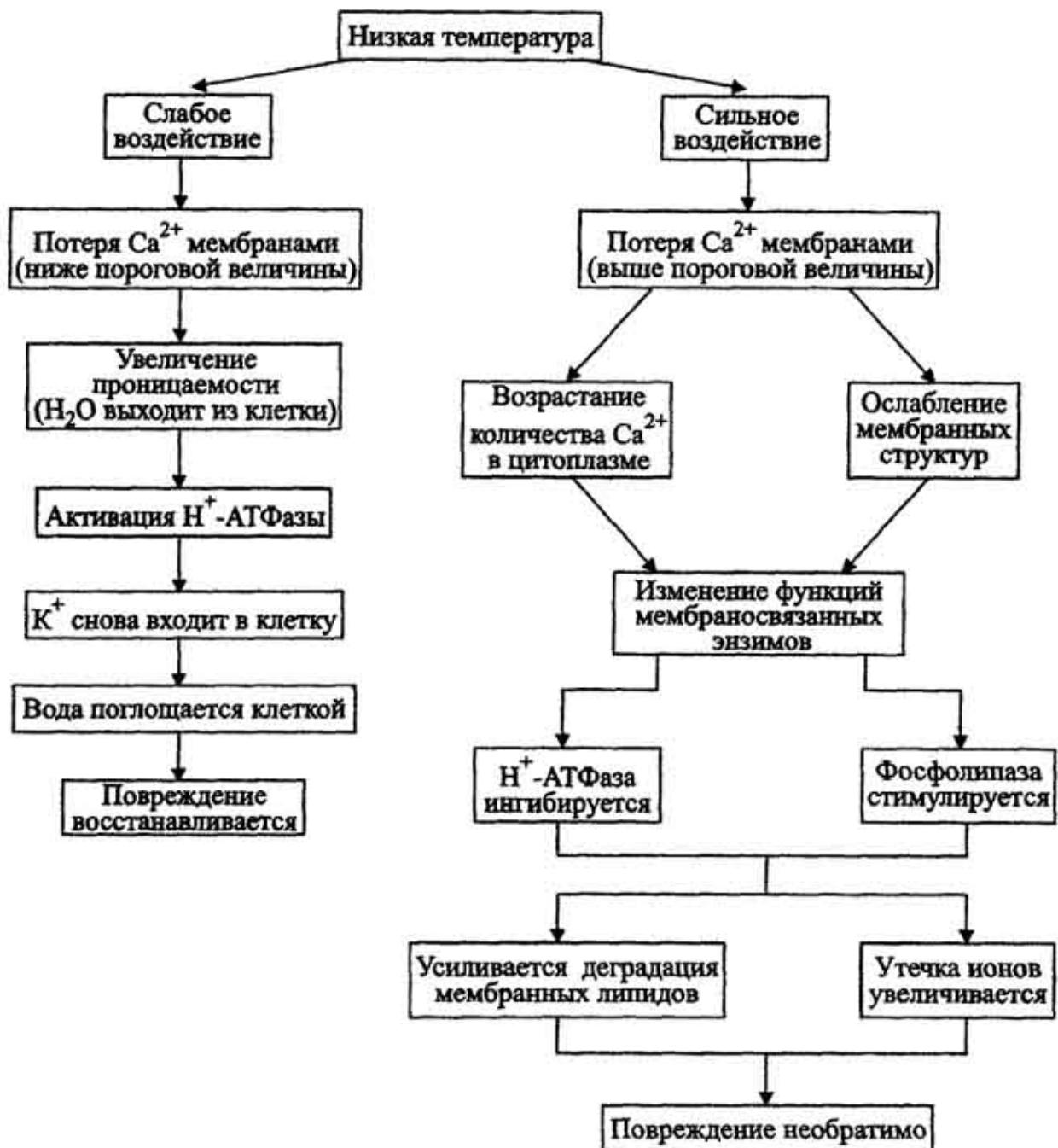


Рис. 5.1. Влияние низкой температуры на мембранны в зависимости от силы воздействия

Дезинтеграции мембран способствует и увеличение содержания свободных радикалов, свидетельствующее об усилении ПОЛ. Так, например, у риса при 2°C снижалась активность в тканях антиоксидантного фермента СОД и возрастало содержание конечного продукта ПОЛ - МДА. При обработке антиоксидантом α -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. Эти изменения неспецифичны, они очень похожи на такие же при недостатке кислорода или других воздействиях.

Вследствие дезинтеграции тилакоидных мембран хлоропластов нарушается фотосинтез, что касается и ЭТЦ, и ферментов цикла Кальвина. Эти повреждения, как и при

других воздействиях, наступали раньше, чем происходили сдвиги в дыхании. Повреждения 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. Скорость дыхания возрастает в 100 раз, а градиент температуры между цветком и воздухом может составлять 35°C (+15°C в цветке при -20°C в воздухе). Изменяется и соотношение путей дыхания в пользу ПФП.

Тормозится рост, изменяется баланс фитогормонов- возрастает содержание АБК (преимущественно у устойчивых сортов или видов), а ауксина - убывает. Понижение температуры ведет к изменениям и в транспортных процессах: поглощение NO₃ ослабевает, а NH₄ усиливается, особенно у приспособленных растений. Самым уязвимым при действии низкой температуры оказывается транспорт NO₃ из корней в листья.

Продолжительное действие низких температур приводит растение к гибели. Таким образом, основные причины отмирания растений состоят в необратимом увеличении проницаемости мембран, повреждении метаболизма клетки, накоплении токсических веществ.

5.1.2. Пути адаптации растений к пониженной температуре

Повышение устойчивости к низким температурам связано с предотвращением или устранением указанных выше причин повреждения и гибели растений. Мембранные устойчивые растения более стабильны, чем неустойчивые, 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 холдоустойчивых растений активны в широком температурном диапазоне, 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 холдоустойчивых растений также наблюдаются при большей продолжительности и силе воздействия. Транспорт метаболитов в листьях поддерживается в широком диапазоне температур, и дольше сохраняются донорно-акцепторные отношения. Кроме того, холдоустойчивые растения имеют достаточно большой запас Сахаров, что позволяет длительное время поддерживать дыхание, различные биосинтезы, а также использовать сахара для защиты от повреждения холдом.

В ходе холодового воздействия синтезируются и стрессовые белки холдового шока. Так, в проростках озимой пшеницы трехчасовая гипотермия (+3°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.

5.1.3. Способы повышения устойчивости к пониженной температуре

Устойчивость к холду удается повысить с помощью ряда приемов как у приспособленных к нему, так и в определенных рамках у теплолюбивых растений. При акклиматации

к пониженным температурам используется предпосевное закаливание семян. Наклонувшиеся семена теплолюбивых культур (огурцы, томаты, дыня) в течение нескольких суток выдерживают по 12 ч в условиях низких положительных ($1-5^{\circ}\text{C}$) и более высоких ($10-20^{\circ}\text{C}$) температур. Подобным образом можно закаливать рассаду и даже взрослые растения. В результате повреждения при охлаждении могут быть сведены к минимуму, особенно если закаливание проводилось постепенно. В ходе такой акклиматации возникают все те адаптивные изменения, которые рассмотрены выше: увеличивается ненасыщенность жирнокислотных компонентов мембран, синтезируются стрессовые белки, создаются системы детоксикации и т.п. И наоборот, резкое снижение температуры до 0°C вызывает холодовой шок и ведет к повреждению растений.

Холодостойкость повышается и при замачивании семян в 0,25%-ных растворах микрэлементов (смеси борной кислоты, сернокислого цинка и меди, в растворах нитрата или молибдата аммония), а также в янтарной кислоте, аммонийной селитре, хлорхолинхлориде. Способствует повышению устойчивости обработка растений экзогенными фитогормонами АБК и ЦК. Влияние АБК состоит прежде всего в торможении роста, а цитокинин стимулирует синтез белка при закаливающих температурах. Обработка же ингибиторами синтеза белка, а также гиббереллином и ауксином, наоборот, снижает устойчивость. При достаточном обеспечении ионами калия устойчивость растений возрастает и усиливается действие механизмов reparации. Обработка калием ведет к увеличению тургорного давления, лучшей сохраняемости мембран. Таким образом, закалке способствует применение веществ, ингибирующих рост и стабилизирующих целостность мембран и синтез белка.

5.2. МОРОЗОСТОЙКОСТЬ

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 вызываемый им сильный дефицит воды.

Проблема морозостойкости изучается несколько столетий. Было создано много теорий, с помощью которых пытались объяснить причины гибели растений от мороза (потеря тепла, разрыв сосудов, обезвоживание, льдообразование, повышение кислотности и концентрации клеточного сока, достижения специфического минимума температур и др.). Впервые критический анализ существовавших представлений о причинах вымерзания растений и обоснование ведущих направлений изучения проблемы морозостойкости сделал Н.А.Максимов (1913) в книге "Обезвоживающее и механическое деформирующее влияние льда на протоплазму". В настоящее время установлены причины гибели растений от низких температур и раскрыт физиологический механизм устойчивости к ним растений.

5.2.1. Причины гибели растений при низкой отрицательной температуре

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. Если же температуру снижать очень быстро, например поместив растительную или животную ткань в жидкий азот (-196°C), то кристаллы льда в цитоплазме не успевают образовываться и вода замерзает в состоянии так называемого аморфного льда. На этом свойстве основана криоконсервация различных биологических препаратов. Бактерии, используемые для производства плазмид или трансформации растений, тоже можно хранить в жидким азоте. Проблема состоит в способе оттаивания замороженных организмов. Для бактерий и животных клеток оттаивание должно быть таким же быстрым, чтобы

не было времени для образования кристаллов льда. Размораживание цитоплазмы идет более или менее равномерно. У растений же при наличии вакуоли проводимость для воды внутриклеточных мембран выше, чем тонопласта. Поэтому вакуоль оттаивает медленно и вся вода проникает во внутриклеточные органеллы. Это ведет к набуханию митохондрий и хлоропластов и к их разрыву от осмотического шока, что немедленно приводит к смерти клетки.

Постепенное понижение температуры в естественных условиях способствует образованию льда в межклетниках, в результате происходит обезвоживание клетки и ее деформация. Кристаллы льда вытесняют из межклетников воздух, и замерзающая ткань выглядит прозрачной. Возможно образование льда и внутри клеток. При оттаивании межклетники заполняются водой, которая затем поглощается клетками, если они еще не погибли от мороза. Тип вымерзания зависит от силы воздействия, физиологического состояния растений и их готовности к перезимовке.

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 - АТФаз тонопласта и плазмалеммы. Нарушение целостности мембран ведет к деградации структуры белковых и липидных компонентов мембран. Происходит денатурация мембранных белков, связанная с дегидратацией и высаливанием макромолекул, что способствует инактивации активного транспорта. Мембраносвязанные ферментативные системы являются наиболее чувствительными в клетке. Инактивация их вызывается накоплением вплоть до токсических концентраций неорганических и органических веществ, образующихся вследствие деградации 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 мембранны теряют свойство полупроницаемости, ускоряется выход веществ из клеток. Это определяет дальнейшие повреждения клеток (нарушение гомеостаза вследствие снижения pH и уровня АТФ, возрастание активности свободно-радикальных реакций и т.п.).

5.2.2. Приспособления растений к низким отрицательным температурам

Как растения приспособливаются к низким температурам? Формирование физиологического механизма устойчивости к перезимовке складывается из двух этапов. Первый - 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 удается сохранить жизнеспособными, если заморозить их очень быстро, до образования крупных кристаллов льда, разрушающих внутриклеточные структуры. Мелкие кристаллы льда, которые все-таки образуются при быстром замораживании, не оказывают механических повреждений. В естественных условиях, однако, охлаждение растений никогда не бывает настолько быстрым, чтобы не успевали сформироваться достаточно крупные кристаллы льда.

Второй этап - возникновение физиологических и биохимических приспособлений в ходе закаливания в осенний период. Закаливание проходит на свету в две 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 физиологобиохимическими процессами, охватывающими все уровни организации растений: от молекулярного от организменного.

Первый этап- переход в состояние покоя определяется изменениями параметров факторов окружающей среды: уменьшением длины дня, изменением спектрального состава света, понижением температуры, увеличением перепада температур в дневные иочные 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 вегетационного периода все почки переходят в состояние покоя. У растений умеренной зоны это происходит в конце августа или в сентябре.

Уменьшение длины дня способствует ослаблению синтеза фитогормонов - стимуляторов роста: ауксинов и гиббереллинов, тогда как синтез гормонов-ингибиторов: 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 ГБ понижают ее.

У древесных растений покой наступает в начале осени и в первую фазу закаливания лишь усугубляется, у травянистых (озимые хлеба) 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 активирует этот процесс. Снижается интенсивность дыхания, происходят его метаболические перестройки. В период покоя дыхательная способность убывает, возрастает удельный вес анаэробного дыхания. Таким сдвигам способствует опробковение ветвей, изоляция чечевичек, плотное соединение чешуи почек, у хвойных происходит засмоление ходов. Все это создает условия для 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 (эволюционно более древний энергетический механизм) наблюдается не только при низкой температуре, но и при кислородной недостаточности, засухе (закрывание устьиц); по-видимому, это проявление неспецифического ответа на различные стрессовые воздействия.

Второй этап подготовки к зиме - это первая фаза периода закаливания. Она начинается при температурах +5-0°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? Для закаливания 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 выполняющие защитную функцию криопротекторы. Снижается точка замерзания цитоплазмы.

Увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот обусловливает снижение температуры фазового перехода липидов из жидкостно-кристаллического 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 (гель) 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 (рис. 5.2), упрощающим превращение энергии дыхательных субстратов в тепло. В обычных условиях откачивание H^+ из внутреннего объема митохондрий наружу посредством ферментов ЭТЦ сопряжено с окислением дыхательных субстратов в продукты (1). При пониженной температуре откаченные из митохондрий ионы водорода на внешней поверхности мембраны присоединяются к анионам жирных кислот $RCOO^-$ (2). Получающаяся при этом протонированная форма жирной кислоты $RCOOH$ диффундирует через мембрану (3) и диссоциирует на ее внутренней поверхности, давая $RCOOH$ и H^+ (4). Протоны компенсируют внутри митохондрий нехватку ионов водорода, удаляемых оттуда дыхательной цепью. Образующийся анион $RCOCT$ возвращается наружу (5) при участии митохондриальных белков - анионных переносчиков, в частности АТФ/АДФ-антитортера. Его главная функция состоит в обмене аниона внешнего (цитозольного) АДФ на внутримитохондриальный анион АТФ, образованный H^+ -синтазой. Антиporter хорошо различает гидрофильные анионы, например АДФ и ГДФ. Однако в отношении гидрофобных анионов такой избирательности не наблюдается. Поэтому АТФ/АДФ-антитортер оказывается способным к транспорту анионов жирных кислот. Разобщающий белок митохондрии, близкий к АТФ/АДФ-антитортеру, 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-антитортером в транспорт анионов жирных кислот через митохондриальную мембрану. В результате конкурентного блокирования АТФ/АДФ-антитортера 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. Однако вклад альтернативного пути в дыхание слишком мал, чтобы быть ответственным за перестройку всего дыхательного процесса.

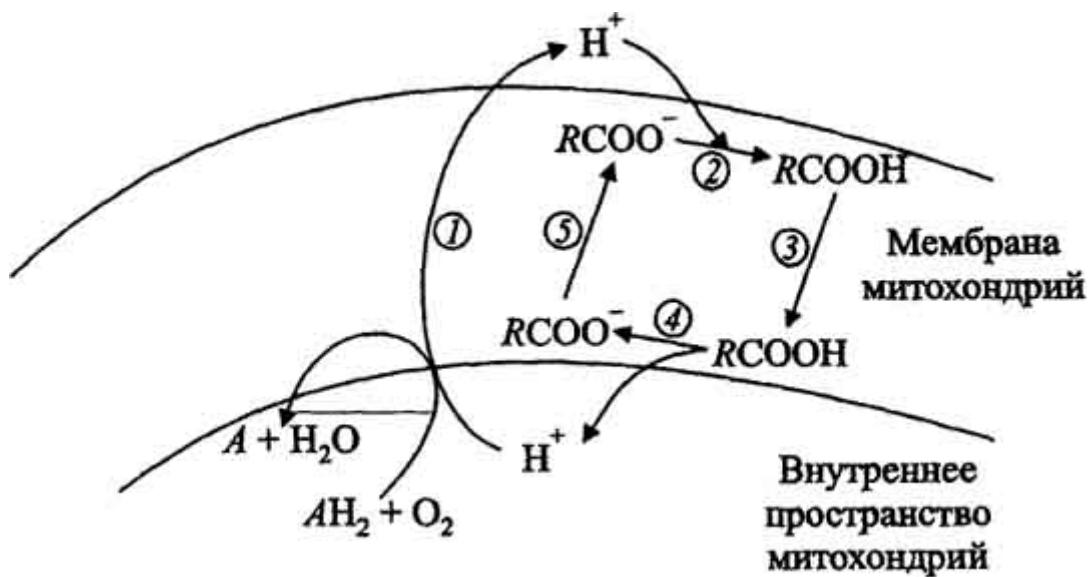


Рис. 5.2. Роль свободных жирных кислот в генерации тепла в митохондриях при низкой температуре [по: В. П. Скулачев, 1998].

$RCOOH$, $RCOO^+$ - жирная кислота и ее анион, AH_2 - дыхательный субстрат, A - продукт дыхания. Объяснения в тексте.

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, активность дегидрогеназ возрастает в первую фазу закаливания и убывает во вторую, но опять-таки меньше у устойчивых 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). При закалке у растений зимостойкого сорта озимой пшеницы, в отличие от неустойчивого, отмечено повышение энергетической эффективности дыхания. Активность АТФазы снижается медленнее у морозоустойчивого сорта. Дыхание митохондрий (по кислороду) сначала возрастает, что связано с повышенным расходом энергии на адаптационные процессы. Таким образом, закаливание растений устойчивого сорта отрицательными температурами сопряжено как с ускорением выработки энергии за счет более высокого уровня эффективности дыхания, так и с увеличением расхода энергии АТФ.

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 и пролиферацию мембранных систем.

При низких температурах в проростках высокоморозоустойчивых злаков изменяется электрофоретический состав растворимого белка и возможен его синтез, интенсивность которого составляет около 30% от уровня при нормальных температурных условиях.

Поскольку при охлаждении, так же как и при засухе или засолении, в клетке происходят осмотические изменения, воздействие низкой температуры воспринимают осмосенсоры в результате механических изменений плазматической мембраны, которые ведут к изменениям физического состояния цитоскелета и к "осмотическому взрыву". Последовательность реакций, которые приводят к изменению экспрессии генов и синтезу низкотемпературных стрессовых белков, фактически идентична представленной выше (см. рис. 4.9)

в связи с действием засухи и засоления. Отличие состоит лишь в замене белковых факторов транскрипции DREB2 на DREB1.

В состав синтезирующихся белков входят десатуразы жирных кислот, белки дегидрины, относящиеся к семейству LEA. Эти гидрофильные и стабильные при изменении температуры белки взаимодействуют с различными клеточными структурами, уменьшают количество воды в клетках и предохраняют их от деградации. Кроме дегидринов в состав индуцируемых холодом белков входят белки-антифризы или белки хо-лодового шока (БХШ по аналогии с БТШ). Эти белки, локализованные в эпидермисе или в клетках, окружающих межклетники, секретируются в клеточную стенку, адсорбируются на поверхности кристаллов льда и блокируют их рост. Обнаружен высокий процент гомологии БХШ с белками патогенеза (PR-белками): эндоглюканазой, хитиназой и тауматином (сладким белком из плодов *Thaumatooccus danielli* семейства Marantaceae, который в 750-1000 раз сладче сахарозы). Среди белков холодового стресса есть и ферменты антиоксидантной защиты, различные гидролазы, а также ферменты биосинтеза веществ-криопротекторов. Синтез Холодовых белков может способствовать тепло, генерируемое митохондриями в первый период воздействия холода. Синтез белков, индуцированных Холодовым закаливанием, коррелирует с развитием холода- и морозоустойчивости.

Перенесению замораживания способствуют также образование и накопление криопротекторов. Для их формирования необходимы как гидролитические, так и синтетические процессы. Это полимеры, способные связывать большое количество воды, - гидрофильные белки, моно- и олигосахариды. При закаливании происходит накопление не только олигосахаридов и полифруктанов, но и моносахаридов: фруктозы и глюкозы, дисахаридов: сахарозы, мальтозы, трегалозы, гентиобиозы; трисахаридов- раффинозы. Зимой сахара составляют 50-60% сухой массы в цитоплазме и органеллах. Вода, связываемая этими молекулами в форме гидратных оболочек, не замерзает и не трансформируется, оставаясь в клетке. При действии низких температур у морозоустойчивых растений усиливается синтез крахмала, и в цитоплазме накапливаются сахара. У многих растений возрастает водорастворимость белков. Чем выше их содержание, тем больше способность клетки к выдерживанию низких температур. К полимерам-криопротекторам относятся также молекулы гемицеллюз (ксиланы, арабиноксиланы). Накапливаясь в клеточной стенке, они обволакивают кристаллы льда и тормозят их рост: мелкие кристаллы меньше повреждают клетку. Эти особенности криопротекторов объясняют сходное действие белков-антифризов, т.е. низкотемпературных стрессовых белков, также препятствующих образованию кристаллов льда, и эндоглюканазы, гидролизующей гемицеллюзы.

К криопротекторам относятся и многоатомные спирты: глицерол, сorbitол, маннитол, аминокислоты, например пролин, который способен заменять воду в гидратной оболочке белков. Образование этих соединений приводит к снижению точки замерзания цитоплазмы. Так клетки защищаются от образования внутриклеточного льда и чрезмерного обезвоживания.

Криорезистентность определяет стабилизацию мембран. Существуют два механизма защиты мембран криопротекторами. Во-первых, сахара снижают эффективную концентрацию токсических веществ, образуя гликозиды, и обладают стабилизирующими свойствами. Защитный эффект могут создавать и токсичные вещества при совместном действии, если их концентрация в процессе замерзания остается ниже повреждающего уровня. Во-вторых, специфические гидрофильные белки непосредственно взаимодействуют с мембранными, предохраняя их от повреждения. Они обладают необычно высокой эффективностью. У морозоустойчивых растений в период подготовки к зиме накапливаются запасные вещества, которые используются затем при возобновлении роста.

Таким образом, в первой фазе закаливания основные перестройки связаны с удалением воды из клеток в межклетники, с синтезом криопротекторов и других запасных веществ, необходимых для поддержания метаболизма при остановке роста растений.

Во время второй фазы закаливания, когда происходит постепенное понижение температуры до $-10 \div 20^{\circ}\text{C}$ и ниже со скоростью $2\text{-}3^{\circ}\text{C}$ в сутки, в межклетниках образуется лед и начинают функционировать механизмы защиты от обезвоживания, подготовленные в течение первой фазы. Межклеточный лед предотвращает образование льда в клетках. Вторая фаза характеризуется значительными структурными изменениями.

Осуществляются два 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 мембранны. Высокая проницаемость мембран при замораживании обусловливается 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, так как 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 льдообразования в межклетниках. Возможно, в этот период происходит замещение воды клеток воздухом, которое имеет большое значение для выживания растений, так как 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 один-два 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, выпреванию, образованию ледяной корки и т.п. Так, растения из Арктики прекрасно переносят очень сильные морозы, но совсем не приспособлены к оттепелям. Это необходимо учитывать при подборе материала для акклиматизации в районах с неустойчивым морским климатом.

Для выживания целого растения важна морозоустойчивость различных тканей. Листья и побеги зимнегетирующих растений выдерживают морозы до -15°C , покоящиеся почки древесных растений - до $-25 \div -30^{\circ}\text{C}$, а стволы деревьев - до -50°C . Внутри ствола самая чувствительная часть - ксилемная парехима, а самая устойчивая - камбий. Корни, корневища, клубни, луковицы большинства растений менее устойчивы к морозу и способны переносить температуры не ниже $-10 \div -16^{\circ}\text{C}$. Поэтому морозоустойчивость всего растения определяется прежде всего морозоустойчивостью корней.

Таким образом, механизм морозостойкости состоит в обратимой физиологобиохимической и структурной перестройке на всех уровнях организации растения. На разных этапах онтогенеза способность растений к закаливанию неодинакова. Чем ближе растения к репродуктивной фазе, тем меньше способность к закаливанию. Физиологический механизм морозостойкости закреплен генетически и реализуется только в стрессовых условиях.

5.2.3. Искусственное закаливание растений

На морозостойкость положительное влияние оказывает обработка семян микроэлементами: цинк повышает содержание связанной воды и усиливает накопление Сахаров, а молибден способствует увеличению содержания общего и белкового азота. Сходный эффект оказывают кобальт, медь, ванадий и другие элементы.

Повреждение мембран предотвращает экзогенное внесение 1-2 ммоль/л раствора АТФ, что более эффективно, чем обработка низкомолекулярными углеводами (сахарозой и глюкозой). Криопротекторное действие АТФ связывают с предотвращением его освобождения из мембран митохондрий и с влиянием на их конформацию.

Известен прием повышения устойчивости в случае кратковременного предварительного выдерживания растений при низких температурах. В это время происходит закалка, аналогичная той, что характерна для естественных условий осенью.

Предпосевная обработка фитогормонами способствует повышению не только холодостойкости, но и морозустойчивости. При использовании веществ, повышающих устойчивость к действию низких отрицательных температур, следует учитывать этапы формирования приспособления в естественных условиях среды. Если в первой фазе это могут быть вещества, ингибирующие рост (АБК), и криопротекторы, то во второй фазе - соединения, способствующие повышению устойчивости к обезвоживанию и стабилизации мембран. Многие гены, кодирующие синтез белков при низкой температуре или дефиците воды, индуцируются под влиянием АБК.

Тепловое закаливание требует меньше времени, чем холодовое. В этом случае увеличение теплоустойчивости отмечается через несколько часов после повышения температуры, а максимальный эффект достигается в течение первых суток.

Современные способы получения устойчивых к низким температурам организмов, как и при других воздействиях, сводятся к созданию высокорезистентных трансгенных растений, т.е. растений с введенным в геном чужеродным геном, придающим им новые свойства. Несмотря на то что стресс-резистентность- мультигенный признак, имеются определенные успехи в этом направлении. Они связаны с поднятием осмотического потенциала и со стабилизацией мембран и макромолекулярных структур. Так, например, холиндегидрогеназа из *Escherichia coli* превращает холин в бетаин. Ген *betA* вводится в расление табака или картофеля, что ведет к повышению активности холиндегидрогеназы и повышению устойчивости к замораживанию, а также засолению. Введение гена *CodA* из *Arthrobacter* в арабидопсис повышало активность холиноксидазы- фермента, который также катализирует превращение холина в глицин-бетаин. Эта манипуляция способствовала повышению и морозо- и солеустойчивости. Сходные данные получены с целью повышения концентрации и других осмотиков - пролина, маннитола, фруктана и т.п. Сверхэкспрессия гена СОД в люцерне снижала уровень свободнорадикальных процессов и защищала растения от повреждения при замораживании.

Поскольку установлена четкая корреляция между чувствительностью к охлаждению и содержанием ненасыщенных жирных кислот, интенсивно ведутся работы и в направлении повышения степени ненасыщенности жирнокислотных компонентов. В частности, введение гена десатуразы увеличивало содержание ди- и триеновых кислот, что сопровождалось возрастанием как стойкости мембранных структур, так и устойчивости растений к охлаждению.

Глава 6. Устойчивость к засолению и несбалансированному минеральному питанию

6.2. УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НАРУШЕНИЯМ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Растения способны поглощать из окружающей среды в больших или меньших количествах практически все элементы периодической системы Д.И. Менделеева. Однако значительное накопление одних элементов или недостаток других может неблагоприятно сказываться на жизнедеятельности растений.

6.2.1. Роль основных минеральных элементов в жизни растений

Для нормального роста и развития растений необходимы определенные питательные элементы. Установлены 20-22 основных питательных элемента. Четыре элемента: углерод, кислород, водород и азот, называют *органогенами* или *биогенами*. Углерод в среднем составляет 45% сухой массы растительных тканей, кислород- 42%, водород - 6,5% и азот-

2,5%, а все органогены вместе- до 95%. Оставшиеся 5% приходятся на зольные вещества. Это макроэлементы: фосфор, сера, калий, кальций, магний, железо, алюминий, кремний и натрий. Элементы, содержание которых составляет 10^{-3} - $10^{-5}\%$ сухой массы, называют *микроэлементами*. К ним относятся марганец, медь, кобальт, цинк, молибден, бор, хлор.

Все эти элементы жизненно необходимы для растений, так как выполняют различные функции и не могут быть заменены другими элементами. Углерод, кислород и водород растения получают в виде углекислого газа и воды, поэтому их обычно не рассматривают в связи с минеральным питанием. Азот, фосфор и сера поглощаются растениями в виде минеральных или органических соединений гумуса, а остальные элементы - в виде минеральных солей. Азот выступает главным элементом для организмов, так как наряду с другими органогенами входит в состав почти всех важнейших органических веществ: нуклеиновых кислот, белков, аминокислот, амидов, липидов, АТФ, флавиновых и пиридиновых нуклеотидов, различных алкалоидов и других веществ. Фосфор в первую очередь отвечает за энергетический обмен, является компонентом фосфолипидов и нуклеиновых кислот, а также участвует в регуляции активности белков (fosфорилирование/дефосфорилирование). Сера входит в состав сульфолипидов хлоропластов и очень важных аминокислот: цистеина, цистина и метионина. Цистеиновые остатки участвуют в поддержании вторичной, третичной и четвертичной структуры белков. Нередко цистеиновые группы включаются в активный центр ферментов, становятся важными компонентами железосерных белков- переносчиков электронов., и участвуют в детоксикации тяжелых металлов. Цистеин находится в составе трипептида глутатиона - важного звена антиоксидантной защиты. Метионин - предшественник фитогормона этилена и полиаминов, а также S-аденозилметионина, переносчика метильных групп.

Калий - один из самых необходимых элементов минерального питания растений. Его в тканях растений гораздо больше, чем других катионов. Именно калий вместе с протонами участвует в генерации мембранныго потенциала у растений, в транспортных процессах через мембранны, в загрузке и разгрузке ксилемы и флюэмы, поглощении и транспорте воды по растению, регуляции работы устьичного аппарата. Калий входит в группу главных катионов, активаторов ферментативных систем. Известно более 60 ферментов, активируемых калием.

Кальций также участвует в регуляции активности ферментов. Кроме того, это важный вторичный посредник в трансдукции различных сигналов. Поэтому очень велика его роль в регуляции роста и развития растений. С помощью кальция осуществляются сборки/разборки элементов цитоскелета, поэтому он необходим для секреции, циклоза и деления клеток. Взаимодействуя с отрицательно заряженными группами фосфолипидов и белков, ионы кальция стабилизируют мембранию и снижают ее пассивную проницаемость. К тому же кальций образует сшивки между карбоксильными группами пектиновых веществ в клеточной стенке.

Роль магния важна прежде всего для нормального осуществления фотосинтеза. Он не только входит в состав хлорофилла, является кофактором целого ряда ферментов. Большое значение магния в фосфорном обмене или переносе. Железо тоже участвует в биосинтезе хлорофилла. Однако главная его функция состоит в окислительно-восстановительных превращениях, поскольку железо - главный металл гемсодержащих оксидаз. Кремний откладывается в клеточной стенке для упрочнения тканей растений.

Микроэлементы тоже выступают в качестве кофакторов различных ферментов. Медь, как и железо, участвует в окислительно-восстановительных реакциях. Молибден и кобальт - компоненты нитрогеназы и нитратредуктазы - играют важную роль в азотном обмене. Марганец включен в реакции фотолиза воды в фотосинтезе как активатор различных декарбоксилаз, ферментов циклов Кальвина и Кребса, нитратредуктазы, ДНК- и РНК-полимераз. Следует отметить уникальность цинка: только он активирует ферменты из всех шести классов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидrolазы, лиазы, изомеразы и сингазы. Важным микроэлементом, который необходим только для растений, является бор. Без

бора невозможны ни рост, ни размножение растений. Этот элемент необходим для роста пыльцы, образования цветков и плодов, прорастания семян. Он участвует в обмене углеводов и фенолов, формировании клеточной стенки.

Большая группа соединений с атомной массой больше 50 относится к тяжелым металлам: никель, свинец, кадмий, ртуть, цинк и др.

6.2.2. Влияние избытка минеральных элементов на растение

Высокий уровень какого-либо элемента в почве обычно приводит к его значительной аккумуляции в растениях. Бобовые накапливают азот и молибден, злаки и хвоши - кремний, гречишные - цинк и марганец, вересковые - цинк, ивовые и розоцветные - никель, а крестоцветные - хлор, бром и натрий. Чайный куст и папоротники аккумулируют алюминий. Существуют растения - селенолюбы, которые произрастают в местах, где в почве содержится большое количество селена. Этот элемент ядовит для большинства растений, а селенофиты не могут без него расти. Другие растения - металлофиты аккумулируют различные металлы. Значительные различия между видами растений обнаруживаются в их отношении к кальцию. Существуют кальцефилы, которые растут на богатых кальцием почвах и накапливают его. Много кальция содержат бобовые, гречишные, крестоцветные, картофель, конопля, лиственница европейская и другие растения. Кальцеофобы плохо растут при большом количестве кальция в почве. Обычно они обитают на болотах или в таких местах, где мало кальция. Нитрофилы встречаются только на почвах, богатых соединениями азота. Но даже в обычных условиях они накапливают нитраты. Этим свойством обладает салат, кress-салат, шпинат, табак, махорка и тыква.

Виды растений различаются по способности к накоплению конкретных элементов. Растения, аккумулирующие элемент даже в условиях его относительного дефицита в почве, называются *аккумуляторами*. Виды, накапливающие элемент прямо пропорционально его уровню в среде, называются *индикаторами*. Их удобно использовать в биомониторинге. И наконец, растения, в которых уровень элемента длительное время остается на низком уровне даже при его избытке в среде, называются *отражателями*.

Накопление того или иного элемента в растении определяется целым рядом причин, прежде всего экологических, например содержанием различных веществ в почве. Кроме того, на аккумуляцию элементов действует генетический фактор. В процессе эволюции растения попадали в различные геохимические условия и на основе мутации, наследственности и естественного отбора формировались различные группы, приспособленные к определенному составу почвы. Генетический фактор обуславливает состав и соотношение элементов в тканях растений. В условиях, когда нет избытка или недостатка элементов, генетический фактор действует очень четко. При избытке элемента в почве его аккумуляция определяется в основном экологической составляющей. Большое значение имеет pH среды. При низком pH увеличивается содержание в почве и поступление в растения алюминия, марганца. Содержание веществ в тканях зависит от возраста растения. К тому же те или иные части растения реагируют на увеличение концентрации элемента в почве по-разному. Если поступление элемента прямо пропорционально его содержанию в окружающей среде, то такой тип накопления называется *безбарьерным*. Он в большей степени определяется концентрацией элемента, чем свойствами растений, и характерен для клеток коры корней, а также стебля. В листьях в основном отмечается *барьерный* тип. Наиболее консервативны по элементарному составу семена и в несколько меньшей степени плоды. Поэтому даже на загрязненных почвах можно сеять зерновые культуры.

Влияние концентрации элемента в среде на интенсивность метаболизма и жизнеспособность зависит от его необходимости для растения. Кривая воздействия необходимых элементов - *нутриентов*, имеет куполообразную форму, характерную для нормального распределения. Жизнедеятельность осуществляется только в пределах оптимального содержания данного вещества, а вне пределов оптимума может нарушаться. Если элемент или вещество проявляет токсическое действие, график имеет иной вид. Пока уровень эле-

мента не достигнет некоей пороговой концентрации, обмен веществ протекает нормально; как только порог преодолен, рост и метаболизм угнетаются. Если для вещества характерен первый тип концентрационной зависимости, оно является слаботоксичным, если второй, то токсичность его довольно высока. Степень токсичности соединений оценивают разными способами. Часто используется такой показатель, как *пределно допустимая концентрация* (ПДК), т.е. та концентрация вещества в окружающей среде, которая не вызывает негативного физиологического ответа. У супертоксинов ПДК вообще может не быть. Параметр "летальная доза" (ЛД) используется при однократном ударном действии токсина; ЛД₅₀ отражает 100%-ную гибель организмов, подвергнутых воздействию, ЛД₅₀ •- 50%-ную.

При определении ЛД необходимо учитывать время действия, так как одни вещества очень токсичны, но быстро выводятся, а другие действуют медленно, но не выводятся.

Тяжелые металлы, накапливаясь, тормозят рост корней, увеличивают проницаемость мембран, изменяют процессы вакуолизации цитоплазмы, повреждают процесс сборки микротрубочек, тормозят синтез ДНК, ингибируют процессы фотосинтеза и оттока ассимилятов и т.д.

Избыток нитратов задерживает формирование генеративных органов и созревание урожая. В значительной степени стимулируется рост вегетативной массы, в корнях накапливается много аминокислот, органических кислот и других окисленных соединений. Содержание углеводов, наоборот, уменьшается. Если растение не справляется с восстановлением нитратов, фотосинтез (особенно - у C₃-растений) угнетается, а дыхание, наоборот, стимулируется. Нитраты и нитриты накапливаются в вакуолях. Образуются токсические соединения. Аммоний обычно не накапливается в свободном состоянии, хотя в виде солей яблочной кислоты содержится в вакуоли. Растения могут аккумулировать нитраты в больших количествах. Накапливаясь в вакуоли, они не причиняют особого вреда. В то же время у человека и животных нитраты и особенно нитриты вызывают синюшность, взаимодействуя с гемоглобином и ухудшая таким образом снабжение клеток кислородом. Кроме того, нитриты после взаимодействия с аминами и амидами проявляют канцерогенные свойства.

Неразумное использование удобрений может приводить; и к другим неблагоприятным эффектам. Так, при использовании натриевой селитры NaNO₃ как основного источника азота поглощается в основном NO₃⁻, а натрий накапливается в почве. Сульфат аккумулируется при использовании (NH₄)₂SO₄, а NH₄NO₃ поглощается равномерно, не вызывая изменений в ионном балансе почвы.

6.2.3. Приспособление к избытку минеральных элементов

При антропогенных воздействиях металлы (прежде всего тяжелые металлы - ТМ) аккумулируются на поверхности почвы и затем поступают в корни. Некоторые растения способны ограничивать накопление минеральных веществ благодаря механизмам, предотвращающим аккумуляцию ТМ (рис. 6.7). Эти механизмы действуют соответственно двум стратегиям выживания организмов при стрессовых воздействиях: или не допустить действия фактора, или обезвредить его. В случае эффективной работы указанных механизмов растение может расти и развиваться на почвах с высоким уровнем загрязнения металлами. Один из путей состоит в предотвращении поступления металлов 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, 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 растения к ТМ.

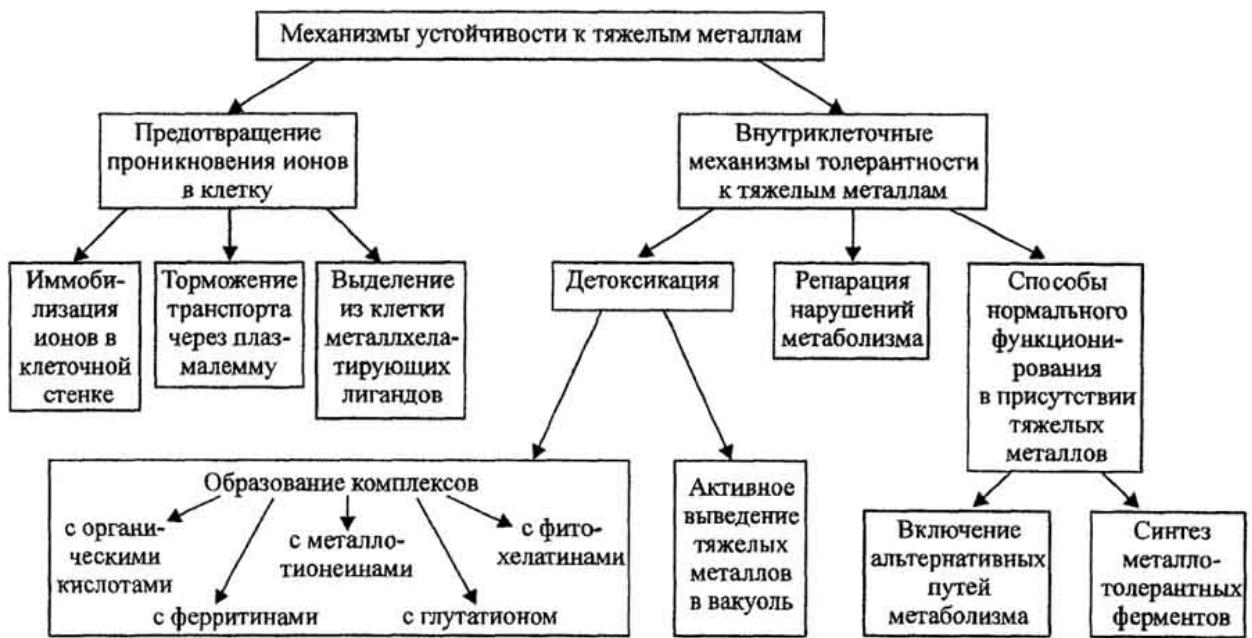


Рис. 6.7. Механизмы устойчивости к тяжелым металлам

При неэффективной работе указанных механизмов невозможно избежать попадания в клетку ТМ, тогда включаются внутриклеточные способы формирования металлотолерантности. Условно их можно разделить на две группы: механизмы детоксикации, или активного выведения ТМ, и те способы, которые позволяют клетке normally функционировать в присутствии ТМ или быстро восстанавливать повреждения, вызванные ими. К первой группе относят образование физиологически неактивных форм металлов - органических комплексов или нерастворимых неорганических соединений. Обезвреживание ТМ, например, у *Alyssum*, происходит при создании комплексов с органическими кислотами. Этот гипераккумулятор способен накапливать в огромных количествах никель. При этом металл связан в слабо диссоциирующий растворимый комплекс с органическими кислотами - малатом и цитратом, в вакуолю. Подобным образом связывается с малатом цинк. Комплекс-рование металлов с органическими кислотами необходимо также для транспорта металлов, например, в вакуоль. Существует и особый класс соединений, которые не встречаются в нормальных условиях, но образуются в ответ на накопление металлов, - *металлотионеины* и *фитохелатины*. Металлотионеины представляют собой связывающиеся с металлами (в основном с медью и цинком) растворимые, низкомолекулярные белки (8-10 кД), в составе которых свыше 30% приходится на серосодержащие аминокислоты. Более простые соединения - богатые цистеином пептиды, взаимодействуя с металлами, образуют фитохелатины, связывающие кадмий, цинк, свинец. При образовании металлотионеинов и фитохелатинов тяжелые металлы инактивируются. Специфичности в соединении с тем или иным металлом не установлено. Комpleксы с металлами способен давать и глутатион, благодаря которому происходит обезвреживание ртути и серебра. Наконец, железосодержащие белки - ферритины взаимодействуют с цинком, медью, кадмием, свинцом, бериллием, железом. Детоксикации способствует и выведение ТМ из цитозоля в вакуоль, которое оказывается возможным благодаря изменениям свойств трансфераз тонопласта.

К внутриклеточным механизмам металлоустойчивости относят синтез ферментов, слабо чувствительных к металлам (рис. 6.7). Например, активность нитратредуктазы, МДГ, изоцитратдегидрогеназы повышается в толерантных к цинку растениях при внесении в питательную среду металлов в токсичных для чувствительных растений концентрациях. Реакция часто различается в зависимости от устойчивости растений к металлу. Так, у растений неустойчивых к цинку популяций *Agrostis* АТФаза ингибиравалась под влия-

нием $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л соли, содержащей цинк, но у представителей устойчивых популяций в 10 раз активировалась. При действии свинца активность карбоангидразы у устойчивых популяций подавлялась в меньшей мере, чем у неустойчивых. Возможность формирования толерантности в результате активации альтернативных путей допускается, но этот вопрос пока изучен недостаточно.

Репаративные механизмы, способствующие восстановлению повреждений, связывают с индукцией синтеза ряда стрессовых белков, которые по молекулярной массе близки к БТШ. Растения, подвергшиеся тепловому шоку, проявляют повышенную устойчивость к летальным концентрациям алюминия, кадмия, железа. Вместе с тем кадмий индуцирует синтез БТШ70, а также способствует синтезу других БТШ небольшой молекулярной массы, которые, возможно, также играют роль в повышении устойчивости к ТМ.

Ни один из указанных механизмов не является универсальным. Вероятно, в формировании устойчивости играют важную роль и резервные возможности организма, и компартментация металлов, и связывание их в виде комплексов. Все это в совокупности позволяет растениям адаптироваться к повышенным концентрациям металлов.

6.2.4. Влияние недостатка минеральных элементов на растение

Гораздо чаще растения попадают в условия минерального голодаания. В целом повреждения, вызванные недостатком необходимых элементов, определяются их ролью в жизнедеятельности растения. Замедляются рост и развитие, тормозится фотосинтез, стимулируется дыхание. Развивается мелколистность, угнетается образование боковых побегов и ветвей, падает продуктивность. Весьма любопытно, что при недостатке нутриентов развиваются черты ксероморфности. Замечено, что растения - представители олиготрофной флоры, живущие на очень бедных минеральными солями субстратах, даже при нормальном обеспечении водой имеют мелкие жесткие листья, мелкоклеточность и целый ряд других специфических анатомических признаков, свидетельствующих о строгой экономии влаги. Таким образом, анатомо-морфологическая реакция на недостаток почвенно-го питания сходна с приспособлениями, возникающими в ответ на недостаток влаги или при действии других стрессоров.

Острая нехватка минеральных элементов вызывает деструктивные процессы. Разрушается хлорофилл, появляются хлорозы и некротические пятна. Часто дефицит каждого конкретного элемента имеет специфическую симптоматику. Самое раннее проявление недостатка азота - бледно-зеленая окраска листьев, вызванная ослаблением синтеза хлорофилла. Длительное азотное голодаание приводит к значительному усилению гидролитических процессов и разрушению хлорофилла. Это происходит прежде всего в нижних, более старых листьях, откуда питательные вещества транспортируются к более молодым листьям и точкам роста. Вследствие разрушения хлорофилла нижние листья в зависимости от вида растения приобретают желтую, оранжевую или красную окраску, а при остром голодаании появляются некрозы, ткани отмирают и высыхают. Специфические симптомы азотного голодаания - сокращение периода вегетативного роста и ускоренное созревание семян. Сходные реакции наблюдаются при дефиците серы, а также микроэлементов, связанных с азотным обменом, т.е. молибдена и кобальта.

Внешне фосфорное голодаание выражается в синевато-зеленой окраске листьев нередко с пурпурным или бронзовым оттенком, что оказывается следствием задержки синтеза белка и накопления Сахаров. Листья становятся не только мелкими, но и узкими. При дефиците фосфора в первую очередь страдают энергетические процессы: дыхание и фотосинтез. Значительная нехватка фосфора активирует распад фосфорорганических веществ, в том числе и нуклеиновых кислот.

При недостатке калия листья желтеют с краев, затем их края и верхушки приобретают бурую окраску и засыхают. Листья выглядят обожженными. Отмирают верхушечные почки, активируется рост боковых побегов, растение становится более кустистым. Значи-

тельные нарушения наблюдаются в водно-минеральном обмене и развитии проводящих тканей.

От недостатка кальция страдают в первую очередь меристематические ткани и корневая система. При делении клеток не формируется веретено деления, в результате возникают полиплоидные и многоядерные клетки. Увеличивается проницаемость мембран, нарушаются сшивки между пектиновыми веществами, что вызывает ослизнение клеточной стенки и отмирание клеток. В результате корни и участки стебля загнивают и отмирают. Края листьев вначале белеют, затем чернеют, листья скручиваются и отмирают.

Недостаток магния приводит к уменьшению поступления фосфора в растения, даже если содержание фосфора в почве находится на нормальном уровне. Поэтому повреждения при магниевом голодании, сходные с теми, что отмечаются при фосфорном. Кроме того, блокируется белковый и углеводный обмен, накапливаются моносахариды. Уникальность магния обусловлена его необходимостью для фотосинтеза. При дефиците магния не синтезируется хлорофилл, нарушается нарастание числа пластид, строма просветляется, ламеллярные образования распадаются на мелкие везикулы, клеток хлоренхимы становится меньше. Внешние симптомы следующие: между жилками появляются желто-зеленые хлоротические пятна, а края листьев приобретают желтый, оранжевый или темно-красный оттенок. На поздних стадиях магниевого голодания такая "мраморная" окраска появляется и на молодых листьях, что свидетельствует о разрушении пигментного аппарата. Зоны листа, прилежащие к сосудам, дольше остаются зелеными.

Недостаток кремния вызывает размягчение клеточной стенки, и растения чаще поражаются патогенными организмами.

Борное голодание отличается тем, что прежде всего отмирают конусы нарастания, нарушается углеводный и фенольный обмен. При недостатке железа и микроэлементов появляются хлорозы, нарушается работа ферментных систем, происходят потеря тургора и завядание растений. Недостаток кобальта и молибдена затрагивает в первую очередь азотный обмен, железа и меди - окислительно-восстановительные процессы, марганца - нуклеиновый обмен, а цинка - дыхание и метаболизм фосфора.

При нехватке какого-либо элемента другие вещества, находящиеся в достаточном количестве, могут тормозить его поступление. Так, дефицит азота и цинка усугубляется фосфором, калия - азотом, фосфором и кальцием, недостаток кальция - цинком и железом, цинка и марганца - железом и медью и т.п. Бывает, что недостаток одного элемента вызывает недостаток другого. Нехватка молибдена и кобальта способствует развитию недостатка азота, снижение содержания калия, магния и цинка вызывает нарушения в фосфорном обмене, а дефицит цинка приводит к понижению уровня кальция, калия, магния и натрия.

6.2.5. Приспособления растений к недостатку минеральных элементов

Недостаток необходимых минеральных веществ древние растения ощутили при выходе на сушу. Горные породы, на которых они росли, содержали много кремния и металлов, но азота, фосфора, серы и калия, которых было достаточно в морской воде, на сушу оказалось мало. Более того, эти важнейшие питательные вещества на суше были рассеяны, а не сконцентрированы в определенных местах. Растениям было необходимо обнаружить нужные элементы и использовать их. Для поглощения минеральных веществ и воды у растений появился корень как специализированный орган почвенного питания. Самыми дефицитными элементами были азот, фосфор, калий и железо. NPK - главный компонент любых комплексных удобрений. Азот - самый востребованный элемент в биосфере, за него обычно идет конкуренция. Азота много в земной коре, но для растений доступно только 0,5-2% общего запаса этого элемента в почве. Атмосферный азот недоступен растениям, не имеющим в качестве симбионтов организмов, способных его поглощать. Неорганические формы азота хорошо растворимы, но легко вымываются из почвы. Для растительных организмов азот - самый дефицитный элемент. Запасы почвенного фосфора также не-

велики. К тому же большая часть фосфорных соединений плохо растворяется в воде. С одной стороны, это усугубляет положение растений, а с другой - снижает потери фосфора вследствие вымывания. Органические соединения азота и фосфора - компоненты гумуса, тоже предохраняют эти элементы от вымывания. Запасы калия в почве относительно велики: они в 8-40 раз больше, чем фосфора, и в 5-50 раз, чем азота. Тем не менее все соединения калия легкорастворимы и очень мобильны. Железо в силу плохой растворимости солей тоже относится к дефицитным элементам, особенно на карбонатных почвах.

В ответ на дефицит нутриентов у растения интенсифицируется рост корней и увеличивается их количество. Это установлено при фосфорном и железном голодании растений фикуса и люпина. Как известно, корни обладают положительным гидро- и хемотропизмом. Если посадить растение в инертный субстрат и в определенное место положить кристалл питательной соли, то корни растения будут расти в направлении к этому кристаллу, что указывает на положительный хемотропизм. В то же время если вместо нутриента поместить токсичное вещество, корень будет расти в противоположном направлении. Это пример отрицательного хемотропизма.

На корнях в зоне поглощения образуется много корневых волосков. В мембранах клеток ризодермы увеличивается число систем транспорта ионов: ионных насосов, белков-переносчиков и каналов и повышается их активность, т.е. поглощение ионов регулируется и на уровне генной экспрессии. Соединения фосфора и железа хуже всего растворяются в щелочной среде. Именно на щелочных карбонатных почвах растения испытывают сильный дефицит фосфора и особенно железа. Поэтому выделение протонов ризодермой способствует переводу этих и других соединений в более доступные для растения формы. Помимо протонов ризодерма выделяет различные анионы, в основном анионы органических кислот. Последние вытесняют анионы минеральных кислот из почвенного поглощающего комплекса, способствуя закислению среды, а также принимают активное участие в хелатировании трудно растворимых или прочносвязанных металлов. Кроме того, растворимость солей некоторых металлов зависит от степени окисления металла. Так, в почве содержатся главным образом плохо растворимые соли трехвалентного железа, тогда как соли двухвалентного железа лучше растворяются в воде. Растения поглощают железо на основе хелатирования и восстановления $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$. Этот процесс хорошо изучен у цветковых растений. Существует две стратегии поглощения железа.

Стратегия I характерна для всех двудольных и однодольных, кроме злаков и, возможно, ситниковых и осок. У растений при дефиците железа замедляются рост и утолщение корня, образуется очень много корневых волосков. Клетки ризодермы формируют лабиринтообразные инвагинации в клеточную стенку, как у клеток-спутников во флоэме или у секреторных клеток в солевых железках. Центральная вакуоль в этих клетках исчезает, формируется много маленьких вакуолей и увеличивается количество митохондрий. В мембранах клеток ризодермы возрастает количество белков-переносчиков, протонных помп, а также комплексов НАДФ-оксидоредуктазы. При поглощении железа активируется выделение протонов в ризосферу, что способствует увеличению растворимости железа. Стимулируется также секреция хелаторов, в первую очередь лимонной и яблочной кислот. Эти соединения хелатируют железо из почвенного поглощающего комплекса и проникают обратно в клеточную стенку. Далее на внешней стороне плазмалеммы Fe^{3+} восстанавливается НАДФ-редуктазой в Fe^{2+} , поступает в клетку, а хелатор высвобождается обратно в почвенный раствор. Этот способ мобилизации железа достаточно эффективен, но неспецифичен, так как анионы органических кислот хелатируют не только железо, но и другие поглощаемые корнем металлы. К хелаторам, выделяемым растениями и способствующим поглощению ионов железа, относится и рибофлавин. В форме хелатов двухвалентные ионы железа хорошо растворимы и поглощаются растением.

Стратегия II обнаружена у злаков. Корни злаков выделяют специализированные хелаторы - фитосидерофоры. Это непротеиногенные полiamинокислоты, которые синтезируются из метионина. Вначале образуется никотинамин, конденсация двух молекул нико-

тинамина дает фитосидерофор-дезоксигуаниевую кислоту, из нее образуется мугинеевая, или овсяная, кислота. Фитосидерофоры, хелатирующие железо из почвенных коллоидов, проявляют к нему достаточно высокое сродство, кроме него они образуют комплексы с Cu^{2+} , Zn^{2+} и Co^{2+} . С другими катионами: Ca^{2+} , Mg^{2+} Al^{3+} и др., фитосидерофоры комплексов не формируют. После образования хелата он поглощается корнем. Переносчик проявляет активность преимущественно к комплексу Fe^{3+} -фитосидерофор. Интенсивность поглощения комплексов с медью, цинком и кобальтом невелика. Попав в корень, трехвалентное железо в комплексе с фитосидерофором транспортируется в побег, где восстанавливается и включается в обмен. Синтез фитосидерофоров запускается только при недостатке железа. Стратегия II позволяет злакам достаточно легко, без затрат энергии на восстановление и в кратчайшие сроки ликвидировать дефицит железа в тканях.

Известен еще один способ решения проблемы дефицита элементов питания - секреция в ризосферу ферментов. Для минерального питания наиболее важны нитратредуктаза, участвующая в восстановлении нитрата, и фосфатаза, которая в кислой среде гидролизует нерастворимые полифосфаты почвы, переводя их в активное состояние.

В качестве приспособления к недостатку минеральных элементов следует рассматривать и создание запасов на "черный день", своеобразный вариант стратегии избежания стрессов. Азот откладывается в виде амидов и запасных белков. Кроме того, при сильном голодании возможна и мобилизация азота из вторичных азотсодержащих метаболитов, например алкалоидов. Фосфор запасается в виде конденсированных фосфатов, фитина, фосфо- и нуклеопротеидов. Фитин служит удобной запасной формой и для кальция и магния. Железо и микроэлементы "хранятся" обычно в комплексе с белками. Так, белок ферритин, имеющий много гидроксигрупп, часть из которых фосфорилирована, способен связывать до 6000 атомов железа. Ферритин представляет собой белковый цилиндр, внутри которого находится гидроксид железа. Это позволяет клетке накапливать большие концентрации металла, "не опасаясь" его токсического действия. Микроэлементы запасаются с помощью белков-металлотионеинов. Таким образом, эти белки участвуют не только в инактивации тяжелых металлов, но и в депонировании минеральных веществ.

Растения - автотрофные организмы, в ходе фотосинтеза и почвенного питания они поглощают неорганические вещества и синтезируют из них органические. Немногие растения (сaproфиты, паразиты и насекомоядные) относятся также к факультативным или облигатным гетеротрофам, получающим органические вещества из внешней среды. Сапротрофы (сaproфиты) питаются органическими веществами разлагающихся остатков растений и животных, паразиты - органическими веществами живых существ. Большинство высших растений имеет ряд приспособлений к использованию не только минеральных, но и органических субстратов, т.е. к гетеротрофному питанию, например, при прорастании семян, клубней, луковиц и др. При выращивании растений на органических удобрениях даже в стерильных условиях их продуктивность может быть выше, чем на эквивалентном по элементному составу минеральном субстрате. Объясняется это не только необходимостью энергетических трат на восстановление и включение веществ в органические соединения, но и другими причинами. Так, гуминовые кислоты - слабые поверхностно-активные вещества, т.е. детергенты, большей частью способны проникать через плазмалемму. По представлениям некоторых специалистов, гуминовые кислоты могут поступать почти целиком внутрь растительной клетки, перенося много различных элементов: металлы, органический азот, фосфор и серу. Кроме того, эти вещества, имеющие углеродный скелет, могут снова вовлекаться в обмен. В экспериментах по применению искусственных поверхностно-активных веществ повышается усвоение и органических, и минеральных удобрений. Растения могут поглощать мономерные органические вещества: сахара, некоторые аминокислоты, витамины, из почвы. В частности, витамин B_{12} , который не синтезируется растениями, они поглощают из почвы, где его образуют бактерии.

В большинстве случаев высшие растения, оставаясь зелеными автотрофными организмами, получают дополнительное азотное питание благодаря симбиотическим отноше-

ниям с грибами и/или бактериями, которые поселяются в ризосфере или непосредственно в корнях. И наконец, хищные или насекомоядные растения, обитающие обычно в условиях крайнего дефицита минеральных веществ: на болотах или в пресных водоемах, проблему дефицита азота и фосфора или органических соединений решают, поедая насекомых, ракообразных, инфузорий и др. Таким образом, проблема дефицита элементов минерального питания решается растениями самыми разнообразными способами: от усиления воздействия на почву до образования ассоциаций с другими организмами и даже перехода на гетеротрофный способ питания.

Глава 7

ГАЗОУСТОЙЧИВОСТЬ

В процессе эволюции у растений не сформировались системы приспособления к вредным газам, поэтому способность противостоять их повреждающему действию основывается на механизмах устойчивости к другим неблагоприятным воздействиям. Понятно, что в связи с этим особенно важно рассмотреть особенности неспецифической устойчивости.

Современные растения развивались в условиях, когда содержание вредных газов, образующихся во время пожаров, химических процессов, вулканической деятельности, в воздухе было небольшим. Этот воздух сформировался около 1 млрд лет назад как следствие жизнедеятельности автотрофов, обновление же атмосферы происходит, как известно, каждые 3000 лет. По-видимому, освобождение первичной атмосферы Земли от NH_3 , H_2S , CH_4 , CO и др. активно осуществляли растения-автотрофы протерозойской и палеозойской эр, которые должны были обладать механизмами газоустойчивости. По мере увеличения содержания кислорода в атмосфере воздуха и уменьшения содержания в нем вредных газов эти механизмы утрачивались.

Вредное влияние промышленных газов на растения стало проявляться к середине XIX в. Тогда начались научные исследования в этом направлении. В настоящее время загрязнение атмосферы, связанное с расширением производственной деятельности человека, возрастает до катастрофических размеров. Концентрация токсических веществ превышает предельно допустимую норму, и системы авторегуляции атмосферы уже не справляются с ее очисткой.

7.1. ЗАГРЯЗНЯЮЩИЕ АТМОСФЕРУ ГАЗЫ

В результате деятельности человека (промышленной, автотранспортной и др.) в воздух выделяется более 200 различных компонентов. Это сернистый газ (SO_2), оксиды азота (NO , NO_2), угарный газ (CO), озон (O_3), соединения фтора (F_2), углеводороды, пары кислот (H_2SO_4 , H_2SO_3 , HNO_3 , HCl), фенолы, твердые частицы сажи, золы, пыли, содержащие токсические оксиды свинца, селена, цинка. Сернистый газ образуется в основном при сгорании каменного угля, нефти, природного газа, содержащего сероорганические соединения, а также в цветной металлургии. Оксиды азота - предшественники азотной кислоты - попадают в атмосферу в составе дыма газовых котлов тепловых электростанций, выхлопов двигателей внутреннего сгорания.

В промышленно развитых странах загрязнение воздуха более чем на 50% обусловлено транспортом, около 20% приходится на отопительные системы, столько же на промышленную деятельность (электроэнергетику, производство нефти, бумаги, химическую промышленность), около 10% на переработку и уничтожение отходов и др. В России газовые выбросы составляют около 50 млн т в год.

Загрязняющие атмосферный воздух компоненты подразделяются по величине частиц, скорости оседания под действием силы тяжести и электромагнитному спектру на пыль, пары, туманы и дым. Газы и пары, легко проникая в ткани растения через устьица, могут непосредственно влиять на обмен веществ в клетках, вступая в химические взаимо-

действия на уровне клеточных стенок и мембран. Пыль, оседая на поверхности листьев, затрудняет поглощение света, нарушает водный режим. По убыванию токсичности газы располагаются в ряды: $F_2 > Cl_2 > SO_2 > NO > CO > CO_2$; $Cl_2 > SO_2 > NH_3 > HCN > H_2S$.

Пагубное влияние газов растения ощущают начиная с концентраций 500 мкг/м³. Кислые газы и пары более токсичны для растений, чем для животных, для которых второй ряд газов выглядит иначе: $HCN > H_2S > Cl_2 > SO_2 > NH_3$.

В результате попадания в атмосферу оксидов серы и азота может происходить закисление осадков и выпадение кислотных дождей (рН 5,5). Во многих областях высокая степень загрязнения атмосферы усугубляется климатическими условиями (недостатком влаги, высокой температурой воздуха, засолением), поэтому общие механизмы устойчивости оказываются наиболее важными для выживания организмов. *Газоустойчивость* - это способность растений противостоять действию газов, сохраняя нормальный рост и развитие.

7.2. ДЕЙСТВИЕ ГАЗОВ НА РАСТЕНИЕ

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 *зачислению цитоплазмы*, изменению работы *транспортных систем*; повреждают мембранны 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 углекислота. Этот газ относят к фотосинтетическим ядам.

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, а кислотонерастворимого повышается. Неблагоприятные сдвиги происходят во всем минеральном обмене. Поглощение анионов из воздуха сопровождается поступлением из почвы катионов калия, кальция, цинка, свинца, меди.

Усиливаются свободнорадикальные процессы, что особенно характерно для высокоактивного озона. В результате фотолиза озона образуются активные супероксид-анион-радикалы, которые вызывают фото-ингибицию и могут повреждать белки и нуклеиновые кислоты, вызывать мутации, разрушать липиды в процессе ПОЛ (см. гл. 3). В результате действия озона на листья ухудшается регуляция устьиц, повреждаются мембранны тилакоидов хлоропластов, деградирует РБФ-карбоксилаза, ингибируется фотосинтез в целом. Свободные серосодержащие радикалы продуцирует также сернистый газ при участии супероксид-анионов.

Повреждения различают в зависимости от концентрации газов, и по степени усиления отмечают: скрытые, хронические, острые, катастрофические (депигментация, некротизация, дефолиация). 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 и т.д.

Косвенное влияние загрязнения приводит к уменьшению плодородия почвы, вызывая гибель полезной микрофлоры, отравление корневой системы, нарушение минерального питания. При понижении рН в результате кислотных дождей увеличивается подвижность токсических 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 ксерофорности.

Нарушение роста и развития растений под влиянием вредных газов может снижать устойчивость и к другим неблагоприятным факторам среды: засухе, засолению, понижению температуры. Например, растения, выращенные в атмосфере загрязненного воздуха, легче поражаются ржавчиной, серой гнилью, у них снижается интенсивность образования клубеньков.

Различают *газочувствительные* и *газоустойчивые* растения. Чуткими индикаторами загазованности служат мхи и лишайники. Отметим, что лишайники устойчивы к обезвоживанию, но не к загрязнению, поскольку у них не сформировалось приспособленности к нему в ходе эволюции. Ареалы их распространения по мере развития мегаполисов располагаются все дальше от городов.

7.3. МЕХАНИЗМЫ ГАЗОУСТОЙЧИВОСТИ

В зависимости от механизмов, ее определяющих, газоустойчивость классифицируется как биологическая, анатомо-морфологическая и физиолого-биохимическая (рис. 7.1). 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. 7.1. Механизмы газоустойчивости растений

Древесные растения (вяз, жимолость, клен) менее устойчивы по отношению к хлору, фтору, окиси 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 длительным 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 пластиичности.

Анатомо-морфологические признаки, способствующие повышению газоустойчивости, - это мощная кутикула, дополнительные восковые покровы, опушение, меньшая вентилируемость 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 C₄-растений клетки обкладки проводящих пучков создают барьер, препятствующий воздействию SO₂ 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) растения газоустойчивых видов сами закрывают устьица. Например, у растений приспособленных видов при повышении концентрации газов степень открытости устьиц уменьшается на 40%, а у неприспособленных только на 11%.

Поддержание ионного баланса и буферных свойств цитоплазмы может быть связано с уровнем в клетках катионов (K⁺, Na⁺, Ca⁴), способных нейтрализовать ангидриды кислот. Обычно растения, устойчивые к засухе, засолению и некоторым другим подобным воздействиям, 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. У хвойных повышение уровня сернистого газа приводит к увеличению содержания эфирных масел в хвое. В условиях загазованности подобное обезвреживание ядовитых газов способствует поддержанию фотосинтеза и синтеза в целом на достаточно высоком уровне. У газоустойчивых растений обеспечивается сбалансированность фотосинтеза и оттока ассимилятов. Детоксикация газов может быть результатом 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 растения. Однако при повышенных концентрациях этого и других газов их повреждающее действие оказывается настолько сильным, что растения не могут обеспечить их детоксикации.

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 метabolизма органических соединений и их транспорта; большая летальная доза при накоплении сернистого газа в клетках и способность к восстановлению обмена веществ; высокая экологическая пластиичность. Поэтому в условиях загазованности у приспособленных растений сохраняются необходимый уровень фотосинтеза и дыхания, водный и ионный режимы, катионно-анионный баланс и в целом поддерживается нормальный уровень метabolизма.

Приобретенная газоустойчивость может передаваться по наследству. Например, лиственница японская, растущая вблизи вулканов, более устойчива к сернистому газу, чем европейская, что было установлено после испытания их гибридов. Сопряженная устойчивость проявляется и для газоустойчивых растений: они отличаются большей устойчивостью и к затемнению, засухе, засолению, ионизирующей радиации.

Для *повышения газоустойчивости* важен отбор видов, устойчивых в том числе и к другим воздействиям, например к засолению. Повышению уровня устойчивости способствует и выращивание растений на плодородных незагрязненных почвах или смена почвы на газонах и цветниках около промышленных предприятий. Обработка семян слабыми (0,1%-ными) растворами соляной и серной кислот и полив всходов подкисленной водой повышают газоустойчивость, как и периодическое смывание токсических соединений с листьев и нейтрализация известковыми и другими специальными растворами. Эффективны введение физиологически активных соединений, в том числе антиоксидантов - аскорбиновой кислоты, тиомочевины, гидрохинона и др., а также регуляция минерального питания, введение азота в виде мочевины. Несмотря на определенные успехи в исследовании газоустойчивости, общепринятой теории газоустойчивости в настоящее время пока не существует.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, разработанная для животных концепция стресса как совокупности неспецифических реакций вполне применима и к растениям, которые вследствие прикрепленного образа жизни находятся в особенно тесной зависимости от окружающей среды. Стресс служит основой для быстрой ориентации организма в меняющихся условиях существования и наиболее экономичным средством поддержания гомеостаза. Он проявляется на всех уровнях организации растения и во всех фазах действия неблагоприятного фактора. Благодаря неспецифическим механизмам возможно повышение устойчивости к нескольким воздействиям, вызывающим сходные изменения в обмене веществ.

В объединении резервных возможностей организма основную роль играют системы регуляции. Именно регуляция комплекса взаимозависимых защитных реакций представляет основу экологической устойчивости растений. Способы противостояния растений неблагоприятным условиям среды сложны и многообразны. Однако основная стратегия приспособления и комплекс неспецифических защитных реакций едины для растительных организмов независимо от степени их устойчивости. Различия же касаются скорости и амплитуды ответных реакций. Вероятно, в ходе эволюции именно такое сочетание путей реализации приспособления растений к неблагоприятным факторам среды сформировалось как наиболее эффективное.

Особенности существования растений в условиях экологического стресса уже многие годы находятся в центре внимания биологов. Однако интерес к этой проблеме не ослабевает, что связано как с запросами практики вследствие ухудшения экологических условий в мире, так и с необходимостью создания общей теории стресса и адаптации растений. Вместе с тем в последние годы благодаря фантастическим успехам биотехнологии и генной инженерии появилась возможность конструирования организмов с нужными человеку качествами, в том числе обладающих устойчивостью к стрессовым воздействиям. Предпринимаются новые и перспективные шаги в исследовании стресса и устойчивости растений. Экспериментально установленные биохимические механизмы устойчивости и чувствительности растений моделируются на трансгенных растениях. Проводится поиск специализированных генов устойчивости. Более того, для получения организмов, высокоустойчивых к комплексу воздействий, делаются попытки введения генов, "ответственных" за различные виды устойчивости. Если бы в одном растении удалось сосредоточить гены, отвечающие за увеличение осмотического потенциала, повышение стойкости мембран, удаление супероксидных радикалов, то такой организм был бы исключительно устойчив к

любому абиотическому стрессу. Подобные работы возможны при использовании комплекса генов или перекрестного скрещивания растений, содержащих разные гены стресс-устойчивости. Во избежание негативных эффектов в таких исследованиях необходимо учитывать сдвиги, которые могут произойти от вторжения извне в обмене веществ отдельных растений и в биоценозах в целом. Существенных достижений можно ожидать в результате решения старых проблем с помощью новых методов и подходов, а также подключения к исследованиям новых специалистов - молекулярных биологов и биохимических генетиков.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

К главе 1

- Александров В.Я. Реактивность клетки и белки. Л., 1985.318 с.
- Генкель П.А. О сопряженной и конвергентной устойчивости растений // Физиология растений. 1979. Т. 26, № 5. С. 921-931.
- Гродзинст Д.М. Надежность растительных систем. Киев, 1983.366 с.
- Гусев Н.Б. Внутриклеточные Ca-связывающие белки // Сорос, образоват. журн. 1998. № 5. С. 2-16.
 - Кунаева О. Н. Как регулируется жизнь растений // Там же. 1995. № 1. С. 18-27.
 - Кулисский В.И. Передача и трансдукция гормонального сигнала в разные части клетки//Там же. 1997. № 8. С. 14-19.
 - Опритов В.А. Функциональные аспекты биоэлектрогенеза у высших растений // LEX Тимирязевские чтения. Н. Новгород, 1998.44 с.
 - Полевой В.В. Внутриклеточные и межклеточные системы регуляции у растений//Сорос, образоват. журн. 1997. № 9. С. 6-11.
 - Рощина В.В. Нейротрансмиттеры-cateхоламины и серотонин в растениях// Успехи соврем. биологии. 1991. Т. 111, № 4. С. 636-662.
 - Селье Г. На уровне целого организма. М., 1972.268 с.
 - Тарчевский И.А. Катаболизм и стресс у растений // ЛII Тимирязевские чтения. М., 1993.80 с.
 - Филиппов П.П. Как внешние сигналы передаются внутрь клетки // Там же. 1998. №3. С. 28-34.
 - Чиркова Т.В. Клеточные мембранны и устойчивость растений к стрессовым воздействиям//Там же. 1997. № 9. С. 12-17.
 - Sakano K. Revision of Biochemical pH-Stat: fovolment of Alternative Pathway Metabolisms // Plant Cell Physiol. 1998. Vol. 39, № 5. P. 466-472.

К главе 2

- Варташян Б.Б. Кислород и структурно-функциональная организация растительной клетки // ХЫП Тимирязевские чтения. М., 1985.89 с.
- Гринева Г.М. Регуляция метаболизма у растений при недостатке кислорода. М., 1975.274 с.
- Чиркова Т.В. Пути адаптации растений к гипоксии и аноксии. Л., 1988.244с.

К главе 3

- Кулинский В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита // Сорос, образоват. журн. 1999. № 1. С. 2-1.
- Мерзляк М.Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Там же. 1999. № 9. С. 20-26.
- Скулачев В.П. Кислород в живой клетке: добро и зло // Там же. 1996. № 3. С. 4-10.
- Buettner G.R. The pecking order of tree radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α-tocopherol and ascorbate // Arch. Biochem. Biophys. 1993. Vol. 300, № 2. P. 535-543.

К главе 4

- Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. М., 1988.280с.
- Кунаева О.Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу // Сорос, образоват. журн. 1997. № 2. С. 5-13.
- Семихатова О.А. Энергетика дыхания растений в норме и при экологическом стрессе // XLVDI Тимирязевские чтения. М., 1990.72 с.

К главе 5

- Ванников В.К., Корытов М.В., Калачева Е.А. Низкотемпературная индукция синтеза стрессовых белков растений // Физиол. раст. 1989. Т. 36, № 1. С. 107-111.
- Скулачев В.П. Альтернативные пути клеточного дыхания // Сорос, образоват. журн. 1998. № 8. С. 2-7.

- *Хохлова Л.П.* Роль структурно-функционального состояния митохондрий при адаптации растений к низкой температуре. Казань, 1976. 166 с.

К главе 6

- *Балнокин Ю.В.* Ионный гомеостаз и осморегуляция у галотолерантных микроводорослей// Физиол. раст. 1993. Т. 40, №4. С. 567-576.

- *Иванова Т.И., Семихатова О.А., Юдина О.С.* Темновое дыхание галофитов // Там же. 1994. Т. 41, № 1. С. 44-48.

- Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов / Под ред. Н.В. Алексеевой-Поповой. Л., 1991. 214 с.

- *Феник С.И., Трофимяк Т.Б., Блюм Я.Б.* Механизмы формирования устойчивости растений к тяжелым металлам // Успехи соврем. биол. 1995. Т. 115. Вып. 3. С. 261-275.

К главе 7

- *Николаевский В.С.* Биологические основы газоустойчивости растений. Новосибирск, 1979. 279 с.

- *Николаевский В.С.* Эколо-физиологические основы газоустойчивости растений. М, 1989. 64 с.

К главе 8

- *Rozema J., van de Staaij J., Bjorn L.O., Caldwell M.* UV-B as an environment factor in plant life: stress and regulation // Tree. 1997. Vol. 12, № 1. P. 22-28.

К главе 9

- *Фрейдлин И.С.* Цитокины и межклеточные контакты в противоинфекционной защите организма // Сорос, образоват. журн. 1996. № 7. С. 19-25.

- *Mehdy M.C.* Active oxygen species in plant defence against pathogens // Plant Physiol. 1994. Vol. 105. P. 467-472.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	
Список сокращений	
Глава 1. Стресс и его регуляция у растений	
1.1. Механизмы стресса	
1.1.1. Особенности неспецифических реакций растений	
1.1.2. Общая стратегия адаптации растений к различным стрессорам	14
1.1.3. Надежность	15
1.1.4. Закаливание растений и устойчивость. Сопряженная устойчивость	17
1.2. Системы регуляции в условиях стресса	18
1.2.1. Перцепция и трансдукция сигнала	19
1.2.2. Генетическая-регуляция	27
1.2.3. Метаболическая регуляция на примере регуляции pH	30
1.2.4. Мембранные системы регуляции	34
1.2.5. Гормональная система регуляции	37
1.2.6. Трофическая система регуляции	46
1.2.7. Электрофизиологическая регуляция	48
Глава 2. Устойчивость к недостатку или отсутствию кислорода	53
2.1. Морфолого-анатомические приспособления к корневой гипоксии	54
2.2. Метаболические приспособления растений к гипо- и аноксии	
2.2.1. Дыхательный метаболизм	58
2.2.2. Белковый обмен	74
2.2.3. Рост и гормональный обмен	83
2.2.4. Роль липидов и клеточных мембран	90
2.3. Повышение устойчивости к гипо- и аноксии	98
Глава 3. Активные формы кислорода, механизмы защиты и устойчивость растений	
3.1. Основные формы активированного кислорода	102
3.2. Биологическое значение активных форм кислорода	105
3.3. Механизмы защиты	
3.3.1. Способы снижения образования активных форм кислорода	107
3.3.2. Системы антиоксидантной защиты	109
Глава 4. Устойчивость к засухе и повышенной температуре	
4.1. Засухоустойчивость	117
4.1.1. Реакции растений на засуху	119
4.1.2. Группы растений, способных переносить засуху	121
4.1.3. Механизмы приспособления растений к засухе	123
4.1.4. Повышение устойчивости к засухе	135
4.2. Жаростойкость	137
Глава 5. Устойчивость растений к низким температурам	
5.1. Холодостойкость	
5.1.1. Реакции растений на действие холода	148
5.1.2. Пути адаптации растений к пониженной температуре	151
5.1.3. Способы повышения устойчивости к пониженной температуре	152
5.2. Морозостойкость	153
5.2.1. Причины гибели растений при низкой отрицательной температуре	154
5.2.2. Приспособления растений к низким отрицательным температурам	155
5.2.3. Искусственное закаливание растений	164
Глава 6. Устойчивость к засолению и несбалансированному минеральному питанию	
6.1. Солеустойчивость	166
6.1.1. Реакции растений на засоление	167

6.1.2. Особенности приспособления растений к условиям засоления	169
6.1.3. Пути повышения устойчивости к засолению	180
6.2. Устойчивость растений к нарушениям минерального питания	
6.2.1. Роль основных минеральных элементов в жизни растений	181
6.2.2. Влияние избытка минеральных элементов на растение	183
6.2.3. Приспособление к избытку минеральных элементов	185
6.2.4. Влияние недостатка минеральных элементов на растение	188
6.2.5. Приспособления растений к недостатку минеральных элементов	191
Глава 7. Газоустойчивость	
7.1. Загрязняющие атмосферу газы	195
7.2. Действие газов на растение	197
7.3. Механизмы газоустойчивости	198
Глава 8. Устойчивость к ионизирующему излучениям	
8.1. Виды излучения	202
8.2. Действие радиации на растение	
8.2.1. γ -Радиация	203
8.2.2. УФ-радиация	207
8.3. Устойчивость растений к действию радиации	208
Глава 9. Устойчивость к фитопатогенам	212
9.1. Характеристика патогенов	213
9.2. Генетическая детерминированность взаимоотношений хозяина и паразита	214
9.3. Механизмы защиты от патогенов	216
9.4. "Узнавание" патогена и устойчивость к нему	223
9.5. Системы сигнализации, передачи сигнала о патогене и пути повышения устойчивости	225
9.6. Возникновение системной приобретенной устойчивости (иммунитета) к патогенам	231
Заключение	234
Рекомендуемая литература	236