

А. С. Лукаткин, С. В. Ешкина, Н. Г. Осмоловская

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА ГЕНЕРАЦИЮ СУПЕРОКСИДНОГО АНИОН-РАДИКАЛА В ЛИСТЬЯХ ОГУРЦА ПРИ СТРЕССОВОМ ДЕЙСТВИИ ОХЛАЖДЕНИЯ И ИОНОВ МЕДИ*

Введение

Растительные организмы в процессе жизнедеятельности постоянно подвергаются воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды как биотических, так и абиотических [1]. Многие из них, к которым растение эволюционно не приспособлено, могут оказывать стрессовое действие, приводящее к различным физико-химическим аномалиям в клетках растений, повреждению их структур и метаболических функций [2]. Для культурных растений наиболее значимы температурные воздействия, в том числе действие пониженных положительных температур [3]. В последнее время наблюдается все большее загрязнение почв ионами тяжелых металлов (ТМ), которые высоко токсичны для растений и могут приводить к многочисленным нарушениям [4].

Воздействие как неблагоприятной температуры, так и ТМ определяет возникновение в растительных клетках комплекса разнообразных реакций, объединяемых термином «стресс». Стресс — это особое обратимое состояние жизнедеятельности растений, индуцируемое неблагоприятными сдвигами в метаболизме под влиянием факторов внешней среды [5].

Центральное место в стрессовых реакциях растений занимают окислительные процессы, и в последнее время в употребление вошел термин «окислительный стресс» [6]. Окислительные процессы протекают в клеточных компартментах и в норме, сохраняясь при этом на определенном стационарном уровне за счет работы системы антиоксидантной защиты [7]. Эта система включает низкомолекулярные антиоксиданты (АО), представляющие собой соединения различной химической природы (витамин Е, коэнзим Q, глутатион, аскорбат), а также специализированные ферментные системы (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидазы и др.), способные тормозить или устранять свободнорадикальное окисление органических веществ [3, 8, 9]. Однако в неблагоприятных условиях антиоксидантная система растений перестает справляться с возрастающими уровнями активированных форм кислорода, что приводит к окислительному стрессу [3].

Лукаткин Александр Степанович — доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой, Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева (Саранск, Мордовия); e-mail: aslukatkin@yandex.ru

Ешкина Светлана Васильевна — соискатель, Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева; e-mail: aslukatkin@yandex.ru

Осмоловская Наталия Глебовна — кандидат биологических наук, доцент, Санкт-Петербургский государственный университет; e-mail: natalia_osm@mail.ru

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Федерального агентства по образованию (АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы», проект 2.1.1/624).

© А. С. Лукаткин, С. В. Ешкина, Н. Г. Осмоловская, 2013

Показано, что окислительный стресс возникает в клетках растений при действии самых разнообразных факторов среды: температуры [3, 10, 11], засоления [12, 13], засухи [10, 14], УФ-облучения [15, 16], ксенобиотиков [17], тяжелых металлов [4, 14, 15] и других стрессоров [7, 11, 16, 18]. Поскольку тяжесть стрессового воздействия в сильной степени определяется уровнем эндогенных антиоксидантов, можно предположить возможность ослабления стрессовой реакции растительных клеток при повышении в них уровня АО обработкой экзогенными антиоксидантами.

Целью работы было изучение влияния экзогенных антиоксидантов на проявления стрессового действия охлаждения и тяжелых металлов в клетках листьев огурца. В качестве критерия стрессового действия использовали скорость генерации супероксидного анион-радикала.

Задачи работы: 1) определить влияние экзогенных антиоксидантов (аскорбиновая кислота, глутатион) на скорость генерации супероксидного анион-радикала ($O_2^{\cdot-}$) в высечках из листьев огурца при температуре 25 и 3 °С; 2) выявить зависимость генерации $O_2^{\cdot-}$ в высечках из листьев огурца от концентрации ионов Cu^{2+} и длительности экспозиции при комнатной (25 °С) и пониженной (3 °С) температуре; 3) выяснить зависимость скорости генерации $O_2^{\cdot-}$ в высечках из листьев огурца от длительности экспозиции и совместного действия растворов антиоксиданта и тяжелого металла (Cu^{2+}) при температуре 25 и 3 °С.

Материалы и методы исследования

Объект исследования — растения огурца (*Cucumis sativus* L.) сорта Вязниковский 37. Растения выращивали в лабораторных условиях в сосудах с почвой (среднесуглинистый деградированный чернозем, объем 2 кг) при температуре 22–25 °С, непрерывном освещении люминесцентными лампами ЛБ-40 (ОАО «Лисма», Россия) интенсивностью 5000 лк и влажности почвы 60–80%.

По достижении растениями возраста 18–20 дней проводили модельные опыты с высечками из первого и второго настоящих листьев. В каждом опыте использовали по 300 мг высечек из листьев, не содержащих крупных жилок и взятых с нескольких растений. Высечки помещали в чашки Петри, содержащие 10 мл дистиллированной воды (контроль) или растворов антиоксидантов — аскорбиновой кислоты (в концентрациях 0,1; 0,5; 0,75 М), или глутатиона (в концентрации 100 мкМ), либо растворов $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (10^{-3} или 10^{-5} М), либо комбинацию АО+ТМ (глутатион, 100 мкМ + $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в концентрации 10^{-3} или 10^{-5} М), и выдерживали от 0,5 до 1,5 или 2 ч при температуре 25 или 3 °С. Сразу после окончания инкубации в высечках определяли скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ методом, в основе которого лежит способность данного радикала окислять адреналин в адrenoхром [19, 20]. Для этого высечки гомогенизировали в 15 мл дистиллированной воды и центрифугировали 15 мин при 8000 g. К 3 мл супернатанта добавляли 100 мкл раствора адреналина с рН 7,2–7,8 (конечная концентрация 0,18 мМ) и инкубировали 45 мин при комнатной температуре и освещенности 2000 лк. Сразу по окончании инкубации измеряли оптическую плотность образовавшегося адrenoхрома против гомогената с водой на спектрофотометре СФ-46 («ЛОМО», Россия) при длине волны 480 нм. Скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ рассчитывали в мкМ/г·мин ($\epsilon = 4020 \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$) [20].

Все определения проводили в трех отдельных опытах, каждый из которых включал несколько биологических повторностей. Данные, представленные в таблицах и на рисунках, являются средними арифметическими значениями из всех опытов с их стандартными ошибками. Статистическую обработку проводили с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

В первой серии опытов оценивали действие двух АО — аскорбиновой кислоты и глутатиона — на генерацию $O_2^{\cdot-}$ в высечках из листьев огурца. Выявлено, что характер влияния аскорбиновой кислоты на скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ зависел от концентрации антиоксиданта (табл. 1).

Таблица 1. Влияние аскорбиновой кислоты на скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ в высечках из листьев огурца при различной температуре (мкМ/г·мин)

Длительность инкубации, ч	25 °С				3 °С			
	Дист. H ₂ O	Аскорбиновая кислота			Дист. H ₂ O	Аскорбиновая кислота		
		0,1 М	0,5 М	0,75 М		0,1 М	0,5 М	0,75 М
0	0,12 ± 0,02							
0,5	0,15 ± 0,02	0,23 ± 0,04	0,25 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,29 ± 0,04	0,10 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,03 ± 0,01
1	0,20 ± 0,02	0,37 ± 0,06	0,27 ± 0,03	0,22 ± 0,01	0,30 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,07 ± 0,02
1,5	0,24 ± 0,03	0,20 ± 0,05	0,18 ± 0,04	0,40 ± 0,02	0,37 ± 0,04	0,28 ± 0,08	0,05 ± 0,02	0,07 ± 0,01

В ходе инкубации высечек в дистиллированной воде (контроль) при температуре 25 °С наблюдали монотонное увеличение образования $O_2^{\cdot-}$, что указывает на постепенное усиление окислительного стресса (вероятно, вызванного механическим повреждением клеток при изоляции высечек из листа) и снижение активности антиоксидантной системы.

В растворах аскорбиновой кислоты скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ в листьях при температуре 25 °С повышалась в первые 0,5 и 1 ч эксперимента (0,5–1), причем наибольший эффект наблюдался в растворах с низкой концентрацией аскорбата (0,1 М). Спустя 1,5 ч с начала инкубации генерация $O_2^{\cdot-}$ в растворе аскорбиновой кислоты (0,75 М) достоверно превышала величину водного контроля, тогда как в растворах с более низкой концентрацией аскорбата становилась ниже контроля. Можно видеть, что в данном эксперименте аскорбиновая кислота не оказала выраженного антиоксидантного действия, а, наоборот, выступила скорее в роли прооксиданта, в ряде вариантов усиливая генерацию $O_2^{\cdot-}$.

Известно, что отличительной особенностью низкомолекулярных АО является нелинейная зависимость между их концентрацией и степенью ингибирования свободнорадикальных процессов [8, 9]. Поэтому нерегулируемое увеличение содержания веществ с выраженными АО-свойствами в определенных условиях может привести к активации побочных реакций с образованием прооксидантов и АФК (прооксидантный эффект), что, видимо, и произошло в данном случае. Так, из литературы известно о прооксидантном действии аскорбиновой кислоты с металлами переменной валентности (Fe, Cu), которых много в клетках растения [9].

При снижении температуры инкубационной среды до 3 °С в контрольном варианте на дистиллированной воде наблюдали быстрое повышение скорости генерации $O_2^{\cdot-}$.

Уровень генерации $O_2^{\cdot-}$ в высечках в динамике холодной инкубации был относительно стабильным, достигая 2,5–3-кратного превышения по сравнению с исходной точкой. Этот эффект подтверждает известные данные об усилении образования АФК у теплолюбивых растений при действии пониженной положительной температуры [3, 6, 20, 21].

При внесении в инкубационную среду с температурой 3 °С аскорбиновой кислоты на фоне всех использованных концентраций отмечали достоверное снижение образования $O_2^{\cdot-}$ в листовых высечках относительно водного контроля, максимально выраженное в вариантах с 0,5 и 0,75 М аскорбата. Динамика генерации супероксида также зависела от содержания антиоксиданта в среде: при минимальной (0,1 М) концентрации экзогенного аскорбата отмечалось постепенное увеличение образования $O_2^{\cdot-}$, которое через 1,5 ч инкубации возросло в 2,5 раза по отношению к исходной величине, тогда как при более высоких его концентрациях (0,5 и 0,75 М) наблюдалось значительное снижение генерации супероксида по отношению к исходному уровню (в 1,5–4 раза), и особенно к водному контролю (в 4–10 раз).

Антиоксидантные свойства аскорбиновой кислоты основаны на функционировании одноэлектронных циклических переходов между гидро-, семигидро- и дегидро-аскорбатными формами, чему способствует подвижность протонов [22]. При сравнении двух температурных режимов инкубации (25 и 3 °С) можно видеть, что охлаждение на воде достоверно повышало генерацию $O_2^{\cdot-}$ в высечках из листьев огурца при всех экспозициях — от 0,5 до 1,5 ч, и в этих условиях, индуцирующих мягкий окислительный стресс, отчетливо проявлялся антиоксидантный эффект аскорбиновой кислоты (в отличие от температуры 25 °С). Таким образом, если при 25 °С аскорбиновая кислота проявляла прооксидантное действие, усиливая образование $O_2^{\cdot-}$, то при стрессовом низкотемпературном воздействии (3 °С) она оказывала противоположный эффект — выраженное антиоксидантное действие.

При использовании другого АО — глутатиона (100 мкМ) наблюдалась несколько иная картина образования $O_2^{\cdot-}$ (рис. 1).

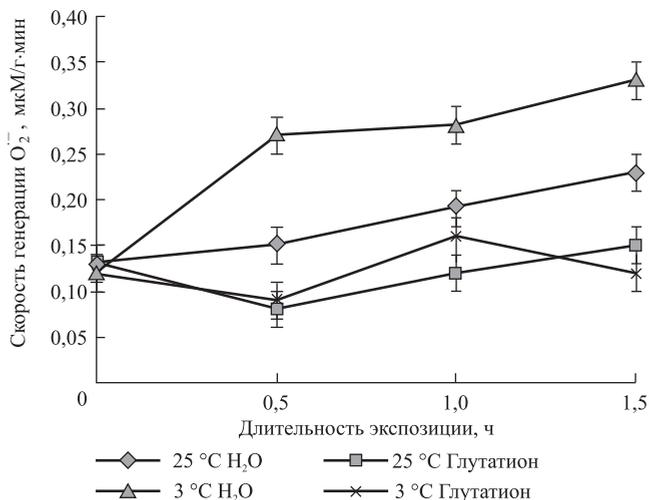


Рис. 1. Влияние глутатиона (100 мкМ) на скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ в высечках из листьев огурца при температуре 25 и 3 °С

Выдерживание высечек из листьев на воде, как и в предыдущем эксперименте, сопровождалось усилением генерации $O_2^{\cdot-}$ при обоих температурных режимах, более резким при температуре 3 °С. Добавление в среду инкубации 100 мкМ глутатиона значительно снижало образование супероксидного анион-радикала в высечках по сравнению с контролем на воде и обеспечивало поддержание достаточно стабильного уровня его генерации относительно исходной точки при обеих температурах. При этом образование $O_2^{\cdot-}$ в присутствии глутатиона недостоверно различалось в высечках из огурца, выдержанных при температуре 25 и 3 °С.

Таким образом, можно предположить, что глутатион, защитное действие которого, как известно, связано с окислением SH-группы и ее димеризацией в дисульфид [22], является более эффективным антиоксидантом по отношению к $O_2^{\cdot-}$, чем аскорбиновая кислота. Согласно данным из работ [3, 22] антиоксидантный эффект аскорбиновой кислоты и глутатиона реализуется, главным образом, посредством их участия в работе антиоксидантных ферментов, особенно аскорбат-глутатионового цикла. Ранее было показано, что обработка семян огурца синтетическими и природными гасителями радикалов индуцировала повышенную холодоустойчивость, причем наиболее эффективным оказался именно глутатион [23].

Во второй серии опытов исследовали действие разных концентраций ионов Cu^{2+} на скорость генерации $O_2^{\cdot-}$. Длительность экспозиции была увеличена от 1,5 до 2 ч. При этом в контроле на воде генерация $O_2^{\cdot-}$ в высечках при температуре 25 °С возрастала в динамике на протяжении всей 2-часовой экспозиции, тогда как при температуре 3 °С она достигла максимума при 1,5-часовой экспозиции и далее снизилась до уровня, близкого к наблюдаемому при 25 °С (рис. 2).

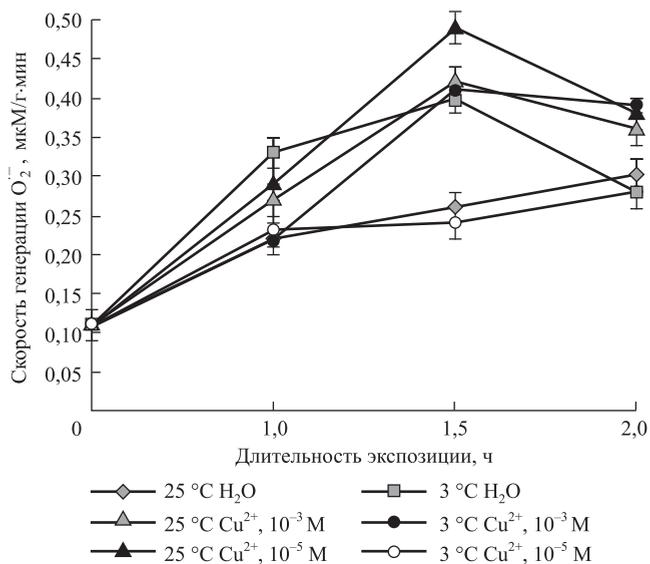


Рис. 2. Влияние ионов Cu^{2+} на скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ в высечках из листьев огурца при разной температуре

Измерения, проведенные при экспонировании высечек из листьев в растворах $CuSO_4$ при 25 °С, показали быстрое увеличение образования $O_2^{\cdot-}$ в клетках в сравнении с контролем на воде, максимум которого достигался при 1,5-часовой экспозиции и был

выше на фоне Cu^{2+} в концентрации 10^{-5}M (см. рис. 2). Отмеченное последующее снижение уровня супероксидного анион-радикала после 2-часовой экспозиции, вероятно, связано с активацией антиоксидантных ферментов, в первую очередь супероксиддисмутазы, которая ответственна за детоксикацию O_2^- при избытке меди [24]. Судя по наблюдаемому эффекту, можно полагать, что в начале воздействия активность СОД была невысокой, но далее начала возрастать, что отвечает представлениям об индуцибельности СОД [25]. Повышение ее активности в ходе экспозиции на растворах CuSO_4 может объясняться усилением экспрессии генов СОД под влиянием увеличения уровня супероксидного анион-радикала в клетках [26].

При воздействии ионов Cu^{2+} на фоне низкой температуры 3°C уровень O_2^- в высечках к концу периода длительностью 1 ч был ниже водного контроля (см. рис. 2), однако в дальнейшем генерация O_2^- заметно возрастала при внесении Cu^{2+} в концентрации 10^{-3}M (но не 10^{-5}M), что, видимо, обусловлено эффектом совместного действия двух стрессоров (низкая температура и тяжелые металлы). В целом, сопоставив эффект Cu^{2+} при двух температурных режимах, можно видеть, что при 25°C уровень O_2^- в опыте на растворах ТМ был относительно высоким по сравнению с водным контролем, тогда как при 3°C в первый час эксперимента наблюдалось пониженное содержание O_2^- в высечках на растворах с Cu^{2+} , очевидно, вследствие торможения поступления ТМ под влиянием низкой температуры среды (рис. 2).

Сравнение концентрационной зависимости воздействия ионов Cu^{2+} на фоне разных температур показывает, что при 25°C обе концентрации Cu^{2+} действовали на генерацию O_2^- практически сходным образом, тогда как на фоне 3°C эффект низкой концентрации Cu^{2+} (10^{-5}M) на генерацию O_2^- был выражен намного слабее (рис. 2).

В третьей серии опытов также на фоне двух температур оценивали совместное действие ионов Cu^{2+} в концентрациях 10^{-3} и 10^{-5}M и антиоксиданта глутатиона (100мкМ). Обнаружено, что при внесении глутатиона в растворы с Cu^{2+} уровень генерации O_2^- в высечках изменялся различно в зависимости от длительности экспозиции и концентрации металла (табл. 2). При температуре 25°C было заметно постепенное усиление генерации O_2^- как на фоне дистиллированной воды, так и при действии

Таблица 2. Влияние экзогенного глутатиона на скорость генерации O_2^- в листьях огурца в стрессовых условиях (мкМ/г·мин)

Вариант опыта	Длительность экспозиции, ч							
	25°C				3°C			
	0	1,0	1,5	2,0	0	1,0	1,5	2,0
Дист. H_2O	$0,12 \pm 0,02$	$0,22 \pm 0,01$	$0,26 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,02$	$0,33 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,05$	$0,28 \pm 0,07$
Глутатион, 100 мкМ		$0,09 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,03^*$	$0,20 \pm 0,01$		$0,21 \pm 0,02$	$0,25 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,01^*$
Cu^{2+} , 10^{-5}M		$0,29 \pm 0,02$	$0,49 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,02^*$		$0,23 \pm 0,03$	$0,24 \pm 0,05$	$0,28 \pm 0,01^*$
Cu^{2+} , 10^{-3}M		$0,27 \pm 0,05^*$	$0,42 \pm 0,03$	$0,36 \pm 0,05^*$		$0,22 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,01^*$	$0,39 \pm 0,01$
Cu^{2+} , 10^{-5}M + глутатион		$0,27 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,07^*$		$0,33 \pm 0,01^*$	$0,28 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,01^*$
Cu^{2+} , 10^{-3}M + глутатион		$0,30 \pm 0,07^*$	$0,43 \pm 0,01$	$0,34 \pm 0,01^*$		$0,40 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,01^*$	$0,50 \pm 0,02$

* Различия с контролем (вода) недостоверны при $p = 0,05$.

ионов Cu^{2+} , в последнем случае максимум наблюдался спустя 1,5 ч после экспозиции на растворах ТМ. При внесении в раствор только глутатиона генерация $\text{O}_2^{\cdot-}$ слабо возросла по отношению к исходному значению, но была ниже, чем в контроле на воде, что подтверждает эффективность глутатиона как гасителя свободных радикалов [22, 23]. Внесение глутатиона в раствор с высокой концентрацией Cu^{2+} (10^{-3}M) практически не изменило генерацию $\text{O}_2^{\cdot-}$ в высечках, тогда как на растворе с низкой концентрацией Cu^{2+} (10^{-5}M) оно привело к снижению образования $\text{O}_2^{\cdot-}$, особенно заметному после 1,5-часовой экспозиции.

В условиях низкой температуры наблюдали несколько иную картину: повышение скорости генерации $\text{O}_2^{\cdot-}$ в дистиллированной воде с максимумом в первые 1,5 ч и более медленное ее увеличение в растворах CuSO_4 , выразившееся в снижении уровня $\text{O}_2^{\cdot-}$ относительно водного контроля в первый час инкубации, что, возможно, связано с первоначальным ингибированием ионами Cu^{2+} белков, участвующих в формировании АФК. При увеличении времени экспозиции отмечалось увеличение скорости генерации $\text{O}_2^{\cdot-}$ под действием ионов Cu^{2+} .

Внесение глутатиона на фоне воды при 3°C привело к снижению генерации $\text{O}_2^{\cdot-}$ относительно водного контроля в первые 1–1,5 ч экспозиции. При совместном внесении глутатиона и меди в случае высокой концентрации Cu^{2+} (10^{-3}M) обнаружено заметное усиление генерации $\text{O}_2^{\cdot-}$ в присутствии глутатиона, тогда как при низкой концентрации Cu^{2+} (10^{-5}M) после начальной стимуляции генерации $\text{O}_2^{\cdot-}$ наблюдали ее снижение (см. табл. 2). Возможно, это обусловлено связыванием ионов Cu^{2+} с глутатионом и ингибированием антиоксидантных свойств последнего либо совместным действием на клетки листа двух стрессоров — тяжелых металлов и пониженной температуры. При этом глутатион как антиоксидант оказался неэффективным при высокой концентрации ТМ.

Таким образом, при обработке клеток растений ТМ и АО способность образующихся комплексов участвовать в реакциях свободнорадикального окисления зависит как от природы комплекса, так и от большого числа других, зачастую неизвестных факторов. В зависимости от условий эксперимента могут проявляться как анти-, так и прооксидантные свойства, причем прооксидантное действие зависит не только от химической природы вещества, но и от природы инициаторов процессов свободнорадикального окисления.

Заключение

Окислительные процессы, протекающие в клеточных компартментах в нормальных условиях, сохраняются на определенном стационарном уровне за счет работы антиоксидантной защитной системы [7]. В неблагоприятных условиях в растениях происходит неконтролируемое усиление генерации АФК, одной из которых является супероксидный анион-радикал [27], вследствие чего в клетках возникает окислительный стресс [6]. В наших экспериментах с высечками из листьев огурца (*Cucumis sativus* L.) было исследовано влияние экзогенных антиоксидантов на проявления окислительного стресса в клетках, подвергнутых стрессовому воздействию охлаждения и ионов Cu^{2+} , оцениваемое по возрастанию генерации супероксидного анион-радикала.

В результате работы выявлены существенные различия в действии выбранных экзогенных антиоксидантов на скорость генерации $\text{O}_2^{\cdot-}$ в высечках из листьев огурца.

Аскорбиновая кислота при температуре 25 °С проявляла прооксидантное действие, усиливая образование O_2^- , а при стрессовом воздействии низкой температуры (3 °С) оказала противоположный эффект — выраженное антиоксидантное действие. Глутатион снижал уровень O_2^- по сравнению с водным контролем при обоих температурных режимах. Очевидно, глутатион является более эффективным гасителем O_2^- , чем аскорбиновая кислота.

Ионы Cu^{2+} в обеих концентрациях (10^{-3} и 10^{-5} М) активировали генерацию O_2^- в клетках листьев огурца при температуре 25 °С, но при температуре 3 °С такой эффект проявлялся только в условиях высокой концентрации Cu^{2+} (10^{-3} М), тогда как на фоне Cu^{2+} (10^{-5} М) отмечалось снижение скорости генерации O_2^- .

При совместном воздействии глутатиона и ионов Cu^{2+} в высечках из листьев огурца обнаружено усиление (при высокой концентрации Cu^{2+}) или, наоборот, снижение (при низкой концентрации Cu^{2+}) скорости генерации O_2^- в клетках, более выраженное при температуре 25 °С. Вероятно, антиоксидантная активность глутатиона неэффективна при высокой концентрации ионов Cu^{2+} в среде. Можно сделать заключение, что при правильном выборе вида и концентрации экзогенно вносимого антиоксиданта возможно экспериментально повысить устойчивость растений к стрессовым факторам.

Литература

1. Лархер В. Экология растений. М.: Мир, 1978. 382 с.
2. Levitt J. Responses of plants to environmental stresses. Vol. 1: Chilling, freezing and high temperatures stresses. New York: Acad. Press, 1980. 426 p.
3. Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.
4. Sharma P.N., Bisht S.S., Kumar P., Mishra M.K. Induction of oxidative stress by deficiency and toxicity of zinc in wheat plants grown in solution culture // Indian J. Agric. Biochem. 1999. Vol. 12, N 1. P. 10–13.
5. Веселов А. П. Математическая модель возможного триггера обратимого включения режима стресса у растений // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 1. С. 124–131.
6. Scandalios I. G. Response of plant antioxidant defense genes to environmental stress // Adv. Genet. 1990. Vol. 28. P. 1–44.
7. Elstner E. F., Osswald W. Mechanisms of oxygen activation during plant stress // Oxygen and environmental stress in plants / Proc. of the Royal Society of Edinburgh. Section B. 1994. Vol. 102. P. 131–154.
8. Меньщикова Е. Б., Зенков И. К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Усп. совр. биол. 1993. Т. 113, вып. 4. С. 442–455.
9. Кения М. В., Лукаш А. И., Гуськов Е. П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Усп. совр. биол. 1993. Т. 113, вып. 4. С. 456–470.
10. Nayyar H., Kaushal S. K. Chilling induced oxidative stress in germinating wheat grains as affected by water stress and calcium // Biol. plant. 2002. Vol. 45, N 4. P. 601–604.
11. Zhao Hui-Jie, Tan Ji-Fang. Role of calcium ion in protection against heat and high irradiance stress-induced oxidative damage to photosynthesis of wheat leaves // Photosynthetica. 2005. Vol. 43, N 3. P. 473–476.
12. Sairam R. K., Srivastava G. C. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress // Plant Sci. 2002. Vol. 162, N 6. P. 897–904.
13. Panda S. K., Upadhyay R. K. Salt stress injury induces oxidative alterations and antioxidative defense in the roots of *Lemna minor* // Biol. plant. 2004. Vol. 48, N 2. P. 249–253.
14. Unyayar S., Keles Y., Cekic F. The antioxidative response of two tomato species with different drought tolerances as a result of drought and cadmium stress combinations // Plant, Soil and Environ. 2005. Vol. 51, N 2. P. 57–64.
15. Similar stress responses are elicited by copper and ultraviolet radiation in the aquatic plant *Lemna gibba*: implication of reactive oxygen species as common signals / Babu T. Sudhakar, Akhtar T. A., Lampi M. A., Tripuranthakam S., Dixon D. G., Greenberg B. M. // Plant and Cell Physiol. 2003. Vol. 44, N 12. P. 1320–1329.

16. Liang Chan-juan, Huang Xiao-hua, Tao Wen-yi, Zhou Qing. Responses of antioxidant enzyme and photosynthesis in rape seedling to the combined stresses of acid rain and ultraviolet-B radiation // J. Environ. Sci. 2005. Vol. 17, N 6. P. 1038–1041.
17. Miteva L., Tsoneva J., Ivanov S., Alexieva V. Alterations of the content of hydrogen peroxide and malondialdehyde and the activity of some antioxidant enzymes in the roots and leaves of pea and wheat plants exposed to glyphosate // Докл. Бълг. АН. 2005. Vol. 58, N 6. С. 723–728.
18. Role of reactive oxygen species in abiotic and biotic stresses in plants / Pogany M., Harrach B. D., Hafez Y. M., Barna B., Kiraly Z., Paldi E. // Acta phytopathol. et entomol. hung. 2006. Vol. 41, N 1–2. P. 23–35.
19. Минибаева Ф. В., Рахматулина Д. Ф., Гордон Л. Х., Вылегжанина Н. Н. Роль супероксида в формировании неспецифического адаптационного синдрома корневых клеток // Докл. РАН. 1997. Т. 355, N 4. С. 554–556.
20. Лукаткин А. С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений. 1. Образование активированных форм кислорода при охлаждении растений // Физиология растений. 2002. Т. 49, № 5. С. 697–702.
21. Wiese R. R. Chilling-enhanced photooxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure // Plant Physiol. 1987. Vol. 83, N 2. P. 272–277.
22. Noctor G., Foyer C. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control // Annu. Rev. Plant Physiol. 1998. Vol. 49. P. 249–279.
23. Jennings P. H. Radical scavengers increase *Cucumis sativus* L. seedlings root tolerance to chilling // Plant Physiol. 1994. Vol. 105, N 1, Suppl. P. 26.
24. Jouili H., El Ferjani E. Changes in antioxidant and lignifying enzyme activities in sunflower roots (*Helianthus annuus* L.) stressed with copper excess // C. r. Biol. 2003. Vol. 326, N 7. P. 639–644.
25. Bowler C., Van Montagu M., Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. Vol. 43. Palo Alto. 1992. P. 83–116.
26. Sen Raychaudhuri S. The role of superoxide dismutase in combating oxidative stress in higher plants // Bot. Rev. 2000. Vol. 66. P. 89–98.
27. Мерзляк М. Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. физиол. раст. 1989. Т. 6. С. 1–168.

Статья поступила в редакцию 13 июня 2013 г.