



## ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.5 (471.67) 581.1 (471.67)

### ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ И АНТИОКСИДАНТОВ НА АПОПТОЗ У РАСТЕНИЙ (ОБЗОР)

© 2007. **Абдуллаева Т.М., Магомедова М.А.**  
Дагестанский государственный педагогический университет

Проведён анализ исследований учёных по изучению влияния фитогормонов и антиоксидантов на апоптоз у растений.  
Investigations of scientists on study influence of phytohormones and antioxidants on apoptos at the plants analysis was make up.

Апоптоз представляет собой генетически запрограммированную смерть клеток и является неотъемлемой частью роста и развития растений. Апоптотическая элиминация проявляется в самых разных органах и тканях на соответствующих этапах развития растений [4, 14, 19].

Изменения в морфологии клеток растений при апоптозе сходны с таковыми при апоптозе у животных. В частности, в апоптотической клетке происходит выраженная конденсация и маргинация хроматина с последующим распадом ядра и межнуклеосомной фрагментацией ядерной ДНК, а также реорганизация цитоплазмы [2, 4; 8, 9, 14, 15]. У животных апоптоз ведёт к разрушению ядра и к полному уничтожению клетки в результате фагоцитоза. У растений, также как и у животных, апоптоз приводит к разрушению и исчезновению клеточного ядра, но клеточная стенка при этом сохраняется или подвергается гидролизу на более поздних стадиях процесса. Апоптоз у растений имеет и ряд других отличительных особенностей [14, 15].

В запуске апоптоза как в животных, так и в растительных клетках участвуют активные формы кислорода – АФК [4; 20], образование которых у растений происходит преимущественно в хлоропластах и в митохондриях [15].

АФК представляют собой свободно радикальные частицы (супероксидный анионрадикал, перекисные радикалы, гидроксильный радикал) или нейтральные молекулы (перекись водорода или синглетный кислород). Образование АФК может индуцировать любое неблагоприятное внешнее воздействие. Предполагается, что АФК участвуют в инициации окислительного стресса [7, 12, 13].

Растения обладают разными эффективными системами защиты от факторов, запускающих апоптоз, таких как окислительного стресса и разрушительного действия постоянно возникающих в них АФК [4]. В клетке функционирует большое количество ферментативных и низкомолекулярных антиоксидантов, препятствующих избыточному накоплению АФК [13]. Основную роль в элиминации АФК играют такие антиокислительные ферменты, как супероксиддисмутаза (СОД), пероксидаза, каталаза и низкомолекулярные вещества - глутатион, аскорбиновая кислота, каротиноиды, флаваноиды.

Несмотря на то, что апоптоз довольно жёстко запрограммирован в онтогенезе растения, он может индуцироваться или модулироваться различными факторами среды, включая инфекции [4; 19] и стрессовые воздействия абиогенной природы [20, 22]. Апоптоз эффективно модулируется анти- и прооксидантами [2, 4, 8, 9, 15, 16] и может быть подвергнут гормональному контролю [4, 5, 10, 16]. Известно, что гормональные сигналы являются ведущими элементами всей программы развития и могут контролировать и такой процесс в онтогенезе растения, как апоптоз [5]. К сожалению, сведения о влиянии разных фитогормонов на апоптоз весьма немногочисленны и фрагмен-



тарны, а молекулярные механизмы гормональной регуляции апоптоза у растений, как и механизмы его регуляции антиоксидантами, всё ещё неизвестны [2, 5].

Целью обзора явилось обобщение имеющегося в литературе материала относительно влияния различных фитогормонов и антиоксидантов на апоптоз растений, что позволило бы конкретизировать молекулярные механизмы этих воздействий.

В исследованиях Ванюшина с соавторами [5] изучено влияние экзогенных регуляторов роста растений на апоптоз этиолированных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Показано, что их развитие сопровождается апоптозом в колеоптиле. Выраженная апоптозная межнуклеосомная фрагментация ДНК в колеоптиле обнаруживалась уже в шестидневных проростках, а у восьмидневных она проявлялась очень сильно [5].

Выращивание же двухдневных этиолированных проростков в присутствии  $10^{-5}$  М БАП,  $\text{GA}_3$ , фузикококцина С или синтетического аналога ИУК 2,4-Д в течении последующих шести дней заметно не влияло на апоптозную фрагментацию ДНК в колеоптиле, она происходила в те же сроки и примерно с такой же интенсивностью, как и у контрольных растений. Таким образом, ни один из этих испытанных регуляторов роста растений не предотвращал апоптозную фрагментацию ДНК.

В отличие от указанных стимуляторов роста растений природный ингибитор роста АБК резко усиливала фрагментацию ДНК в колеоптиле проростков пшеницы. Предполагается, что АБК приводит к увеличению образования в клетках АФК, которые, как известно, и запускают апоптоз у растений [4; 20]. Гибберелин же подавлял действие АБК на апоптоз, а цитокинин и ауксин не влияли на апоптоз в колеоптиле пшеницы [5] и на апоптозную фрагментацию в алейроновом слое зерновки ячменя при прорастании [24].

Поскольку цитокинины, являясь факторами омоложения, задерживают процессы старения листьев [11], то казалось, что они должны были бы ингибировать апоптоз, который, как известно, сопровождает старение органов, в том числе и листьев. Однако заметного подавляющего действия цитокининов обнаружено не было ни в колеоптилях проростков, ни в клетках алейронового слоя ячменя при прорастании [24]. Видимо в клетке решающее значение имеет суммарный гормональный баланс. Так, например, у циннии апоптоз запускается при определённом значении цитокинина и ауксина [18]. К тому же следует учесть, что действие разных фитогормонов на апоптоз у растений тканеспецифично [5].

Аналогично АБК стимулирует апоптоз и продуцент этилена (природного ингибитора роста) – этрел, под действием которого наряду с межнуклеосомной фрагментацией происходит, и в дальнейшем сопровождающая апоптоз, более глубокая деградация ДНК. Это объясняется индукцией и активацией этрелом эндонуклеаз чьему, в свою очередь, предшествует активация протииолетической активности [5, 16].

Согласно данным Федоревой с соавторами [16], при выращивании проростков пшеницы в присутствии этрела ускоряется вступление колеоптиля в апоптоз, и почти в 6 раз увеличивается протеолитическая активность его в клетках. При этом основными участниками апоптоза являются цистеиновые и сериновые протеазы.

Принято считать, что главными участниками апоптоза в животных клетках являются цистеиновые аспартат-специфичные протеазы, известные как каспазы [6]. Прямых же доказательств существования истинных каспаз у растений пока ещё нет.

Таким образом, «гормон старения» этилен, регулируя экспрессию соответствующих генов [4], и повышая протеолитическую и эндонуклеотическую активность [16, 5], безусловно, контролирует процессы апоптоза и старения у растений [4, 19].

Уже давно высказано предположение о том, что запрограммированная гибель клеток сопряжена с дерепрессией определённых генов старения и смерти [3]. Известно, что одним из механизмов инактивации генов у растений является метилирование ДНК, и этот процесс контролируется фитогормонами. Именно фитогормоны обеспечивают специфическое деметилирование ДНК [10], которое необходимо для экспрессии большинства генов. Установлено, что метилирование ДНК у растений уменьшается с возрастом. Этим объясняется, видимо то, что возрастное деметилирование ДНК связано со старением и может касаться генов, кодирующих апоптогенные белки.



У растений одним из деметилирующих агентов является 5-азацидин. Исследованиями Ванюшина с соавторами (2001) показано, что 5-азацидин резко усиливает в колеоптиле апоптозную фрагментацию ДНК. Это видимо, обусловлено деметилированием [1] и соответственно дерепрессией и индукцией генов разных апоптозных факторов, в том числе, например, каспаз, эндонуклеаз, протеаз и других белков или с увеличением доступности нуклеазам деметилированной ДНК в хроматине вследствие меньшей его компактности в присутствии 5-азацидина.

Таким образом, апоптоз у растений контролируется некоторыми регуляторами роста растений и модулируется метилированием ДНК.

К особому классу регуляторов роста растений относят в настоящее время также синтетические и природные антиоксиданты [17, 22]. Считается, что по эффективности физиологического действия некоторые антиоксиданты сопоставимы с фитогормонами. Данные ряда исследований [2, 4, 8, 9, 16] свидетельствуют о том, что антиоксиданты заметно влияют на рост и развитие растений. К сожалению, роль их в этих процессах ещё недооценивается и к тому же ещё недостаточно изучены и молекулярные механизмы их антиапоптозного действия [2].

В исследованиях различных учёных [2, 4, 8, 9, 16] показано, что антиоксидант ионол (ВНТ) в отличие от фитогормонов – ингибиторов АБК и этилена [5, 16] продлевает жизнь колеоптиля проростков пшеницы и предупреждает появление у него характерных для старения и апоптоза признаков. В частности, ВНТ тормозит возрастное снижение содержания суммарных ДНК и белка [17], апоптозную межнуклеосомную фрагментацию ядерной ДНК, появление в клеточных вакуолях специфических везикул с активными реплицирующими мт митохондриями и образование в них тяжёлой мт ДНК [20]. Это означает, что у растений, как и животных [23] ВНТ является эффективным геропротектором, что связывают с его антиокислительными свойствами, т.е. со способностью инактивировать АФК, разрушающее действие которых является одной из причин старения [17]. При выращивании проростков в присутствии ВНТ сильно угнетается и образование АФК и, в частности, супероксида в колеоптиле [21]. Известно, что наряду с образованием и инактивацией АФК антиоксидант ВНТ может ингибировать вызываемый АФК выход из митохондрий в цитоплазму индуцирующих апоптоз факторов, в том числе и цитохрома С [2]. Выявленное эффективное предотвращение ВНТ апоптоза, коррелирующее с подавлением им образования и инактивации АФК в колеоптилях пшеницы [17, 21], указывает на то, что АФК могут выступать в качестве триггеров апоптоза у растений. Лишённый гидроксильной группы и не являющийся антиоксидантом 3,5-ди-трет-бутилтолуол при той же концентрации физиологически инертен и не обладает аналогичным ВНТ действием [2].

Исследования Самуилова с соавторами (2002) показали, что апоптоз предотвращается не только антиоксидантом ВНТ, но и другими антиоксидантами, например,  $\alpha$ -токоферолом и маннитолом. Все три соединения подавляли CN-индуцированное разрушение ядер в эпидермальных и устьичных клетках. Аналог маннитола – сорбитол, не являющийся антиоксидантом, не предотвращал CN-индуцированное разрушение ядер. Действие, противоположное антиоксидантам, оказывали АФК-генерирующие реагенты, как, например, МВ (паракват), известный как эффективный гербицид, и менадион, которые усиливали разрушение ядер [15].

Не препятствует апоптозной фрагментации ДНК и аскорбиновая кислота [2]. Выращивание проростков в присутствии аскорбиновой кислоты не сказывается заметно на их росте и развитии, даже при относительно больших концентрациях этого антиоксиданта. Видимо в отличие от ВНТ, лишённая необходимой гидрофобности аскорбиновая кислота, не может достаточно эффективно проникать через мембраны митохондрий и пластид и нейтрализовать образующиеся в них АФК. Кроме того, известно, что растения обладают высоким содержанием эндогенной аскорбиновой кислоты, и на этом фоне использованные концентрации этого вещества, видимо, не эффективны [2].

Исследованиями различных авторов [2, 8, 9] показано, что в отличие от выраженного геропротекторного действия в колеоптиле, антиоксидант ВНТ не блокирует в первом листе этиолированных проростков пшеницы апоптозную фрагментацию ядерной ДНК, что особенно характерно для клеток апикальной части листовой пластинки, т.е. в наиболее старой зоне листа с неделящими клетками [2, 9]. Эти данные свидетельствуют о том, что действие антиоксиданта ВНТ тканеспецифично.



В отличие от геропротекторного и ингибирующего апоптоз действия антиоксиданта ВНТ, перекиси ( $H_2O_2$ ; гидроперекись кумола) стимулируют апоптоз в колеоптиле и в клетках первого листа [2, 8, 9]. При этом стимулирующее действие в листе проявляется примерно на 24 часа раньше, чем в колеоптиле. По-видимому, это отчасти объясняется, возможно, более высоким содержанием кислорода и  $Fe^{2+}$  в фотосинтезирующем листе, чем в колеоптиле. Известно, что перекиси в присутствии  $Fe^{2+}$  или на свету могут служить источником реакционного радикала  $\cdot OH$ , усиливающего апоптозную фрагментацию в листе [9].

Таким образом, приведённые данные свидетельствуют о том, что апоптоз, являющийся неотъемлемой частью онтогенеза растений, может эффективно модулироваться регуляторами роста растений, антиоксидантами и активными формами кислорода, в том числе перекисями.

### Библиографический список

1. Александрушкина Н.И., Кирнос М.Д., Ротаенко Е.П., Ванюшин Ф.Б. Ингибирование 5-азацидином синтеза и метилирование ядерной ДНК в последовательных клеточных циклах делящихся клеток первого листа проростков пшеницы. // Биохимия. – 1989. – Т.54. – С.355-360.
2. Бакеева Л.Е., Замятнина В.А., Шорнинг Б.Ю., Александрушкина Н.И., Ванюшин Б.Ф. Действие антиоксиданта ионола (ВНТ) на рост и развитие этилированных проростков пшеницы: контроль за апоптозом, делением клеток, ультраструктурой органелл и дифференцировкой пластид. // Биохимия. – 2001. – Т.66. Вып.8. – С.1048-1059.
3. Ванюшин Б.Ф., Бердышев Г.Д. Молекулярно-генетические механизмы старения. // М.: Медицина, 1977. – 295 с.
4. Ванюшин Б.Ф. Апоптоз у растений. // Успехи биол. химии. 2001. Т. 41. – С.3-38.
5. Ванюшин Б.Ф., Шорнинг Б.Ю., Середина А.В., Александрушкина Н.И. Влияние фитогормонов и 5-азацидина на апоптоз у этилированных проростков пшеницы. // Физиология растений. – 2002. – Т.49. №4. – С.558-564.
6. Гордеева А.В., Лоббас Ю.А., Звягильская П.А. Апоптоз одноклеточных организмов. // Биохимия. – 2004. – Т.69. Вып.10. – С.1301-1313.
7. Жиров В.К., Мерзляк М.Н., Кузнецов Л.В. Перекисное окисление мембранных липидов холодостойких растений при повреждении отрицательными температурами. // Физиология растений. – 1982. – Т.29. Вып.6. – С.1045.
8. Замятнина В.А., Бакеева Л.Е., Александрушкина Н.И., Ванюшин Б.Ф. Апоптоз в первом листе у этилированных проростков пшеницы: влияние антиоксиданта ионола и перекисей. // Биохимия. – 2002. – Т.67. Вып.2. – С.253-264.
9. Замятнина В.А., Бакеева Л.Е., Александрушкина Н.И., Ванюшин Б.Ф. Апоптоз у этилированных проростков пшеницы. 2. Влияние антиоксиданта (ВНТ) и перекисей. // Физиология растений. – 2003. – Т.50. №2. – С.280-290.
10. Кирнос М.Д., Артюховская Н.А., Александрушкина Н.И., Ашапкин В.В., Ванюшин Б.Ф. Влияние фитогормонов на репликативное и пострепликативное метилирование ядерной ДНК в S-фазе клеточного цикла первого листа этилированных проростков пшеницы. // Биохимия. – 1986. – Т.51. – С.1875-1885.
11. Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функция. – М.: Наука, 1973. – 264 с.
12. Лукаткин А.С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений. // Физиология растений. – 2002. – Т.49. №5. – С.697-702.
13. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки. Итоги науки и техники. / Изд. ВИНТИ. Сер. Физиология растений. – 1989. – Т.6. – 168 с.
14. Самуилов В.М., Олескин А.В., Логунова В.М. Программируемая клеточная смерть. // Биохимия. – 2000. – Т.65. Вып.8. – С.1029-1046.
15. Самуилов В.Д., Лагунова В.М., Дзюбинская Е.В., Изюмов Д.С., Киселевский Д.Б., Макарова Я.В. Участие хлоропластов в программируемой гибели клеток у растений. // Биохимия. – 2002. – Т.67. Вып.6. – С.757-765.
16. Федореева Л.И., Александрушкина Н.И., Дунаевский Я.Е., Белозёрский М.А., Ванюшин Б.Ф. Влияние продуцента этилена этрела и антиоксиданта ионола (ВНТ) на протеолитический аппарат в колеоптилях проростков пшеницы при сопровождающем ранний онтогенез апоптозе. // Биохимия. – 2003. – Т.68. Вып.4. – С.570-576.
17. Шорнинг Б.Ю., Смирнова Е.Г., Ягужинский Л.С., Ванюшин Б.Ф. Необходимость образования супероксида для развития проростков пшеницы. // Биохимия. – 2000. – Т.65. – С.1612-1617.
18. Fukuda H. Programmed Cell Death in Plants of Tracheary Elements as a Paradigm in Plants. Plant. // Mol. Biol. – 2000. – V.44. – P.245-253.
19. Greenberg I.T. Programmed Cell. Deaths: A Way of Life For Plants. // Prog. Nat. Acad. Sci. USA. – 1996. – V.93. – P.12094-12097.
20. Gunawardena A.H., Pearce D.M., Jackson M.B., Hawes C.R., Evans D.E. Characterization of Programmed Cell Death during Aerenchyma Formation Induced by Ethylene of Hypoxia in Roots of Maize (*Zea mays* L.). // Planta. – 2001. – V.212. – P.205-214.
21. Harman D. Free Radical Theory of aging. // Mutat. Res. – 1992. – V.275. – P.257-266.
22. Iabs T. Reactive Oxygen Intermediates as Mediators of Programmed Cell Death in Plants and Animals. Biochem. // Pharmacol. – 1999. – V.57. – P.231-245.
23. Sharma S.P., Wadhwa R. Effect of Butylated Hydroxytoluence on the Life Span of *Drosophila bipentationata*. // Mechanisms Ageing Development. – 1983. – V.23. – P.67-71.
24. Wang M., Oppedijk B.I, Lux., van Duijn B., Schilperoort R.A. Apoptosis in Barly Aleurone during Germination and Its Inhibition by Abscisic Acid Plant. // Mol. Biol. – 1996. – V.32. – P.1125-1134.