ЛЕКЦИЯ 9. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ

Кафедра биотехнологии,
КазНУ имени аль-Фараби
проф. д.б.н. Кенжебаева С.С.

ЦЕЛЬ ЛЕКЦИИ:

Цель лекции - Сформировать у студентов представление о физиологических, биохимических и молекулярных механизмах устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды, включая восприятие стрессовых сигналов, окислительный стресс, антиоксидантную защиту, осмотическую адаптацию и гормональную регуляцию стрессовых реакций.

Ожидаемые результаты обучения.

1. Объяснять понятия стресса, стрессоустойчивости, адаптации и акклимации растений.

2. Характеризовать основные физиологические и биохимические изменения, возникающие в растениях под действием стрессовых факторов.

3. Объяснять механизмы образования активных форм кислорода (АФК) и их двойственную роль в клеточной сигнализации и окислительном повреждении.

4. Описывать функции ферментативных (SOD, CAT, APX, POD) и неферментативных антиоксидантных систем в защите растительных клеток.

5. Характеризовать механизмы осмотической регуляции и роль пролина, растворимых сахаров и других осмопротекторов в стрессоустойчивости.

6. Объяснять роль фитогормонов, сигнальных каскадов и стресс-индуцируемых генов в формировании адаптивных реакций растений.

7. Применять знания о физиологических и молекулярных механизмах стрессоустойчивости для интерпретации показателей водного состояния, фотосинтеза, окислительного стресса и антиоксидантной активности растений.

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. **Понятие стресса, стрессоры и устойчивость растений.**
2. **Общие физиологические реакции растений на стресс.**
3. **Окислительный стресс и активные формы кислорода (АФК).**
4. **Антиоксидантная защитная система растений.**
5. **Осмотическая регуляция и защитные метаболиты.**
6. **Гормональная и молекулярная регуляция стрессовых реакций.**

Заключение. Рекомендуемая литература.

1. ПОНЯТИЕ СТРЕССА, СТРЕССОРЫ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ

Стресс у растений: понятие и биологическое значение

Стресс у растений — состояние, возникающее под воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды, которые нарушают физиологическое равновесие, обмен веществ, рост и развитие растения.

Стрессовое воздействие может приводить к:

- *нарушению водного и ионного баланса;*
- *изменению интенсивности фотосинтеза и дыхания;*
- *повреждению клеточных мембран и белков;*
- *изменению гормональной регуляции;*
- *активации защитных и адаптивных механизмов*.

Стрессовая реакция — совокупность физиологических, биохимических и молекулярных изменений, направленных на поддержание жизнеспособности растения.

Важно: умеренный стресс может активировать защитные механизмы, тогда как сильный или продолжительный стресс способен вызвать необратимые повреждения.

КЛАССИФИКАЦИЯ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Стрессоры подразделяются на абиотические и биотические.

Абиотические стрессоры

- Засуха и водный дефицит
- Высокие и низкие температуры
- Засоление почвы
- Недостаток или избыток минеральных элементов
- Избыточная освещённость, УФ-излучение
- Тяжёлые металлы и загрязнители

Биотические стрессоры

- Патогенные грибы
- Бактерии и вирусы
- Насекомые-фитофаги
- Паразитические растения
- Другие вредные организмы

В природных условиях растения часто подвергаются комбинированному стрессу, например одновременному действию засухи и высокой температуры.

СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ, АДАПТАЦИЯ И АККЛИМАЦИЯ

Стрессоустойчивость — способность растения сохранять жизнеспособность и основные физиологические функции при воздействии неблагоприятных факторов среды.

Пример: уменьшение устьичной проводимости при засухе помогает растению ограничивать потерю воды. Накопление осмопротекторов и усиление антиоксидантной защиты повышают способность клеток переносить водный дефицит.

Понятие	Характеристика
Устойчивость	Способность выдерживать неблагоприятное воздействие
Избегание стресса	Снижение воздействия стрессора или поддержание благоприятного внутреннего состояния
Толерантность	Способность сохранять функции при наличии стрессовых изменений
Акклимация	Обратимая физиологическая перестройка в течение жизни растения
Адаптация	Наследственно закреплённые признаки, сформированные в процессе эволюции

ОСНОВНЫЕ ФАЗЫ СТРЕССОВОЙ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ

Реакция растения на стресс представляет собой динамический процесс.

1. Восприятие стрессора

Изменения состояния мембран, белков, водного и ионного баланса

2. Передача сигнала

Ca^{2+}, АФК, протеинкиназы и фитогормоны

3. Активация защитных реакций

Антиоксиданты, осмопротекторы, защитные белки

4. Акклимация или повреждение

Восстановление гомеостаза либо прогрессирование нарушений

5. Восстановление

Репарация повреждений и возобновление роста после ослабления стресса

При сильном или продолжительном воздействии стрессора восстановление может быть неполным либо не наступить.

2. ОБЩИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА СТРЕСС

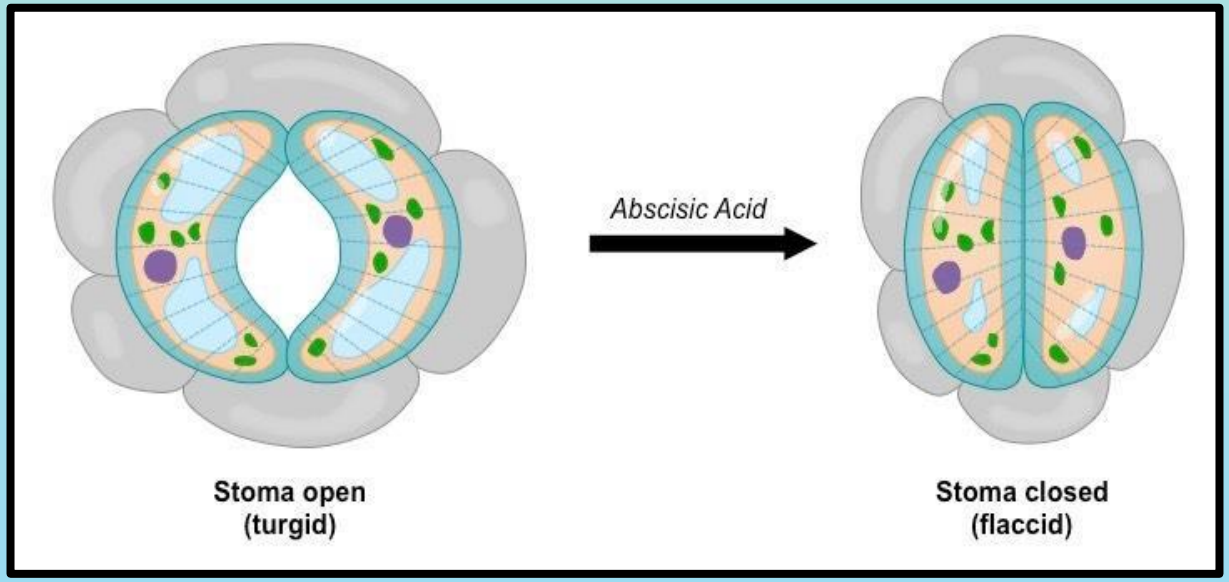
Нарушение водного баланса и устьичная регуляция

Одной из наиболее ранних реакций на водный дефицит является изменение водного состояния клеток.

Основные последствия:

- **снижение водного потенциала тканей;**
- **уменьшение тургора;**
- **замедление растяжения клеток;**
- **снижение устьичной проводимости;**
- **ограничение поступления CO_2 в листья.**

Важную роль играет абсцизовая кислота (ABA), которая способствует закрытию устьиц и уменьшению транспирации.



Для оценки водного состояния листьев часто используют относительное содержание воды (RWC):
\[RWC=\frac{FW-DW}{TW-DW}\times100\% \]
где FW — свежая масса, TW — масса после полного насыщения водой, DW — сухая масса.

ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА ФОТОСИНТЕЗ

Основные показатели фотосинтетического аппарата:

Показатель	Физиологическое значение
Fv/Fm	Максимальная квантовая эффективность ФСII после темновой адаптации
Y(II)	Эффективная квантовая эффективность ФСII при освещении
NPQ	Нефотохимическое тушение избыточной энергии
ETR	Оценка скорости электронного транспорта

Неблагоприятные условия могут нарушать как световые реакции фотосинтеза, так и фиксацию CO_2.

Основные изменения:

1. снижение устьичной проводимости и поступления CO_2;
2. ограничение активности цикла Кальвина;
3. нарушение электронного транспорта;
4. снижение эффективности фотосистемы II;
5. усиление нефотохимического тушения энергии;
6. увеличение вероятности образования АФК.

Пример: при засухе у пшеницы часто наблюдается снижение Y(II) и ETR. NPQ может возрастать как защитная реакция, но при сильном повреждении его динамика зависит от состояния фотосинтетического аппарата.

ИЗМЕНЕНИЕ ДЫХАНИЯ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА

Стресс изменяет потребность клеток в энергии и восстановительных эквивалентах.

Основные реакции:

1. **изменение интенсивности митохондриального дыхания;**
2. **перераспределение углеродных субстратов;**
3. **увеличение энергетических затрат на защиту и репарацию;**
4. **нарушение образования АТФ при тяжёлом стрессе;**
5. **изменение активности альтернативного пути переноса электронов.**

Альтернативная оксидаза (AOX) — компонент митохондриальной электронной транспортной цепи растений, который способствует поддержанию электронного потока и может ограничивать избыточное образование АФК.

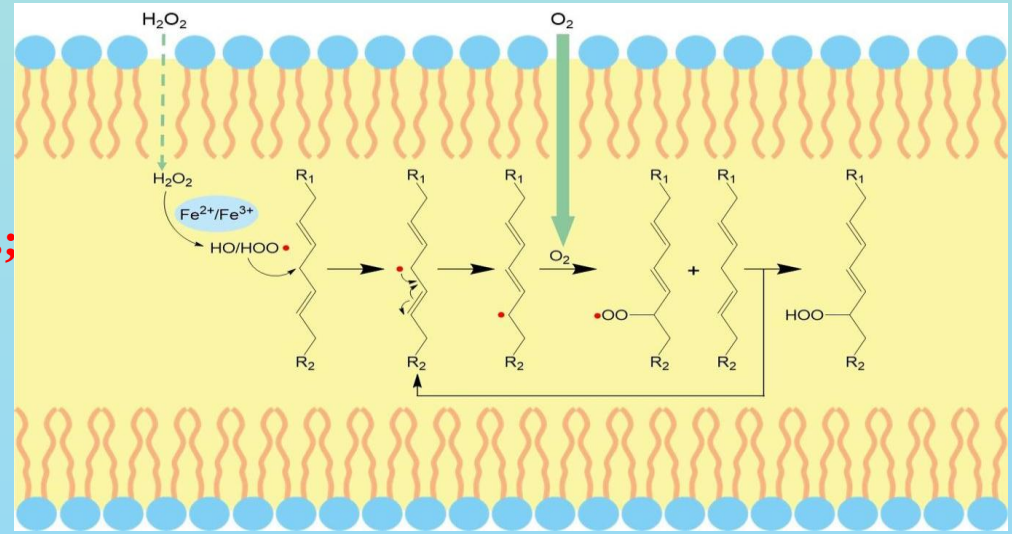
При этом альтернативный путь обеспечивает **меньший выход АТФ на единицу перенесённых электронов по сравнению с основным цитохромным путём.**

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ПРИ СТРЕССЕ

Клеточные мембраны относятся к наиболее чувствительным структурам растительной клетки.

Под действием стрессоров могут происходить:

- **изменения текучести липидного бислоя;**
- **нарушение работы мембранных транспортёров;**
- **изменение ионной проницаемости;**
- **перекисное окисление липидов;**
- **нарушение мембранного потенциала.**



Малоновый диальдегид (MDA) — один из продуктов перекисного окисления липидов, широко используемый как биохимический показатель окислительного повреждения мембран.

Следует учитывать, что MDA не является абсолютно специфичным маркером, особенно при его определении методом TBARS.

ИЗМЕНЕНИЕ РОСТА И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РЕСУРСОВ

При стрессе растения перераспределяют ресурсы между ростом, поддержанием жизнедеятельности и защитой.

Основные реакции:

1. **замедление клеточного деления и растяжения;**
2. **изменение соотношения роста корней и побегов;**
3. **снижение площади листовой поверхности;**
4. **перераспределение ассимилятов;**
5. **усиление синтеза защитных соединений;**
6. **изменение сроков развития.**

Пример у пшеницы: умеренный водный дефицит может способствовать увеличению относительной доли корневой системы, тогда как сильная засуха угнетает рост и корней, и надземных органов.

Основной вывод: стрессоустойчивость определяется не только интенсивностью защитных реакций, но и способностью растения поддерживать баланс между ростом, метаболизмом и защитой.

3. ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА (АФК)

Активные формы кислорода: понятие и основные виды

Активные формы кислорода (АФК, ROS) — химически реакционноспособные производные кислорода, образующиеся в клетках в результате метаболических процессов.

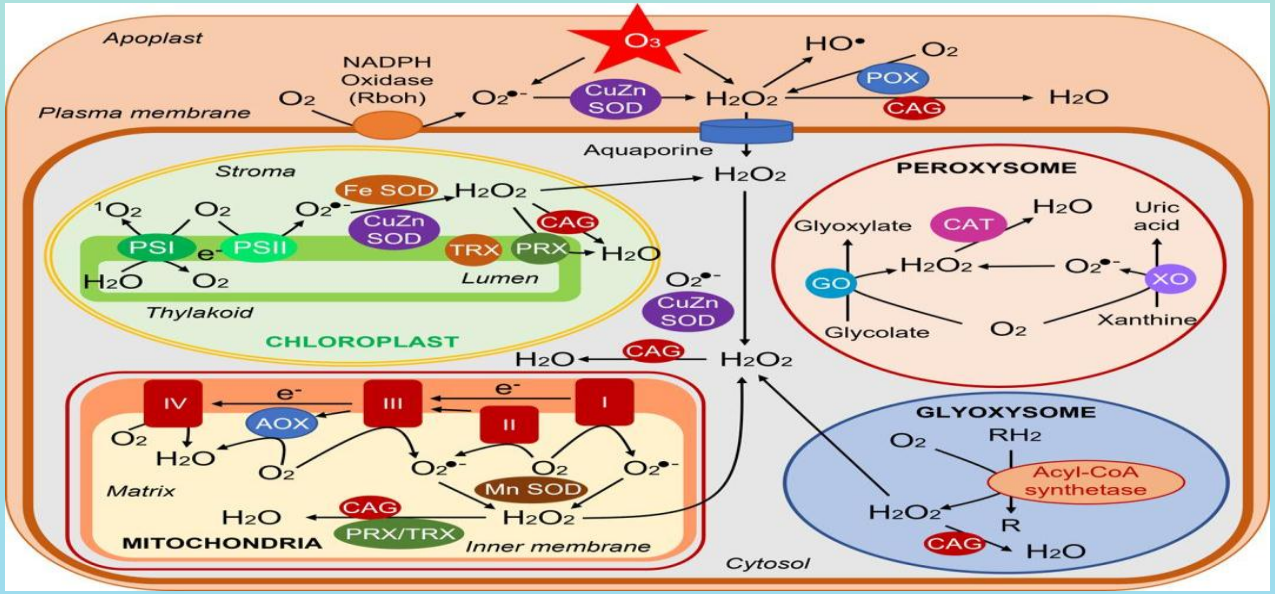
АФК образуются и в нормальных физиологических условиях. Стресс часто усиливает их образование и изменяет пространственно-временное распределение.

Основные АФК

АФК	Обозначение	Особенности
Супероксидный анион-радикал	$O_2^{\bullet -}$	Образуется при одноэлектронном восстановлении O_2
Пероксид водорода	H_2O_2	Относительно стабильная сигнальная молекула
Гидроксильный радикал	$^{\bullet}OH$	Чрезвычайно реакционноспособный радикал
Синглетный кислород	$^1O_2$	Возбуждённая форма кислорода, важная при фотострессе

ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ АФК В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ

Особенно важно: АФК образуются не только как побочные продукты метаболизма, но и целенаправленно в ходе сигнальных и защитных реакций.



Клеточная структура	Основные источники АФК
Хлоропласты	Фотосинтетическая электрон-транспортная цепь
Митохондрии	Дыхательная электрон-транспортная цепь
Пероксисомы	Оксидазные реакции, включая реакции фотодыхания
Плазматическая мембрана	NADPH-оксидазы семейства RBOH
Апопласт	Реакции с участием оксидаз и пероксидаз

МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

Основные превращения кислорода можно представить следующими реакциями.

1. Образование супероксида

$O^{2+} + e^{-} \longrightarrow O_2\{\bullet -\}$ \]

2. Дисмутация супероксида при участии SOD

\[$2O_2\{\bullet -\} + 2H^{+} \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$]

3. Образование гидроксильного радикала

В присутствии доступного двухвалентного железа возможна реакция Фентона:

\[$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{-} + \{\}^{\bullet}OH$ \]

4. Удаление пероксида водорода

Каталаза катализирует реакцию:

[$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$]

Эти реакции показывают, почему контроль образования АФК и доступности редокс-активных металлов важен для поддержания клеточного гомеостаза.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И ПОВРЕЖДЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ КОМПОНЕНТОВ

Окислительный стресс — состояние, при котором образование окислителей превышает способность клетки контролировать их уровень и последствия их действия, приводя к нарушению редокс-регуляции и повреждению клеточных компонентов.

Основные последствия:

1. **перекисное окисление мембранных липидов;**
2. **окислительная модификация белков;**
3. **повреждение ДНК и РНК;**
4. **нарушение работы ферментов;**
5. **снижение эффективности фотосинтеза;**
6. **гибель клеток при тяжёлом повреждении.**

Стрессор → усиленное образование АФК

Нарушение редокс-гомеостаза

Повреждение липидов

Окисление белков

Повреждение нуклеиновых кислот

ДВОЙСТВЕННАЯ РОЛЬ АФК: ПОВРЕЖДЕНИЕ И СИГНАЛИЗАЦИЯ

Сигнальная функция

АФК выполняют две взаимосвязанные функции.

1. **Активация защитных генов**
2. **Регуляция Ca^{2+}-сигнализации**
3. **Взаимодействие с MAPK-каскадами**
4. **Регуляция роста и развития**
5. **Участие в иммунных реакциях**

Повреждающая функция

- Окисление липидов
- Нарушение структуры белков
- Повреждение ДНК
- Нарушение фотосинтеза
- Клеточная гибель

Физиологический результат определяется концентрацией, локализацией, продолжительностью образования АФК и состоянием антиоксидантной системы.

Пример у пшеницы: при засухе или заражении ржавчинными грибами H_2O_2 может участвовать в передаче защитного сигнала, однако его избыточное накопление способно усиливать окислительное повреждение тканей.

Поддержание оптимального уровня активных форм кислорода является необходимым условием нормального функционирования растительной клетки. Это достигается благодаря антиоксидантной защитной системе, включающей ферментативные и неферментативные компоненты».

4. АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТНАЯ СИСТЕМА РАСТЕНИЙ. Антиоксидантная система: понятие и функции

Антиоксидантная защитная система — совокупность ферментативных и неферментативных компонентов, регулирующих уровень активных форм кислорода (АФК) и ограничивающих окислительные повреждения клеток.

Основные функции:

1. **Поддержание клеточного редокс-гомеостаза.**
2. **Удаление избытка $O_2\bullet^-$ и H_2O_2.**
3. **Защита мембран, белков и нуклеиновых кислот.**
4. **Регуляция редокс-зависимой клеточной сигнализации.**
5. **Повышение способности растений переносить стрессовые воздействия.**

Антиоксидантная система включает две взаимосвязанные группы компонентов:

Ферментативные антиоксиданты

SOD, CAT, APX, POD, GR и другие ферменты.

Неферментативные антиоксиданты

Аскорбат, глутатион, токоферолы, каротиноиды и фенольные соединения.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ: SOD, CAT, APX И POD

Фермент **Основная функция**

SOD — супероксиддисмутаза ревращает $O_2^{\bullet -}$ в H_2O_2 и O_2

CAT — каталаза - Разлагает H_2O_2 до H_2O и O_2

APX — аскорбатпероксидаза - Восстанавливает H_2O_2 с использованием аскорбата

POD — пероксидазы Используют H_2O_2 для окисления различных субстратов

GR — глутатионредуктаза - Восстанавливает окисленный глутатион (GSSG) до GSH

Основные реакции:

\[$O_2^{\bullet -}$ +2H^+ ⟹ {SOD}H_2O_2+O_2

\[$2H_2O_2$ ⟹ CAT $2H_2O + O_2$

Особенность: SOD обеспечивает первую линию защиты от супероксида.

CAT и APX участвуют в удалении образовавшегося H_2O_2.

Активность этих ферментов может повышаться при засухе, засолении, температурном стрессе и заражении патогенами.

АСКОРБАТ-ГЛУТАТИОНОВЫЙ ЦИКЛ

Аскорбат-глутатионовый цикл (цикл Асады–Халливелла) — важная система удаления H_2O_2 и поддержания восстановительного состояния клеток.

H_2O_2 + аскорбат (AsA)

APX: восстановление H_2O_2 до H_2O

Окисленные формы аскорбата (MDHA, DHA)

MDHAR / DHAR: регенерация аскорбата

GR + NADPH: восстановление GSSG до GSH

Основные компоненты цикла: APX, MDHAR, DHAR, GR, аскорбат (AsA), глутатион (GSH) и NADPH.

Биологическое значение: цикл обеспечивает удаление H_2O_2 с одновременной регенерацией восстановленных антиоксидантов. Восстановление DHA ферментом DHAR использует GSH, поэтому поддержание пула глутатиона особенно важно.

НЕФЕРМЕНТАТИВНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ

Неферментативные антиоксиданты защищают клеточные структуры от окислительного повреждения иучаствуют в регуляции редокс-состояния.

Антиоксидант	Основная функция
Аскорбиновая кислота	Восстановление окислителей, субстрат АРХ
Глутатион	Поддержание редокс-гомеостаза, регенерация аскорбата
Токоферолы	Защита мембранных липидов
Каротиноиды	Фотозащита, тушение синглетного кислорода
Флавоноиды и другие фенольные соединения	Антиоксидантная и защитная активность

АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА КАК ПОКАЗАТЕЛЬ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ

При оценке устойчивости растений используют комплекс физиолого-биохимических показателей.

Основные биомаркеры:

H_2O_2 и $O_2\bullet^-$ — показатели образования и накопления АФК.

MDA — показатель перекисного окисления липидов.

SOD, CAT, APX, POD — активность антиоксидантных ферментов.

AsA и GSH — состояние неферментативной антиоксидантной защиты.

Пример у пшеницы: устойчивые к засухе генотипы могут демонстрировать более эффективную регуляцию антиоксидантных ферментов, меньшую степень повреждения мембран и лучшее сохранение фотосинтетической активности.

При этом, высокая активность антиоксидантных ферментов сама по себе не доказывает устойчивость. Её необходимо оценивать совместно с ростом, водным состоянием, повреждением тканей и продуктивностью.

9. ОСМОТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ И ЗАЩИТНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

Осмотическая регуляция при стрессе

Осмотическая регуляция — процесс накопления или перераспределения осмотически активных веществ, позволяющий клеткам поддерживать водный потенциал и тургор при снижении доступности воды.

Основные механизмы:

Накопление совместимых органических осмолитов.

Регуляция содержания неорганических ионов.

Изменение транспорта воды через аквапорины.

Поддержание клеточного тургора.

Стабилизация белков и мембран.

Осмотическая регуляция особенно важна при засухе и засолении.

Засуха или засоление

Снижение водного потенциала внешней среды

Накопление осмотически активных веществ

Поддержание водного баланса и тургора