

Институт биологии – обособленное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра
«Карельский научный центр Российской академии наук»

На правах рукописи



НИЛОВА Ирина Александровна

**УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНЫМ
ВОЗДЕЙСТВИЯМ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ: ФИЗИОЛОГО-
БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

03.01.05 – «Физиология и биохимия растений»

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
доктор биологических наук,
член-корреспондент РАН
Титов Александр Федорович

Петрозаводск – 2019

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Физиолого-биохимические особенности реакций растений на действие высокой температуры	13
1.2. Молекулярно-генетические особенности реакций растений на действие высокой температуры	28
1.2.1. Роль стрессовых (шоковых) белков в формировании теплоустойчивости растений при высокотемпературных воздействиях	28
1.2.1.1. Белки теплового шока	28
1.2.1.2. Белки эндоплазматического ретикулума, входящие в систему контроля качества синтезируемого белка	35
1.3. Программируемая клеточная гибель (ПКГ) и ее роль в реакции растений на высокотемпературные воздействия	39
1.4. Стресс как реакция растений на действие высоких температур	45
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	50
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	58
3.1. Некоторые физиологические особенности реакций растений озимой пшеницы на высокотемпературные воздействия разной интенсивности	58
3.1.1. Теплоустойчивость клеток листьев	58
3.1.2. Рост и оводненность листьев	64
3.2. Некоторые биохимические особенности реакций растений озимой пшеницы на высокотемпературные воздействия разной интенсивности	71
3.2.1. Динамика активности в листьях супероксиддисмутазы (СОД)	71
3.2.2. Образование в листьях супероксид анион-радикала	73

3.2.3. Образование в листьях перекиси водорода	77
3.2.4. Динамика содержания в листьях малонового диальдегида (МДА)	79
3.3. Некоторые молекулярно-генетические особенности реакций растений озимой пшеницы на высокотемпературные воздействия разной интенсивности	82
3.3.1. Динамика содержания в листьях транскриптов генов <i>HSP</i>	82
3.3.2. Динамика содержания в листьях транскриптов генов системы контроля качества белка (<i>IRE1, BI-1</i>)	95
3.3.3. Динамика содержания в листьях транскриптов генов <i>BAX.2</i> и <i>MCAII</i> , кодирующих белки, участвующие в программируемой клеточной гибели	101
3.3.4. Фрагментация ДНК в клетках листьев	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	107
ВЫВОДЫ	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	115

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБК – абсцизовая кислота

АДФ – аденозиндифосфорная кислота

АОС – антиоксидантная система

АПО – аскорбатпероксидаза

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

АФК – активные формы кислорода

БТШ – белки теплового шока

ГБ – гиббереллины

ГР – глутатионредуктаза

КАТ – каталаза

МДА – малоновый диальдегид

нмБТШ – низкомолекулярные белки теплового шока

ПКГ – программируемая клеточная гибель

ПО – пероксидаза

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СОД – супероксиддисмутаза

ТФ – транскрипционный фактор

ФС – фотосистема

ЭР – эндоплазматический ретикулум

ЭР-стресс – стресс эндоплазматического ретикулума

ЭТЦ – электрон-транспортная цепь

ВАХ.2 – ВАХ-подобный проапоптотический белок

VI-1 (ВАХ inhibitor-1) – ВАХ ингибитор-1

BiP – binding immunoglobulin protein (белок, связывающий иммуноглобулины)

CDF1 – cell growth defect factor 1

CDPK – calcium-dependent protein kinase (протеинкиназа кальций-зависимая)

HSF – heat stress transcription factor (факторы теплового шока)

HSP – heat shock proteins (белки теплового шока)

IRE1 – inositol-requiring enzyme 1

МАРК – mitogen-activated protein kinase (митоген-активируемая протеинкиназа)

МСАII (metacaspase II) – метакаспаза II

NO – оксид азота

UPR – unfolded protein response (ответ на неупакованные белки)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Температура окружающей среды является одним из экологических факторов, оказывающих наиболее сильное влияние на жизнедеятельность растений и их продуктивность. Как недостаток, так и избыток тепла практически всегда негативно сказываются на растениях и нередко становятся причиной их гибели. В силу этого, изучению влияния неблагоприятных температур на растения, в том числе высоких, посвящено большое количество не только экспериментальных исследований, но и работ монографического характера (Александров, 1975, 1985; Лархер, 1978; Туманов 1979; Альтергот, 1981; Генкель, 1982; Удовенко, Гончарова, 1982; Веселов, 2001; Шакирова, 2001; Чиркова, 2002; Титов и др., 2006; Колупаев, Карпец, 2010; Войников, 2013; Lambers et al., 1998; Schulze et al., 2002; Larcher, 2003; Mosa et al., 2017 и др). Однако несмотря на значительный объем накопленных экспериментальных данных и наблюдений интерес исследователей к изучению особенностей и механизмов ответной реакции растений на действие высоких температур по-прежнему не ослабевает. Из многочисленных публикаций следует, что любые отклонения температуры окружающей среды от оптимальных для роста и развития значений вызывают у растений широкий спектр физиолого-биохимических и молекулярно-генетических изменений в их клетках и тканях, которые связаны или с адаптацией, или характеризуют появление различных нарушений и/или повреждений и развитие деструктивных процессов, приводящих в конечном итоге к гибели растений. Среди многих реакций растений в ответ на повышение температуры наиболее полно изучены особенности роста, дыхания и фотосинтеза, а также синтез стрессовых (шоковых) белков, изменения в мембранах и гормональной системе (Семихатова, 1974; Лархер, 1978; Пьянков, 1993; Веселов, 2001; Таланова, 2009; Титов, Таланова, 2009; Чиркова, 2002; Креславский, 2007; Шишова и др., 2008; Porter, Gawith, 1999; Atkin et al., 2004; Hatfield et al., 2011; Gupta et al., 2013; Hatfield, Prueger, 2015; Niu, Xiang, 2018). При этом отмечено, что значительная часть этих изменений носит

неспецифический (общий), а часть – специфический характер (присущий только растениям, испытывающим высокотемпературное воздействие) (Шакирова, 2001; Чиркова, 2002, Титов и др., 2006; Кузнецов, 2009; Mittler et al, 2012; Bahuguna, Jagadish, 2015; Wan, Jiang, 2016). Однако, как показывает анализ литературы, недостаточно изученными остаются особенности изменения физиологических, биохимических и молекулярно-генетических показателей в клетках и тканях растений при высокотемпературных воздействиях разной интенсивности. Вместе с тем многочисленные данные указывают на то, что характер и направленность изменения многих из этих показателей может существенным образом изменяться (как количественно, так и качественно) в зависимости от напряженности неблагоприятного фактора, что, вероятно, имеет важное, если не основное значение для процесса формирования устойчивости в этих условиях (Удовенко, 1979; Титов, 1989; Топчиева, 1994; Титов и др., 2006). Поэтому, исследования физиолого-биохимических и молекулярно-генетических показателей, характеризующих ответную реакцию растений на высокотемпературные воздействия разной интенсивности, проведенные на одном и том же объекте в строго контролируемых условиях внешней среды, позволят лучше понять механизмы, благодаря которым растения приобретают повышенную устойчивость и оказываются способными переносить без губительных последствий неблагоприятные условия.

Цель и задачи исследования. Цель работы состояла в изучении ряда физиолого-биохимических и молекулярно-генетических реакций растений озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., с. Московская 39) на высокотемпературные воздействия разной интенсивности.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Изучить динамику теплоустойчивости и провести анализ изменения некоторых других физиологических показателей (рост, оводненность) у растений озимой пшеницы, подвергнутых высокотемпературным воздействиям разной интенсивности.

- 2) Изучить изменения ряда биохимических показателей (активность супероксиддисмутазы, образование активных форм кислорода, накопление малонового диальдегида) в листьях растений озимой пшеницы, подвергнутых высокотемпературным воздействиям разной интенсивности.
- 3) Исследовать динамику содержания транскриптов генов *HSP70*, *BiP*, *HSP90*, *HSP16,9* и *HSP19*, кодирующих белки теплового шока, в листьях растений озимой пшеницы, подвергнутых высокотемпературным воздействиям разной интенсивности.
- 4) Исследовать динамику содержания транскриптов генов *IRE1*, *BI-1*, участвующих в развитии защитных реакций, связанных со стрессом эндоплазматического ретикулума, в листьях растений озимой пшеницы, подвергнутых высокотемпературным воздействиям разной интенсивности.
- 5) Изучить экспрессию генов *BAX.2* и *MCAII*, как возможных участников программируемой клеточной гибели, и установить наличие признаков программируемой клеточной гибели в листьях растений озимой пшеницы, подвергнутых высокотемпературным воздействиям разной интенсивности.

Основные положения, выносимые на защиту.

- 1) Ответные реакции растений озимой пшеницы, фиксируемые по ряду физиолого-биохимических и молекулярно-генетических показателей, изменяются не только количественно, но и качественно в зависимости от интенсивности и продолжительности высокотемпературного воздействия.
- 2) Высокие субповреждающие температуры, а также высокие повреждающие температуры, но только в начальный период их действия, вызывают у растений озимой пшеницы активацию экспрессии генов, кодирующих белки, выполняющие защитные функции. При этом динамика накопления транскриптов генов *HSP70* и *HSP90* при разных субповреждающих температурах (33°, 37°C) и повреждающей температуре (43°C) отличается только количественно, а различия в динамике накопления транскриптов генов *BiP*, *IRE1*, *BI-1* при температурах 33°, 37°, 43°C носят качественный характер.

- 3) Воздействие на растения озимой пшеницы высокой повреждающей температуры (43°C) приводит к нарушению ряда физиологических процессов (рост, водообмен) и подавлению активности гена *IRE1*, кодирующего белок IRE1, выполняющий защитные функции. Одновременно с этим усиливается экспрессия генов *BAH.2* и *MCAII*, кодирующих белки, участвующих в механизмах программируемой клеточной гибели. В клетках растений развиваются деструктивные процессы, их теплоустойчивость резко падает и в дальнейшем они погибают.

Научная новизна. Впервые проведено сравнительное изучение физиолого-биохимических и молекулярно-генетических особенностей реакции озимой пшеницы (*Triticum aestivum*, с. Московская 39) на высокотемпературные воздействия разной интенсивности и продолжительности. Впервые определены количественные и качественные различия в динамике формирования устойчивости листьев растений пшеницы, испытывающих воздействие температур от 29° до 45°C, а также установлено существование различий в образовании супероксид радикала и пероксида водорода, и в содержании малонового диальдегида в этих условиях. Впервые показано, что динамика накопления в листьях растений пшеницы транскриптов генов *HSP70* и *HSP90* изменяется в зависимости от интенсивности высокотемпературного воздействия только количественно, тогда как динамика накопления транскриптов генов *BiP*, *IRE1*, *BI-1*, *MCAII* меняется в этих условиях еще и качественно. Впервые описаны изменения в экспрессии генов *HSP19* и *BAH.2* в клетках листьев растений, находящихся в условиях обычной температуры и у растений, подвергнутых высокотемпературным воздействиям разной интенсивности.

Практическая значимость работы. Полученные результаты позволили выявить взаимосвязь между отдельными физиолого-биохимическими и молекулярно-генетическими процессами, происходящими в растениях озимой пшеницы с. Московская 39 при высокотемпературных воздействиях разной интенсивности, с одной стороны, и их теплоустойчивостью, с другой стороны.

Эти данные могут быть использованы в селекционно-генетическом процессе в качестве научной основы для осуществления целенаправленного отбора перспективных генотипов и создания новых сортов пшеницы, отличающихся высокой теплоустойчивостью. Помимо этого, результаты проведенных исследований могут быть использованы при чтении курсов и спецкурсов по физиологии растений и экологии растений для студентов эколого-биологических, биологических, агротехнических и сельскохозяйственных факультетов.

Личный вклад автора в проведенное исследование. Автор лично принимала участие в планировании экспериментов, в сборе, обработке и анализе экспериментальных данных, анализе литературных данных по теме работы. При непосредственном участии автора сформулированы выводы и основные положения диссертации, подготовлены и опубликованы научные работы (статьи и тезисы) по представленной теме.

Связь работы с плановыми исследованиями и научными программами. Исследования проводились с 2013 по 2018 гг. в соответствии с планами НИР Института биологии КарНЦ РАН по темам «Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы реакции растений на действие неблагоприятных температур и тяжелых металлов» (№ г.р. 012011664444), «Механизмы адаптации и особенности жизнедеятельности растений в условиях действия низких температур» (№ г.р. 01201358737), «Роль общих и специализированных механизмов в устойчивости растений к действию неблагоприятных температур» (№ г.р. АААА-А17-117022850044-2).

Апробация работы. Результаты научных исследований автора были представлены в виде устных и стендовых докладов на различных научных конференциях, симпозиумах и семинарах, как в России, так и за рубежом: на II Всероссийской научной интернет-конференции с международным участием «Ботаника и природное многообразие растительного мира» (Казань, 2014), VIII съезде Общества физиологов растений России и конференции «Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий» (Петрозаводск, 2015), III (XI) международной ботанической

конференции молодых ученых в Санкт-Петербурге (Санкт-Петербург, 2015), XI международном симпозиуме «Plant signaling and behavior» (Санкт-Петербург, 2016), годовом собрании Общества физиологов растений России и конференции «Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма» (Санкт-Петербург, 2016), II международном симпозиуме «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и международной научной школе «Роль активных форм кислорода в жизни растений» (Уфа, 2017), годовом собрании Общества физиологов растений России и научной конференции и школы молодых ученых «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты» (Судак, 2017), международной научной конференции «Young biologists science week 2017» (Петрозаводск, 2017), XXV международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2018), II международной научно-практической конференции «Клеточная биология и биотехнология растений» и школе молодых ученых «Биология растительной клетки: от теории к практике» (Минск, 2018).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 работ, в том числе 6 статей в журналах, включенных в перечень ВАК РФ.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 163 страницах, содержит 26 рисунка, 10 таблиц, включает в себя 500 литературных источников, в том числе 384 на иностранном языке. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания объекта и методов исследования, описания результатов и их обсуждения, заключения и списка литературы.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность своим учителям и наставникам: научному руководителю чл.-корр. РАН, д.б.н., профессору А.Ф. Титову, к.б.н. Л.В. Топчиевой, а также всем сотрудникам лаборатории экологической физиологии растений Института биологии КарНЦ РАН и особенно д.б.н. В.В. Талановой, д.б.н. Н.М. Казниной, к.б.н. Н.С. Репкиной и А.А. Игнатенко за всестороннюю помощь, консультации и рекомендации, сделанные в процессе проведения работы и при написании диссертации. Автор также выражает искреннюю признательность сотруднику лаборатории паразитологии

растений и животных Института биологии КарНЦ РАН к.б.н. В.В. Займль-Бухингер и сотруднику аналитической лаборатории Института леса КарНЦ РАН К.М. Никеровой за поддержку и ценные советы.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Физиолого-биохимические особенности реакций растений на действие высокой температуры

Физиологические реакции растений на действие высокой температуры

Температура является фактором физической природы, который постоянно действует на растения в естественных условиях и оказывает значительное влияние на все стороны их жизнедеятельности. Большинство физиологических процессов у растений происходят в температурном интервале от 0 до 40°C. Однако только при оптимальной температуре у растений в полном объеме реализуются генетически обусловленные возможности роста, развития и продуктивности (Levitt, 1980; Удовенко, Гончарова, 1982; Коровин, 1984; Чиркова, 2002; Larcher, 2003; Hatfield, Prueger, 2015). При температурах выше или ниже оптимума эти процессы замедляются или прекращаются, но активизируются процессы адаптации и/или повреждения (Александров, 1975, 1985; Дроздов и др., 1984; Коровин, 1984; Титов и др., 2006). Как показывают многочисленные исследования, для разных видов растений оптимальные значения температуры неодинаковы, например, для пшеницы эти температуры в зависимости от сорта примерно равны 13 – 22°C (Балагурова и др., 1994; Porter, Gawith, 1999), для ячменя 18 – 25°C (Mei, Song, 2010), капусты 18 – 22°C, брокколи 13 – 17°C, кукурузы 18 – 28°C (Hatfield, Prueger, 2015), сои 23 – 26°C (Hatfield et al., 2011).

Рост. Высокие температуры оказывают значительное влияние на рост растений (Гребинский, 1961; Леопольд, 1968; Лархер, 1978; Шевелуха, 1980; Коровин, 1984; Porter, Gawith, 1999; Hatfield et al., 2011; Gupta et al., 2013; Hatfield, Prueger, 2015). Температуры, превышающие оптимальные значения даже на несколько градусов, приводят к резкому торможению, а в некоторых случаях к полной остановке роста (Лархер, 1978; Шевелуха, 1980; Коровин, 1984; Чиркова, 2002; Фархутдинов и др., 2003), что, по-видимому, является неспецифической реакцией растений на действие неблагоприятных температур (Кудоярова и др., 2000; Чиркова, 2002). В целом рост растений происходит в пределах от 0 до 38°C

(Kemp, Blacklow, 1982; Schipp, Wilkins, 2008; Nagai, Makino, 2009; Savicka, Škute, 2012). Однако реакция на действие высоких температур у разных растений и даже отдельных органов одного растения неодинакова. Так, оптимальная температура для роста вегетативных органов у пшеницы составляет примерно 22 – 25°C, у кукурузы – 34°C, риса – 36°C (Hatfield et al., 2011). У пшеницы уже при 28°C рост листьев тормозится, а при 38°C полностью прекращается (Фархутдинов и др., 2003; Tahir et al., 2009; Iqbal et al., 2017). Рост корней растений также очень чувствителен к изменению температуры и при этом он имеет еще более узкий диапазон оптимальных температур по сравнению с надземными органами и частями растений (Радченко, 1966; Porter, Gawith, 1999; Титов, Таланова, 2011). Например, оптимальная температура для роста корней пшеницы не превышает 20°C (Porter, Gawith, 1999).

В практическом плане особо важны исследования, связанные с продуктивностью растений, т.е. с влиянием высоких температур на ростовые процессы. Поскольку рост растений очень чувствителен к действию высоких температур, то даже незначительное повышение среднегодовой температуры воздуха в результате глобального потепления климата, стало одной из основных причин снижения продуктивности растений в мире (Ortiz et al., 2008; Miraglia et al., 2009; Vita, Gerats, 2013). Важно отметить, что генеративные органы растений и элементы семенной продуктивности отличаются наиболее высокой чувствительностью к действию высоких температур: с повышением температуры увеличивается стерильность цветков, уменьшается их количество и число пыльников, замедляется скорость удлинения пыльцевых трубок и понижается процент прорастания пыльцы (Prasad et al., 2006; Dolferus et al., 2011; Fahad et al., 2015; 2016; 2017), а также снижается количество семян и их всхожесть (Prasad et al., 2006; Fahad et al., 2016).

Одной из причин замедления роста растений, находящихся в условиях неблагоприятной температуры, могут быть нарушения процессов деления клеток. Так, с повышением действующей на растения температуры, количество делящихся клеток резко сокращается (Smertenko et al., 1997; Centomani et al.,

2015), при температурах выше 40°C разрушается структура хромосом и деление клеток полностью прекращается (Zhang, 1997). Кроме этого, деления действие высоких температур оказывает значительное влияние на рост клеток растяжением (Веселова и др., 2003; Фархутдинов и др., 2003). Движущей силой растяжения клеток считается внутриклеточное тургорное давление (Гребинский, 1961; Полевой, Саламатова, 1991; Иванов, 2011). При действии высоких температур растение может испытывать дефицит воды и, соответственно, при этом происходит снижение внутриклеточного тургорного давления, что сильно замедляет рост клеток (Фархутдинов и др., 2003; Lewicka, Pietruszka, 2006; Pietruszka, Lewicka, 2007; Кудоярова и др., 2013). На рост растений влияют и изменения в содержании фитогормонов (Леопольд, 1968; Полевой, Саламатова, 1991; Иванов, 2011). Например, значительное повышение содержания ингибиторов роста (абсцизовой кислоты и этилена) в начальный момент действия высоких температур на фоне снижения содержания ростактивирующих гормонов (ауксинов, гиббереллинов, цитокинов) выступает одной из главных причин снижения темпов роста растений (Шакирова, 2001; Чиркова, 2002; Таланова, 2009; Титов, Таланова, 2009). К другим, не менее важным причинам торможения роста относятся нарушения в энергетических процессах – фотосинтезе и дыхании (Семихатова, 1974; Креславский, 2007; 2014). Температурный оптимум роста, как правило, не совпадает с оптимумом фотосинтеза и дыхания. Дыхание тормозится при гораздо более высоких температурах, чем рост и фотосинтез (см. ниже), поэтому в условиях действия температур выше 35°C расход органических веществ на дыхание превышает их образования при фотосинтезе, что может приводить не только к торможению роста, но и к уменьшению сухой массы растений (Климентова и др., 2006; Климов, 2008). Также на рост растений оказывает значительное влияние спектр синтезируемых белков. Так, при действии высоких температур увеличивается синтез одних белков, чаще всего стрессовых, и снижается синтез так называемых белков «домашнего хозяйства» (Rizhsky et al., 2002; Zhang et al., 2005). Все вышперечисленное может привести к снижению продуктивности растений, а иногда и к их гибели.

Фотосинтез. Фотосинтез является одним из самых чувствительных физиологических процессов к действию неблагоприятных температур (Креславский и др., 2007; 2014). Отклонения температуры за пределы оптимума для фотосинтеза приводят к его торможению (Тарчевский, 1971; Лайск, 1977; Berry, Björkman, 1980; Горышина, 1989; Чиркова, 2002; Larcher, 2003; Sharkey, 2005; Мокроносков и др., 2006; Креславский, 2007; 2014; Mathur et al., 2014; Irigoien et al., 2014; Niu, Xiang, 2018). Температурный оптимум этого процесса у C_4 -растений выше, чем у C_3 -растений, что связано с их происхождением и ареалом (Эдвардс, Уокер, 1986; Larcher, 2003; Yang et al., 2006; Yamori, Nikosaka, 2014). Оптимальные температуры для фотосинтеза у C_3 -растений варьируют в интервале от 15 до 35°C (Yamasaki et al., 2002), в то время как у C_4 -растений верхняя граница оптимума достигает 38°C (Crafts-Brandner, Salvucci, 2002). Прогрев листьев C_3 -растений при температурах выше 30 – 35°C, как правило, приводит к снижению скорости фотосинтеза (Al-Khatib, Paulsen, 1999; Кислюк и др., 2008; Nagai, Makino, 2009). Однако при высокой концентрации CO_2 в окружающей среде и низком содержании кислорода оптимум фотосинтеза у C_3 -растений смещается в сторону более высоких температур (Berry, Björkman, 1980; Irigoien et al., 2014). Таким образом, температурная кривая фотосинтеза не является однозначно определенной и стабильной функцией, и обнаруживает явные признаки адаптации к условиям произрастания растений (Лайск, 1977). Поэтому, если в эксперименте исключить закрытие устьиц при высоких температурах, то максимум кривой заметно сдвигается в область более высоких температур, хотя ее спад после максимума наступает очень резко. Характер перехода скорости фотосинтеза на новый стационарный уровень зависит от скорости изменения температуры. К примеру, при повышении или понижении температуры в интервале 16 – 26°C со скоростью 1 – 2°C в мин переход скорости фотосинтеза на новый стационарный уровень происходит двухфазно: начальная кратковременная активация сменяется депрессией и новой активацией, заканчивающейся установлением стационарного состояния (Тарчевский, 1971).

К основным причинам снижения интенсивности фотосинтеза при действии высоких температур на растения относят закрытие устьиц и, соответственно, резкое уменьшение поступления углекислого газа в клетки мезофилла листа (Чиркова, 2002), изменение их структуры (Бабенко и др., 2018), а также ультраструктуры хлоропластов (Smillie et al., 1978). В таких условиях формируются хлоропласты с измененной формой и крупными, удлинёнными гранами (Smillie et al., 1978; Кислюк и др., 2008). Под влиянием высоких температур в хлоропластах снижается содержание хлорофилла *a* и хлорофилла *b* (Khan et al., 2017; Kohila, Gomathi, 2018), а также их предшественников и ферментов их синтеза (Tewari, Tripathy, 1998; Mathur et al., 2014). Одновременно с этим увеличивается текучесть тилакоидных мембран (в которых предположительно локализованы теплосенсоры), происходит распад отдельных белков в коровом комплексе мембран и в целом нарушается работа фотосистемы (ФС) II (Pastenes, Horton, 1996; Komayama et al., 2007; Креславский и др., 2007; 2014; Allakhverdiev, 2008; Yamamoto et al., 2008; Yoshioka et al., 2016), наиболее чувствительным звеном к нагреванию которой является марганец-содержащий кислород-выделяющий комплекс (Креславский и др., 2014). При температурах, не превышающих 35°C, эти изменения обратимы, тогда как при температурах выше 45°C они, как правило, приобретают необратимый характер (Pastenes, Horton, 1996; Yamane et al., 1998). Повышенные температуры негативно влияют на обе фотосистемы, но в целом ФС I гораздо устойчивее к действию высоких температур и других неблагоприятных факторов среды, чем ФС II (Berry, Björkman, 1980; Moustaka et al., 2018). Более того, хотя поток электронов от ФС II к ФС I при умеренно высоких температурах снижается, но в то же время при этом активизируется циклический транспорт электронов в ФС I (Bukhov et al., 1999; Agrawal et al., 2016). Важно, что под влиянием высокотемпературных воздействий электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) хлоропластов разобщается, что является одной из главных причин усиленной генерации активных форм кислорода (АФК) (Asthir, 2015). Существенно возросшая концентрация пероксида водорода, в свою очередь, является одной из причин инактивации ряда ферментов цикла Кальвина,

в частности, фруктозо-1,6-дифосфатазы и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (Charles, Halliwell, 1981; Takeda et al., 1995; Креславский и др., 2007). Температуры выше 30°C вызывают снижение активности фермента рибулозобисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (Kobza, Edwards, 1987; Law, Crafts-Brandner, 1999), ключевого фермента ассимиляции углекислого газа у C₃-растений. Кроме того, с повышением температуры у C₃-растений увеличивается оксигеназная активность этого фермента, что также ведет к снижению нетто-фотосинтеза (Berry, Björkman, 1980).

Поскольку продуктивность растений тесно связана с процессами обмена, в т.ч. с фотосинтезом, то любые структурные и функциональные нарушения фотосинтетического аппарата, вызванные действием неблагоприятных факторов внешней среды, отрицательно сказываются на продуктивности. Если же учесть, что транспорт ассимилятов у большинства культур даже более чувствителен к температуре, чем фотосинтез (Удовенко, Гончарова, 1982; Табаленкова, Головки, 2010), то становится понятным насколько сильно на формировании урожая сельскохозяйственных культур сказываются нарушения фотосинтеза и экспорта фотосинтетических продуктов из листьев в другие органы растений.

Дыхание. Высокие температуры в значительной степени влияют и на дыхание растений (Джеймс, 1956; Семихатова, 1974; 2012; Головки, 1999; Atkin et al., 2007; 2015). Температурный оптимум для дыхания обычно выше, чем для других физиологических процессов и находится в пределах от 35 до 55°C (Семихатова, 1974; Головки, 1999; Atkin et al., 2004). Действие температур, превышающих оптимум роста, приводит к повышению интенсивности дыхания, что связано с расходом энергии на процессы адаптации (Чиркова, 2002; Talanova et al., 1983; Hüve et al., 2011). В целом интенсивность дыхания при температурах от 10 до 25°C подчиняется правилу Вант-Гоффа: увеличивается примерно в 1,5-2 раза при повышении температуры на 10°C. Однако интенсивность дыхания при температурах выше 35°C может увеличиваться даже в 3-4 раза (Джеймс, 1956; Семихатова, 1974; 2012; Головки, 1999; Чиркова, 2002; Atkin, Tjoelker, 2003; Atkin et al., 2004; Kruse et al., 2011). Примером такой зависимости является увеличение

интенсивности дыхания примерно в 2 раза у растений, произрастающих в зоне влажных тропических лесов, по сравнению с растениями, произрастающими на территории арктической тундры (Atkin et al., 2015). Однако характер температурной кривой дыхания растений также во многом зависит от продолжительности температурного воздействия. При коротких (не более 1 ч) воздействиях интенсивность дыхания растений возрастает даже при температурах, приводящих к гибели растений. В отличие от этого, при более длительных высокотемпературных воздействиях (2 – 6 ч) после первоначального повышения скорость дыхания снижается (Джеймс, 1956; Семихатова, 1974; 2012; Головкин, 1999). Следует отметить, что интенсивность дыхания во многом зависит от видовых и сортовых характеристик растений. Так, некоторые виды растений (например, *Plantago lanceolata* L., *Festuca ovina* L. и др.) и отдельные устойчивые сорта пшеницы и риса обладают респираторным гомеостазом (respiratory homeostasis), т.е. скорость дыхания у таких растений с повышением температуры не изменяется или изменяется слабо (Kurimoto et al., 2004; Atkin et al., 2007; Almeselmani et al., 2012). Это можно рассматривать как особый адаптивный механизм. Так, у растений, выращенных при повышенных температурах, происходит адаптация дыхательного процесса, и в ответ на действие экстремально высоких температур интенсивность их дыхания возрастает гораздо в меньшей степени, чем у растений, выращенных при оптимальных или низких температурах (Tjoelker et al., 1999; Atkin et al., 2007).

Повышение скорости дыхания при действии высоких температур приводит к тому, что расход органических веществ на дыхание превышает их образование при фотосинтезе (Климентова и др., 2006; Imprà et al., 2018). Вследствие этого при длительном действии высоких температур происходит истощение дыхательных субстратов, главным образом углеводов, что ограничивает дыхание (Atkin et al., 2005; Sicher, 2015) и также является причиной снижения количества вырабатываемой аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) (Семихатова, 1974; Гармаш, 2016). Другой причиной снижения скорости дыхания при действии высоких температур являются повреждение митохондрий и нарушение

активности и согласованности ферментативных реакций (Yamori et al., 2014). В целом митохондрии достаточно устойчивы к действию высоких температур, даже при 40°C они не повреждаются, сохраняют округлую форму или приобретают овальную, в них отмечены многочисленно развитые кристы, что свидетельствует о возрастании синтеза АТФ (Семихатова, 1974; 2012; Prasad et al., 2008; Бабенко и др., 2018). Однако действие температур, превышающих 45 – 50°C, приводит к набуханию и разрушению мембран митохондрий (Thebud, Santarius, 1982). Одной из наиболее важных причин снижения интенсивности дыхания является инактивация ферментов, участвующих в дыхании, что происходит при превышении оптимальных для действия этих ферментов температур (Семихатова, 1974, Головкин, 1999).

Таким образом, повышение интенсивности дыхания в начальный период действия высоких температур направлено на удовлетворение возросших энергетических затрат растений, связанных с их адаптацией к новым условиям среды. Вместе с тем это ведет к истощению запаса веществ, необходимых для нормального функционирования растений, что может привести к серьезным нарушениям в обмене веществ, повреждению и даже гибели растений.

Водный обмен. Действие неблагоприятных факторов оказывает сильное влияние на водный режим растений (Алексеев, 1969; Жолкевич и др., 1989; Кудоярова и др., 2000; Хохлова, Бабужина, 2006; Хохлова, Бочкарева, 2009; Кудоярова и др., 2013). Несмотря на то, что с повышением температуры испарение воды листьями увеличивается, при достаточной влажности почвы растения стремятся стабилизировать содержание воды в их тканях, поддерживая его на уровне 70-90% (Коровин, 1984; Кудоярова и др., 2000; 2013; 2014). Поэтому даже увеличение транспирации в 3-4 раза приводит к снижению оводненности тканей растений не более чем на 1% (Кудоярова и др., 2000). Тем не менее, в начальный период действия умеренно высоких температур, не превышающих 38°C, несколько снижается водоудерживающая способность растений, при этом если влажность почвы поддерживается на высоком уровне, то устьичная проводимость увеличивается (Кудоярова и др., 2007; 2014),

усиливается транспирация, однако на этом фоне возрастает поглощение воды корнями (Жолкевич и др., 1989; Law, Crafts-Brandner, 1999; Иванов, 2006; Mainali et al., 2014; Khan et al., 2017). При более длительных и интенсивных высокотемпературных воздействиях (38 – 42°C и выше) водоудерживающая способность растений увеличивается, а устьичная проводимость и транспирация, наоборот, снижаются (Jones, 1998; Икконен и др., 2012; Французова и др., 2013).

Серьезные потери воды растениями обычно происходят при действии слишком интенсивных или длительных высокотемпературных воздействий. Водный дефицит у растений развивается по нескольким причинам. Во-первых, вследствие увеличения скорости транспирации (Tsukaguchi et al., 2003; Zyalalov, 2004; Fahad et al., 2017). Поэтому в наиболее жаркое время суток устьица, как правило, закрыты, и устьичная транспирация резко снижена (Zyalalov, 2004; Иванов, 2006). В этом случае испарение воды и охлаждение листьев идет за счет кутикулярной транспирации (Schreiber, 2001). Во-вторых, водный дефицит развивается при повреждении корней (Giri et al., 2017). При действии высоких температур для поддержания оводненности тканей на необходимом для растения уровне увеличивается гидравлическая проводимость корней (Иванов, 2006; Кудоярова, 2013). Однако корневая система, как уже отмечалось, весьма чувствительна к высоким температурам (Ferris et al., 1998; Porter, Gawith, 1999). С повышением температуры уменьшается количество корней, их масса и длина и, соответственно, сокращается подача воды в надземные части растения (Reynolds et al., 2007; Wahid, Close 2007). Нарушение водного обмена и потеря воды при неблагоприятных температурах зачастую приводит не только к снижению темпов роста и развития растений, но и к их повреждению (Prasad et al., 2008; Кузнецов, 2009).

Минеральное питание. Как правило, отклонения температуры окружающей среды от оптимальной для роста растений влекут за собой значительные изменения в поглощении минеральных веществ из почвы (Коровин, 1972; Гамалей, 2004; Гармаш, 2004). Максимальная скорость поглощения воды и растворенных в ней веществ приходится на диапазон 35 – 40°C (Mainali et al.,

2014). Однако максимальная скорость транспорта минеральных веществ от корней к надземным органам наблюдается при температурах от 28 до 38°C. Это связано с тем, что именно в этом диапазоне, как уже было сказано выше, усиливается транспирация растений (Кудоярова и др., 2007; Кудоярова и др., 2014), являющаяся главной движущей силой передвижения минеральных и органические веществ между отдельными органами и тканями растений (Жолкевич, 2001; Zyalalov, 2004; Высоцкая и др., 2014). Более того, поскольку растяжение клеток растений напрямую зависит от поступления воды и растворенных в ней минеральных веществ (Кудоярова и др., 2013), оптимальные температуры для плазмодесменного транспорта совпадают с оптимумом роста растений и находятся в промежутке 20 – 25°C (Гамалей, 2004).

Температуры 38 – 42°C и выше приводят к снижению транспирации, а следовательно, и к снижению скорости транспорта элементов минерального питания, синтезируемых в корнях, к органам надземной части растений (Jones, 1998; Жолкевич, 2001; Zyalalov, 2004; Икконен и др., 2012; Французова и др., 2013). Действие высоких температур вызывает повреждение корней, что является еще одной причиной замедления или полного прекращения процесса поглощения (Bassirirad, 2000; Reynolds et al., 2007; Wahid, Close 2007; Giri et al., 2013; 2017). У теплолюбивых растений повреждение корней уже при температурах 35°C приводит к снижению поступления в растения железа и таких важных макроэлементов, как азот, фосфор и калий (Giri et al., 2013; 2017). Кроме того, действие высоких температур ограничивает поступление и транспорт необходимых химических элементов по растению вследствие снижения активности белков, участвующих в их транспорте (Giri et al., 2013; 2017). Отмечено также, что действие высоких температур приводит к снижению поглощения азота у сои и ячменя и снижению их продуктивности (Цехмейструк и др., 2016; Хоконова, Терентьев, 2017).

Таким образом, несмотря на малочисленность данных о влиянии высоких температур на минеральное питание растений, очевидно, что при слишком интенсивном и/или продолжительном высокотемпературном воздействии

поглощение большинства наиболее важных макро- и микроэлементов снижается, а их недостаток в растении негативно отражается на всех других физиологических процессах (Дроздов, Курец, 2003; Битюцкий, 2005).

Биохимические реакции растений на действие высокой температуры

К числу характерных изменений в клетке при воздействии высоких температур относятся: изменения в мембранных структурах и цитоскелете, ремоделирование хроматина, изменение конформации белков, нарушение их синтеза и усиление распада, изменение скорости ионных потоков и различных биохимических реакций, накопление сигнальных молекул различной природы, образование АФК, активизация антиоксидантной системы (АОС) и т. д. (Тарчевский, 2001; Tuteja, Sopory, 2008; Колупаев, Карпец, 2010; Grover et al., 2013; Hasanuzzaman et al., 2013).

Мембранные липиды. Общеизвестно, что поддержание целостности и текучести мембран имеет фундаментальное значение для выживания растений в условиях действия высоких или низких температур (Levitt 1980; Sakai, Larcher 1987; Wallis, Browse 2002). Как известно, под влиянием высокой температуры физические свойства мембранных липидов изменяются, и это приводит к увеличению их текучести (Horváth et al., 1998; Falcone et al, 2004; Los, Murata, 2004; Königshofer et al., 2008). Поэтому устойчивые к действию высоких температур растения и растения, акклиматизированные к повышенной, но физиологической температуре роста, часто обладают значительно более высоким содержанием насыщенных жирных кислот в липидах мембран по сравнению с чувствительными и неакклиматизированными растениями (Saidi et al., 2010; Niu, Xiang, 2018). В свою очередь, состояние липидного бислоя мембран влияет на активность мембраносвязанных белков, представленных, в частности, различными транспортерами, ионными каналами, ассоциированными с рецепторами протеинкиназами (Ruelland, Zachowski, 2010; Digel, 2011) и сенсорными белками (Horváth et al., 1998; McClung, Davis, 2010; Cybulski, de Mendoza, 2011).

Ионы кальция. Вследствие действия высоких температур перестройками липидного бислоя мембран способны вызывать поступление ионов кальция из межклеточного пространства и эндоплазматического ретикулума (ЭР) (внутриклеточного депо кальция) в цитоплазму. При этом повышение концентрации ионов кальция в цитоплазме (приблизительно в 2-4 раза по сравнению с обычными условиями) происходит очень быстро, например, в цитоплазме клеток *Arabidopsis thaliana* L. или *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. в течение 3-5 мин от начала повышения температуры (Saidi et al., 2009; Finka et al., 2012; Gao et al., 2012). Но через несколько минут уровень кальция в цитозоле начинает снижаться, даже если высокая температура продолжает действовать (Saidi et al., 2009; Finka et al., 2012). Предполагается, что продолжительность поступления ионов кальция внутрь клетки в течение первых минут после повышения температуры определяет ее ответ на высокотемпературные воздействия (Reddy et al., 2011; Wu et al., 2012; Рихванов и др., 2014; Lin et al., 2014): кратковременное поступление ионов кальция в клетки приводит к синтезу белков теплового шока (heat shock proteins – HSP) и, следовательно, к повышению теплоустойчивости клеток, а длительное поступление ионов кальция – к их гибели (Saidi et al., 2009; Рихванов и др., 2014). Следует отметить, что повышение уровня кальция в цитоплазме приводит к активации кальций-связывающих белков (кальмодулина и кальций-зависимых протеинкиназ (calcium-dependent protein kinase – CDPK) (Sangwan et al., 2002; Mittler et al., 2012; Рихванов и др., 2014). CDPK, в свою очередь, способны взаимодействовать с митоген-активируемыми протеинкиназами (mitogen-activated protein kinases – MAPK) (Sangwan et al., 2002; Mittler et al., 2012). MAPK и кальмодулин – это участники каскада реакций, конечным результатом которых является активация транскрипционных факторов (ТФ), а затем синтез шоковых белков (Потехина, Надеждина, 2002; Link et al., 2002; Ranty et al., 2006).

Активные формы кислорода. Действие неблагоприятных факторов окружающей среды приводит к усилению образования АФК в клетках и тканях растений (Колупаев, Карпец, 2010; Креславский и др., 2012; Шарова, 2016).

Основными причинами генерации АФК считается разобщение электрон-транспортной цепи в хлоропластах и митохондриях (Neill et al., 2002; Moriguchi, Schroeder, 2004; Ślesak, 2007; Колупаев, Карпец, 2009; Sharma et al., 2012). Помимо этого, образование АФК происходит в пероксисомах, цитозоле и апопласте (Полесская, 2007). Другим механизмом усиленного накопления АФК является кальций-зависимая активация АФК-генерирующего фермента НАДФН-оксидазы плазматической мембраны (Колупаев, Карпец, 2010; Chou et al., 2012).

Умеренная генерация АФК в клетках растений, вызванная повышением температуры окружающей среды, приводит к запуску защитных механизмов. АФК влияют на уровень экспрессии генов, кодирующих стрессовые белки, и регулируют активность ТФ (Apeal, Hirt, 2004). Было показано, что при воздействии высокой температуры пероксид водорода, образующийся у *Arabidopsis thaliana*, участвует в активации факторов теплового шока (heat shock factors – HSF) класса А (Davletova et al., 2005; Miller, Mittler, 2006; Kotak et al., 2007). Обработка растений H_2O_2 , также приводила к накоплению мРНК белков теплового шока (БТШ) или heat shock protein (HSP) – *HSP17,6*, *HSP18,2* и двух цитозольных аскорбатпероксидаз – *APX1* и *APX2*. Однако в присутствии аскорбиновой кислоты или ингибитора накопления АФК – DPI (diphenyleneiodonium chloride) индукция синтеза этих генов резко снижалась (Volkov et al., 2006). Интересно, что незначительное повышение концентрации продуктов окислительных процессов при высокотемпературном воздействии может также является триггером для последующей активации защитных механизмов растения (Wang et al., 2014). Было высказано предположение, что образующиеся при высокотемпературном воздействии продукты перекисного окисления переключают генном на новый режим экспрессии (Курганова, Веселов, 1999). Например, оксипирины индуцируют экспрессию генов, кодирующих фосфатазы, киназы и ТФ (Thoma et al., 2003; Loeffler et al., 2005; Grun et al., 2007). Тем не менее, АФК являются основной причиной повреждения растений, так как участвуют в процессах окисления мембранных структур. При более интенсивном высокотемпературном воздействии уровень АФК становится еще выше. В этом случае происходит

необратимое повреждение мембран, накапливаются продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Kong et al., 2016). ПОЛ обычно достигает критического уровня при температурах 40 – 45°C (Khan et al., 2017). Накопление продуктов ПОЛ, в том числе и малоновый диальдегид (МДА), являются следствием разрушения мембранных структур. Продукты ПОЛ могут вызывать денатурацию белков и нуклеиновых кислот (Gill, Tuteja, 2010). Вследствие этого накапливаются токсичные для клетки продукты окисления, такие, как оксипирины и окисленные пептиды (Chmielowska-Bak et al., 2015). По некоторым предположениям, накопление МДА наряду с усиленной генерацией перексид водорода является одним из важных механизмов процесса старения растений, а действие высоких температур приводит к его ускорению (Sung, Jeng, 1994).

Антиоксидантные ферменты. Описанные выше биохимические изменения в растениях при действии высоких температур, при условии, если интенсивность воздействий не очень высока, запускают каскад реакций, приводящих в конечном итоге к активации механизмов устойчивости растений. К таким механизмам, в частности, можно отнести изменения состояния активности АОС. Однако имеющиеся данные, например, касающиеся активности разных антиоксидантных ферментов растений при действии высоких температур неоднозначны. У растений *Poa pratensis* L. через 1 – 21 сут действия температур (38/30°C день/ночь) активизируется супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза (КАТ), тогда как при более длительных воздействиях 21 – 28 сут активность этих ферментов, наоборот, снижается, но активизируются пероксидазы (ПО). У чечевицы температуры в диапазоне от 30 до 40°C приводят к активизации КАТ, СОД и аскорбатпероксидазы, а более высокие температуры (40 – 50°C) снижают их активность. Активность ПО и глутатионредуктазы, напротив, снижается при действии всех исследуемых температур (Chakraborty, Pradhan, 2011). У ячменя температуры в диапазоне от 0 до 40°C, действующие в течение 2 дней, в меньшей степени влияли на активность СОД, чем на активность КАТ. При температурах от 15 до 35°C наблюдалась максимальная активность КАТ, тогда как при температурах выше или ниже этих значений активность фермента снижалась

(Mei, Song, 2010). Изучение 4 генотипов растений маша показало, что в ответ на действие высоких температур ($30^{\circ}\text{C}\times 24\text{ ч} \rightarrow 50^{\circ}\text{C}\times 2\text{ ч}$ или $30^{\circ}\text{C}\times 24\text{ ч} \rightarrow 40^{\circ}\text{C}\times 1\text{ ч} \rightarrow 50^{\circ}\text{C}\times 2\text{ ч}$) активность СОД, ПО и КАТ может как снижаться, так и повышаться в зависимости от чувствительности генотипа растений к высокой температуре. В целом у устойчивых растений активность этих ферментов выше, чем у чувствительных (Mansoor, Naqvi, 2013). У пшеницы в ответ на действие высоких температур чаще наблюдается повышение активности основных ферментов АОС (СОД, КАТ, ПО) (Badawi et al., 2007; Kumar et al., 2012; Balla et al., 2013; Gupta et al., 2013; Ibrahim et al., 2013; Caverzan et al., 2016). Тем не менее, в литературе есть данные, свидетельствующие о том, что повышение температуры окружающей среды (от 25 до 40°C) в период налива зерна приводит к снижению в листьях активности этих ферментов (Liu et al., 2006). Уменьшение их активности при действии высоких температур может указывать на то, что эти растения являются чувствительными к высокотемпературному воздействию (Almeselmani et al., 2009). Необходимо отметить, что в целом ответ АОС на неблагоприятные воздействия зависит от исходного уровня активности ферментов АОС, который, в свою очередь, определяется физиологическим состоянием растения (Janda et al., 2003; Полесская, 2007).

Обобщая все вышеизложенное в разделе 1.1 можно заключить, что высокотемпературные воздействия приводят к значительным изменениям в физиологических и биохимических процессах у растений. Эти изменения могут являться частью защитных реакций или быть проявлением повреждения растений.

1.2. Молекулярно-генетические особенности реакций растений на действие высокой температуры

1.2.1. Роль стрессовых (шоковых) белков в формировании теплоустойчивости растений при высокотемпературных воздействиях

1.2.1.1. Белки теплового шока

Повышение температуры окружающей среды вызывает не только физиолого-биохимические, но и серьезные молекулярно-генетические изменения, главным из которых, очевидно, является репрограммирование генома клеток, в результате которого индуцируется и/или увеличивается синтез одних белков (чаще всего стрессовых) и снижается синтез других белков (рис. 1). В настоящее время считается, что синтез стрессовых белков играет важную, возможно, ключевую роль в формировании у растений повышенной теплоустойчивости.

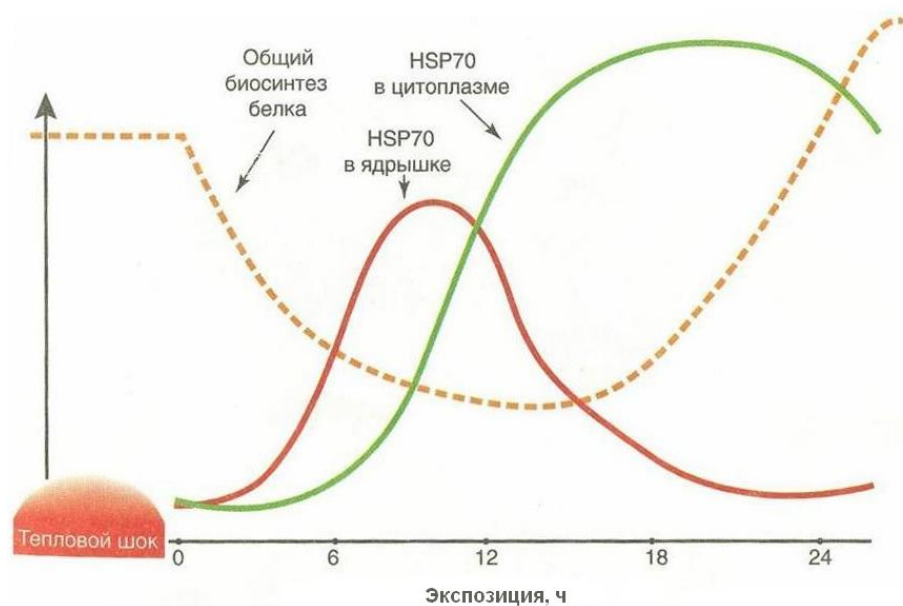


Рис. 1. Изменения синтеза белка в клетках живых организмов в ответ на действие высоких температур (по: Малышев, 2012).

Транскрипционные факторы. Активизация экспрессии генов, ответственных за синтез белков теплового шока (HSP), является одной из первых неспецифических реакций растений на действие неблагоприятных температур (Чиркова, 2002). В активации транскрипции генов HSP участвуют различные

сигнальные молекулы (ионы кальция, АФК и др.) и ТФ. Известно, что в промоторе генов HSP находится консервативная последовательность -5'-aGAAg-3', получившая название «элемент теплового шока». Транскрипционные факторы теплового шока (HSF) взаимодействуют с этими элементами и тем самым активируют синтез HSP (Baniwal et al., 2004; Kotak, et al., 2007; Косаковская, 2008; Xue et al., 2014 a). Кроме того, элементы теплового шока обнаружены и в промоторах генов, кодирующих фермент аскорбатпероксидазу (APX1, APX2) и ТФ – zinc finger of arabidopsis thaliana 12 (ZAT12) (Mittler, Zilinskas, 1992; Storozhenko et al., 1998; Miller, Mittler, 2006). Можно предположить, что HSF регулируют транскрипционную активность не только генов HSP, но и других белков (ферментов), участвующих в защитных реакциях растительных клеток.

Растения имеют более 20 HSF (Baniwal et al., 2004; von Koskull-Döring et al., 2007), которые относятся к нескольким классам (А, В и С) (Qu et al., 2013). Предполагается, что HSFA1 (Heat stress transcription factor A - 1) является одним из главных регуляторов ответа клеток растений на высокотемпературное воздействие. Было показано, что HSFA1 регулирует экспрессию примерно 65% индуцируемых теплом генов у *A. thaliana* (Liu et al., 2011). Существенно, что изменения в экспрессии различных HSF в клетках растений при действии высоких температур зависят от продолжительности температурного воздействия. Например, в начальный период (1,5 – 5 ч) воздействия высокой температуры у пшеницы усиливается экспрессия генов *HSFA2*, *A4*, *A5*, *A6* и *A7*, в то время как экспрессия *HSFA1*, *A3*, *A8*, наоборот, снижается (Xue et al., 2014 b).

Белки теплового шока. Многие HSP функционируют как молекулярные шапероны, т.е. участвуют в упаковке новых белков и деградации и/или восстановлении поврежденных белков. Кроме того, HSP являются компонентами системы рецепции повышенной температуры. В отсутствие стрессового воздействия HSP (HSP70 и HSP90) связаны с HSF. Согласно классической схеме восприятия и передачи высокотемпературного воздействия, денатурированные белки, появившиеся в клетке в большом количестве при повышении температуры окружающей среды, взаимодействуют с комплексом HSP70/HSP90/HSF. В

результате HSF освобождаются и активируют экспрессию различных HSP (Yamada, 2007; Шишова и др., 2008; Kadota, Shirasu, 2012).

В зависимости от молекулярной массы HSP разделяются на 5 групп: HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 и низкомолекулярных HSP (sHSP) (Al-Whaibi, 2011). Эти белки сосредоточены в разных компартментах клеток (цитозоле, митохондриях, хлоропластах, ЭР) и выполняют различные функции как в условиях температурного стресса, так и в обычных условиях (Zhang et al., 2015).

HSP70. В настоящее время самым изученным семейством является семейство HSP с молекулярной массой 70 кДа. HSP70 – большая группа белков, присущая почти всем живым организмам (Boorstein et al., 1994; Usman et al., 2014). HSP70 является основным молекулярным шапероном, играющим ведущую роль в защите от большого количества видов стрессоров и в восстановлении клеточного гомеостаза (Ray et al., 2016). Интересно, что белки этого семейства благодаря своей 3-доменной структуре (АТФазный N-домен, гидролизующий АТФ, субстратный S-домен, связывающийся с белками и С-домен, образующий «крышку» для субстратного домена) образуют единый АТФазный цикл, необходимый для присоединения и отсоединения белка-клиента (Малышев, 2012). В зависимости от того, с какими кошаперонами и шаперонами взаимодействует АТФазный цикл HSP70, он может обеспечивать фолдинг, рефолдинг или деградацию других белков, т.е. благодаря множеству кошаперонов, работающих совместно с HSP70, и нескольким сложным системам переключения, функции HSP70 могут меняться (Малышев, 2012). Так, в одних случаях АТФазный цикл HSP70 предотвращает агрегацию вновь синтезируемых полипептидов и частично денатурированных белковых молекул, в других случаях участвует в протеолитической деградации необратимо поврежденных белков и их транспорте к лизосомам и протеасомам (Колупаев, Карпец, 2010; Малышев, 2012). Функции HSP70 также могут зависеть и от их локализации в клетке. Так, в полости ЭР располагается трансмембранный шаперон HSP70 – BiP (binding immunoglobulin protein) – обязательный компонент системы контроля качества белка (Iwata, Koizumi, 2012). У растений перца цитоплазматический

HSP70 (CaHSP70-1) участвует в передаче сигнала о стрессовом воздействии и соответственно в формировании ответа на высокотемпературный стресс (Guo et al., 2014). У риса в условиях высокотемпературного стресса пластидный HSP70 (HSP70CP1) необходим для развития хлоропластов (Kim, An, 2013), а митохондриальный mtHSP70 подавляет развитие программируемой клеточной гибели (ПКГ) благодаря способности регулировать митохондриальный мембранный потенциал и ингибировать накопление АФК (Qi et al., 2011). По-видимому, благодаря перечисленным функциям эти белки защищают растительные клетки от неблагоприятного воздействия высоких температур (Al-Whaibi, 2011) и от индуцированного ими окислительного повреждения (Scarpeci et al., 2008; Montero-Barrientos et al., 2010).

HSP90. Еще одной важной группой HSP является семейство HSP с молекулярной массой 90 кДа. Содержание в клетке HSP90 даже в отсутствии стрессового воздействия относительно велико – 1-2% от суммы всех цитозольных белков (Козеко, 2010; Usman et al., 2014), что указывает на их значительную роль в поддержании нормальной жизнедеятельности эукариотических клеток. Белки локализованы в различных структурах клетки. При этом, даже находясь в одной органелле, они имеют большое количество различных изоформ, характеризующихся неодинаковой функциональной активностью. Например, в цитозоле клеток у растений *A. thaliana* изоформы AtHSP90.1 и AtHSP90.3 показывают разную шаперонную активность: у AtHSP90.3 она выше, чем у AtHSP90.1 (Cha et al., 2013). Отличительной особенностью HSP90 является то, что они специфически осуществляют фолдинг и регулируют конформацию ряда белков разных сигнальных путей клетки (Козеко, 2010), в частности, рецепторов стероидных гормонов у животных и сигнальных киназ (Xu, Lindquist, 1993; Goes, Marthin, 2001). В обычных условиях HSP90 участвуют во внутриклеточном транспорте, при действии высоких температур – в клеточном цикле и цитокинезе, связываются с белками с нарушенной структурой и передают их шаперонам (HSP70) для ренатурации или протеасомам для протеолиза (Козеко, 2010). Кроме того, HSP90 взаимодействуют со многими сигнальными молекулами, такими как

ТФ и протеинкиназами. В структуре этих молекул могут располагаться «карманы» или «расщелины» с активными участками. В отсутствие HSP90 у этих «расщелин» появляется тенденция к «раскрытию», что приводит к быстрой деградации белка. HSP90 при взаимодействии с такими молекулами удерживает их в стабильном состоянии (Pratt et al., 2010). Существует также предположение, что HSP90 способен переключать АТФазный цикл HSP70 с деградации на фолдинг, за счет чего регулирует функции системы внутриклеточного контроля качества белка (Малышев, 2012). При оптимальных температурах, но близких к высоким закалывающим, HSP90 стимулирует рост растений *A. thaliana*, поскольку в этих условиях HSP90 оказывают влияние на накопление Tir1 (transport inhibitor response1) и таким образом проявляют себя как регулятор роста (Wang et al., 2016).

HSP100. Белки с молекулярной массой 100 кДа и выше, также необходимы для повышения теплоустойчивости растений (Agarwal et al., 2002). Например, HSP101 разрушают белковые агрегаты, которые возникают в клетке под влиянием высоких температур (Agarwal et al., 2002; Usman et al., 2014). Исследования, проведенные на трансгенных и мутантных растениях *A. thaliana*, показали, что уровень теплоустойчивости положительно коррелирует с экспрессией *HSP101* (Hong, Vierling, 2000; Queitsch et al., 2000).

HSP60. HSP с молекулярной массой 60 кДа является молекулярным шапероном. Эти белки часто называют шаперонинами. Они имеют сложную четвертичную структуру, образованную двумя взаимодействующими друг с другом «кольцами», состоящими из 7-8 субъединиц (Марченков и др., 2006). Благодаря такой структуре HSP60 способны на своих противоположных поверхностях попеременно связывать и инкубировать белки, которые подлежат упаковке (Мельников, Ротанова, 2010). Предполагается совместное участие HSP60 и HSP70 в упаковке различных белков хлоропластов (Usman et al., 2014) и митохондрий (Deocaris et al., 2006), в том числе ключевого фермента ассимиляции CO₂ при фотосинтезе рибулозобисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа (Косаковская,

2008). Установлено, что в неблагоприятных условиях содержание HSP60 в клетках увеличивается в 2-3 раза (Марченков и др., 2006).

sHSP. Биосинтез низкомолекулярных HSP (sHSP) начинается в ответ на действие неблагоприятных факторов окружающей среды и сопровождает развитие устойчивости растений, при этом в тканях вегетативных органов при обычных условиях sHSP не синтезируются (Waters et al., 1996; Косаковская, 2008). При тепловом воздействии sHSP образуют агрегатные комплексы с массой от 210 до 280 кДа и вместе с HSP70 формируют гранулы теплового шока (ГТШ) (Kirschner et al., 2000). Однако сам механизм, благодаря которому sHSP защищают клетку, почти не изучен (Косаковская, 2008). Известно лишь, что sHSP при стрессе защищают макромолекулы, в частности РНК, и участвуют в упаковке неправильно свернутых белков (Косаковская, 2008).

В настоящее время в литературе достаточно хорошо исследована кристаллографическая структура HSP16.9 (van Montfort et al., 2001). У пшеницы она представляет собой дискообразную структуру из 2 колец по 6 субъединиц в каждом (van Montfort et al., 2001; Панасенко и др, 2003). Эти белки, по-видимому, непосредственно участвуют в формировании теплоустойчивости (Yeh et al., 1997). Об этом свидетельствует тот факт, что у трансгенных растений *A. thaliana* с повышенной экспрессией *LimHSP16,9* зафиксирован более высокий уровень устойчивости к действию высоких температур и других неблагоприятных факторов (Mu et al., 2013). HSP16,9 приносит весомый вклад в теплоустойчивость живых организмов. Вероятно, это связано с тем, что HSP16,9, как многие другие HSP, обладают шаперонной активностью (Yeh et al., 2002; Basha et al., 2004). Так, клетки *Escherichia coli*, экспрессирующие белок риса *Oshsp16.9*, имели более высокую выживаемость при действии высоких температур, чем контрольные. Кроме того, в лизатах этих клеток при действии высоких температур количество денатурированного белка снижалось на 50% по сравнению с контрольными образцами (Yeh et al., 1997).

Несмотря на большой интерес исследователей к синтезу HSP у растений, сведения об их участии в устойчивости растений, формируемой при

высокотемпературных воздействиях разной интенсивности, довольно фрагментарны. Тем не менее, известно, что у *Aloe vera* (L.) Burm. с повышением температуры (с 25° до 45°C) увеличивается уровень экспрессии генов *HSP70*, *HSP100* и убиквитина (Huerta et al., 2013). У *A. thaliana* при температуре 37°C, не влияющей на жизнеспособность клеток, резко увеличивается содержание белков *HSP101*, *HSP70* и в некоторой степени повышается содержание *HSP17,6*, а повреждающие температуры (выше 39°C) приводили к снижению или полному ингибированию синтеза этих белков. Синтез *HSP60*, наоборот, усиливался с повышением температурного воздействия от 37° до 50°C (Степанов, 2009).

У животных этот вопрос освещен намного полнее. Например, известно, что высокие температуры приводят к накоплению сигнальных молекул (ионов кальция в цитоплазме, липидных сигнальных молекул, АФК, неправильно упакованных белков, и др.) и ТФ. При этом с повышением температуры окружающей среды в клетках млекопитающих может меняться их содержание (Balogh et al., 2013). Так, умеренная концентрация сигнальных молекул при «мягком» стрессе (mild stress) активирует экспрессию генов и синтез HSP, что приводит к адаптации организма. Более высокое их содержание при «среднем» стрессе (severe stress) также запускает экспрессию генов HSP, но в этом случае не всегда происходит синтез самих HSP. Кроме того, определенный уровень сигнальных молекул, при котором чаще всего уже не происходит образования HSP, т.е. при «жесткий» стрессе (deleterious stress), индуцирует процессы, связанные с ПКГ (рис.2) (Balogh et al., 2013).

Таким образом, вопрос о вкладе HSP в теплоустойчивость растений в настоящее время активно обсуждается, хотя многие его аспекты по-прежнему остаются недостаточно изученными.

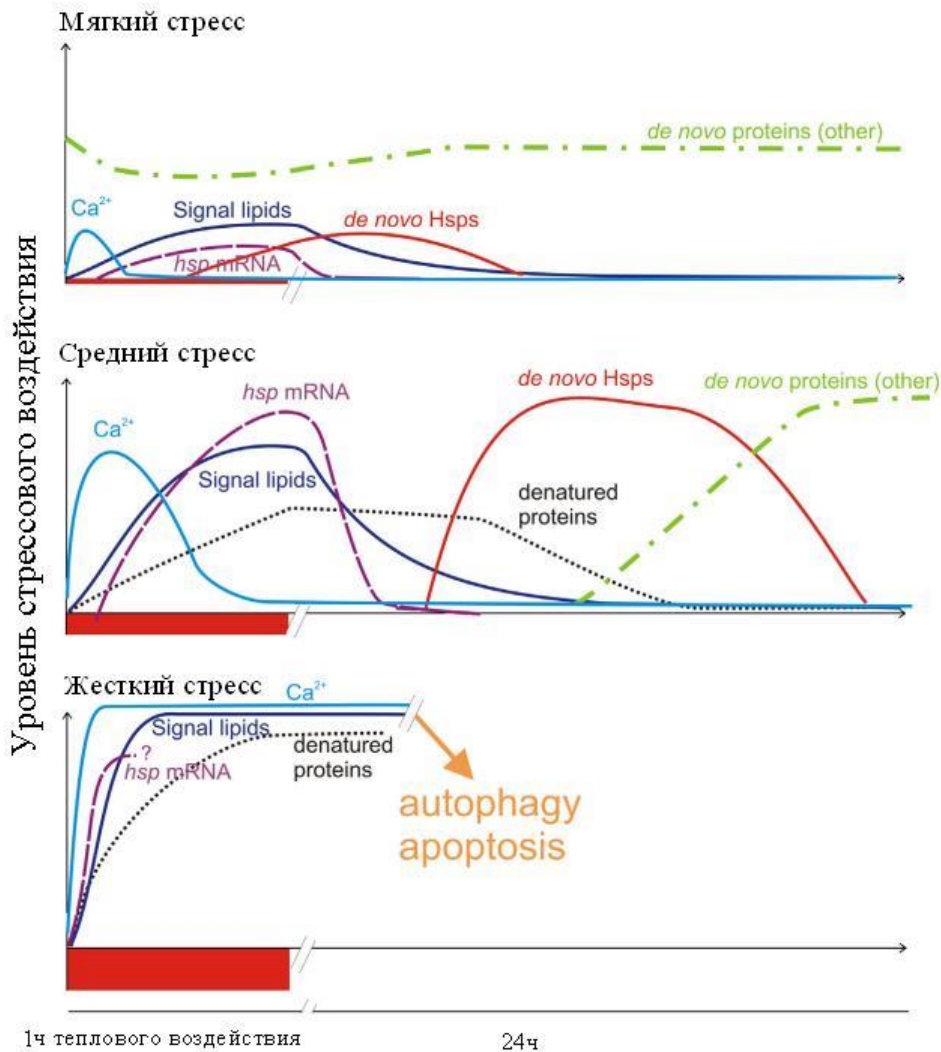


Рис. 2. Биохимические и молекулярно-генетические реакции клеток животных на высокотемпературные воздействия разной интенсивности (по: Balogh et al., 2013).

Примечание: Ca^{2+} – ионы кальция, signal lipids – липиды, участвующие в переносе стрессового сигнала, hsp mRNA – мРНК БТШ, de novo Hsps – de novo БТШ, de novo proteins (other) – de novo (остальные), нестрессовые белки, которые участвуют в метаболизме животных при нормальных температурах, denatured proteins – белки с нарушенной структурой, autophagy – аутофагия, apoptosis – апоптоз (ПКГ).

1.2.1.2. Белки эндоплазматического ретикулума, входящие в систему контроля качества синтезируемого белка

К белкам, участвующим в контроле качества других вновь синтезируемых белков, относятся как вышеперечисленные HSP, так и различные белки ЭР. ЭР – это крупная органелла клетки, выполняющая самые разнообразные функции.

Большенство клеточных белков принимают свою нативную конформацию в ЭР (Johnson, Haigh, 2000). Поэтому в ЭР располагаются сложные системы упаковки нативных белков и утилизации неправильно упакованных белков. Главным регулятором этих процессов считается шаперон BiP (Binding immunoglobulin protein). Он связан с транслоконом Sec61, а также с АТФ и ТФ – basic leucine zipper (bZIP) и inositol-requiring enzyme 1 (IRE1) (Deng et al., 2013; Kørner et al., 2015). Полипептидная цепь через Sec61 поступает в полость ЭР. Это индуцирует АТФазную активность BiP, в результате происходит гидролиз связанной с BiP АТФ до АДФ и цепь синтезируемого белка присоединяется к BiP (Snowden et al., 2007; Deng et al., 2013). Это препятствует агрегации белка в процессе его упаковки (Liu, Howell, 2010). В случае если процесс созревания белка протекает нормально, то синтезируемый белок передается на другие компоненты системы упаковки.

При неблагоприятных условиях в полости ЭР могут агрегироваться и появляться неправильно синтезированные белки, что приводит к развитию стресса ЭР (или ЭР-стресса). При ЭР-стрессе активируется защитный механизм (unfolded protein response) UPR (Liu, Howell, 2010; Deng et al., 2013). Когда BiP связывается с белками с нарушенной структурой, он отсоединяется от ТФ bZIP (Kørner et al., 2015). У *A. thaliana* показано наличие как минимум двух ТФ, связанных с BiP – bZIP17 и bZIP28. После отсоединения BiP эти ТФ поступают в аппарат Гольджи, где подвергаются протеолизу и активируются. Затем активные bZIP переходят в ядро и индуцируют синтез различных шаперонов (Liu et al., 2007a; Liu et al., 2007b). В другом варианте BiP отсоединяется от фактора сплайсинга мРНК IRE1 (inositol-requiring enzyme-1) (Kørner et al., 2015) (рис.3). После отсоединения BiP IRE1 олигомеризуется с последующим аутофосфорилированием цитозольного киназного домена и активацией рибонуклеазного домена, переходит в активное состояние и осуществляет процесс альтернативного сплайсинга мРНК bZIP60 (рис. 4). В результате синтезируется активный bZIP60, который запускает синтез различных белков шаперонов (Mittler et al, 2012; Kørner et al., 2015; Wan, Jiang 2016). Установлено, что обработка

растений *A. thaliana* и трансгенных растений табака туникамицином – веществом, нарушающим процесс гликозилирования и тем самым препятствующим процессу правильной упаковки белка и вызывающим ЭР-стресс, приводит к накоплению как транскриптов генов *BiP*, так и белков *BiP* (Alvim et al., 2001; Cho, Kanehara, 2017). Тот же самый эффект наблюдался у *A. thaliana* при действии высокой температуры (37°C) (Kozutsumi et al., 1996). Поэтому накопление транскриптов гена *BiP* иногда рассматривается как маркер ЭР-стресса.

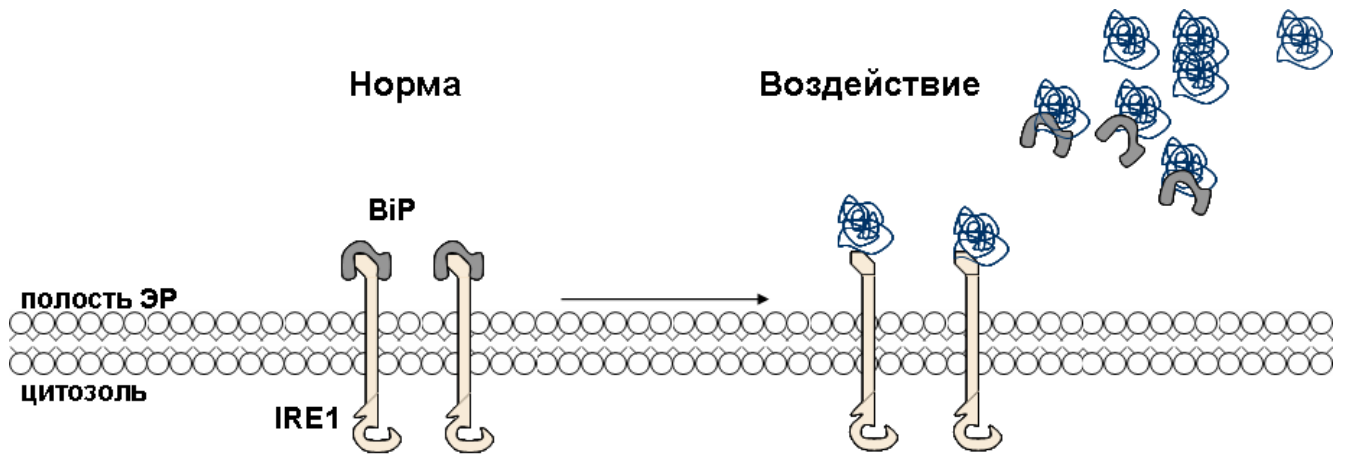


Рис. 3. *BiP* в ЭР в норме и при неблагоприятном воздействии (по: Wan, Jiang, 2016; Bao, Howell, 2017).

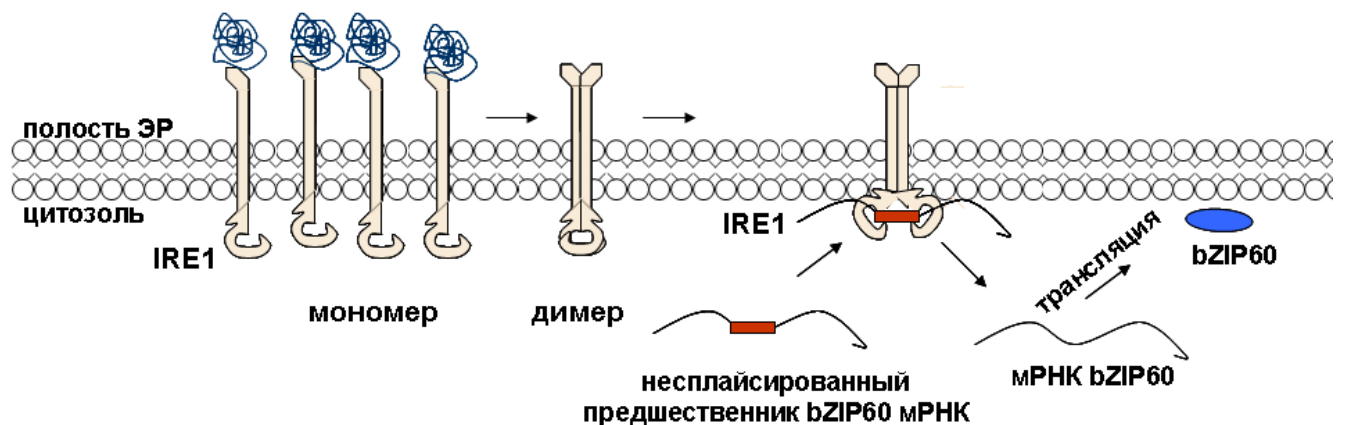


Рис. 4. Переход IRE1 в активную форму при ЭР-стрессе (по: Wan, Jiang, 2016; Bao, Howell, 2017).

На мембране ЭР располагается белок *Wax inhibitor-1* (WI-1). Этот белок обнаружен как у животных, так и у растений. WI-1 считается основным

компонентом системы, защищающей клетку от ПКГ, индуцируемой ЭР-стрессом (Watanabe, Lam, 2008). Было установлено, что у мутантных растений *A. thaliana* с нокаутом генов *BI-1-1* или *BI-1-2* ПКГ проявляется в большей степени (Watanabe, Lam, 2006). Это дает основания предполагать, что BI-1 участвует в процессах регуляции ПКГ в начальный период действия неблагоприятных факторов. У животных BI-1 ингибирует BAX-зависимую клеточную гибель. Несмотря на то, что у растений не обнаружен апоптотический белок Bcl-2-associated X protein (BAX), в экспериментах, проведенных на трансгенных организмах, в том числе и на трансгенных растениях табака, показано, что BI-1 ингибирует BAX-зависимую гибель клеток (Ху, Reed, 1998; Wang et al., 2012; Chen et al., 2015). Однако BI-1 непосредственно с BAX не взаимодействует (Ху, Reed, 1998), он участвует в защите клеток от ПКГ за счет регуляции потоков кальция между полостью ЭР и цитоплазмой.

Существуют данные, свидетельствующие о регуляторной функции BI-1. Хорошо известно, что повышение концентрации кальция в клетке приводит к активации различных сигнальных путей. Так, обработка *A. thaliana* метилжасмонатом привела к тому, что концентрация кальция у растений со сверхэкспрессией *BI-1* была ниже, чем у растений дикого типа, что влияло на активность МАРК6 (Yue et al., 2012).

Из представленных выше данных следует, что в клетках растений функционирует система контроля качества белка, важными компонентами которой являются шапероны цитоплазмы и белки ЭР. Функционирование этой системы, вероятно, обеспечивает устойчивость клеток и растений в целом к действию экстремально высоких температур, а сбой в ее работе может приводить к запуску процессов, связанных с ПКГ. Однако, как изменяется активность этой системы при высокотемпературных воздействиях разной интенсивности, практически не изучено.

1.3. Программируемая клеточная гибель (ПКГ) и ее роль в реакции растений на высокотемпературные воздействия

ПКГ является фундаментальным биологическим феноменом, играющим важную роль в реализации программы развития, поддержании тканевого гомеостаза и реакции живых организмов на действие неблагоприятных факторов биотической и абиотической природы (Ванюшин, 2001).

Процесс ПКГ относительно хорошо изучен у животных. Долгое время классификация клеточной гибели животных опиралась на морфологические критерии, согласно которым выделяли апоптоз (последовательные события, приводящие к уменьшению размера клетки, конденсации и фрагментации хроматина, уплотнению цитоплазматической мембраны, но не приводящие к выходу содержимого клетки во внеклеточное пространство), аутофагию (явление гибели клетки, при котором образуются специализированные органеллы аутофагосомы и аутофаголизосомы, которые участвуют в переваривании отдельных белков, органелл или всех внутренних компонентов клетки) и некроз (неконтролируемая форма клеточной гибели, сопровождающаяся хаотичной денатурацией белков, разрушением органелл, разрывом цитоплазматической мембраны и выходом содержимого клетки в межклеточное пространство) (Вересов, 2008; Kroemer et al., 2009; Niemann, Rohrbach, 2016; Рабаданова и др., 2018). Современные представления о типах ПКГ в значительной степени основываются на результатах, полученных с помощью биохимических и молекулярно-генетических методов, широко применяемых в исследованиях в последние годы. В настоящее время клеточную гибель животных подразделяют на внешний и внутренний апоптоз, регулируемый некроз, аутофагию, митотическую катастрофу. Кроме того, выделяют аноиксис как частный случай апоптоза, энтоз, партанатос, пироптоз, нетоз (Kroemer et al., 2009; Galluzzi et al., 2012) и ферроптоз (Dixon et al., 2012).

Механизмы ПКГ у растений исследованы значительно хуже, чем у животных, поэтому классифицировать гибель растительных клеток каким-то определенным образом сложно. Тем не менее, известно, что картина изменений,

сопровождающих ПКГ у растений, во многом сходна с таковыми у животных: конденсация хроматина, фрагментация ДНК, сжатие клетки (Ванюшин, 2001). В связи с этим ПКГ растений чаще всего рассматривают как процесс, имеющий признаки, схожие с апоптозом и аутофагией у животных, и обозначают его как апоптозоподобную (Reape et al., 2008) или вакуолярную (van Doorn, 2011; Ueno et al., 2016) клеточную гибель. Кроме того, отдельно выделяют аутофагию (Kwon, Park, 2008; Bassham, Crespo, 2014; Рябовол, Минибаева, 2016; Michaeli et al., 2016) и некроз (Reape et al., 2008; van Doorn, 2011). Совсем недавно у растений была выявлена клеточная гибель, сходная с ферроптозом у животных (ферроптозоподобная клеточная гибель), т.е. клеточная гибель, для которой характерно железозависимое перекисное окисление липидов (Distéfano et al., 2017). Следует отметить, что, несмотря на очевидную схожесть процессов ПКГ у животных и у растений, в каждом случае есть свои особенности. Например, ключевыми элементами классической схемы апоптоза (внутреннего апоптоза) у животных являются белки семейства B-cell lymphoma 2 (BCL-2) (Galluzzi et al., 2012) и ферменты каспазы (Мартынова, 2003). Оба этих элемента отсутствуют у растений. Кроме того, у животных на финальных стадиях апоптоза образуются апоптотические тельца, которые утилизируются фагоцитирующими клетками, чего не происходит у растений, так как наличие у последних жесткой клеточной стенки делает это невозможным (Фомичева и др., 2012). В свою очередь, лизис продуктов апоптоза и деградация клеточной стенки у растений происходит с участием вакуолей в процессах автолиза и аутофагии (Borrás et al., 2006).

Установлено, что в осуществлении ПКГ участвуют различные органеллы клетки, в частности, митохондрии, ЭР, вакуоль, хлоропласты (Hoeberichts, Woltering, 2003; van Doorn et al., 2011; Williams et al., 2014; Reape et al., 2015). Индукция ПКГ у животных и у растений с участием митохондрий (т. е. апоптоза или апоптозоподобной гибели) происходит в ответ на определенные изменения внутренней и внешней среды организма, которые приводят к чрезмерному повышению концентрации ионов кальция (Ca^{2+}) в цитоплазме. Это сопровождается транспортом Ca^{2+} в митохондрии (Olson et al., 2012; Рихванов и

др., 2014), снижением трансмембранного потенциала митохондрий и открытием митохондриальной поры (mitochondrial permeability transition pore), в образовании которой у животных участвует представитель семейства BCL-2 – Bcl-2-associated X (BAХ) и Bcl-2 homologous antagonist killer (BAK) (Green, Reed, 1998; Pawlowski, Kraft, 2000; Kawai-Yamada et al., 2004; Yao et al., 2004; Акопова, 2008; Reape et al., 2015). Далее у животных в цитоплазму из митохондрий выходят цитохром *c*, некоторые представители семейства BCL-2, apoptotic protease activating factor 1 (APAF1) и др., где они участвуют в образовании апоптосомы и активации каспаз (De Ciorgi et al., 2002; Galluzzi et al., 2012). У растений этот этап ПКГ изучен крайне слабо, но известно, что у них также происходит выход цитохрома *c* из митохондрий и цитохрома *f* из хлоропластов и затем активизация ферментов, обладающих каспазоподобной активностью (Vacca et al., 2006; Qu et al., 2009; Ху, Zhang, 2009; Wang, 2013; Sueldo, van der Hoorn, 2017). Митохондрии и хлоропласты также служат источником АФК, которые образуются в результате нарушений работы электронтранспортных цепей в мембранах этих органелл (Davidson, Schiestl, 2001; Колупаев, Карпец, 2009). Причем АФК в определенных концентрациях могут выступать в роли сигнальных молекул и запускать процессы адаптации растений и/или ПКГ (Kim et al., 2008; Корсукова и др., 2013; Laloi, Navaux, 2015; Petrov et al., 2015).

У животных организмов BAХ считается главным регулятором апоптоза, запускающегося при активации внутреннего (т.е. митохондриального) пути (Kawai-Yamada et al., 2005). Следует подчеркнуть, что у растений отсутствует BCL-2 семейство, к которому относится BAХ (Cai et al., 2014). Однако у трансгенных растений табака и *A. thaliana* сверхэкспрессия гена животного BAХ индуцирует развитие клеточной гибели в листьях, что еще раз подчеркивает принципиальную схожесть протекания механизмов ПКГ у растений и у животных (Lacomme, Santa Cruz, 1999; Kawai-Yamad et al., 2001). Более того, у *A. thaliana* обнаружен BAХ-подобный белок – cell growth defect factor-1 (CDF1) (Kawai-Yamada et al., 2005). Сверхэкспрессия этого гена у трансгенных *Saccharomyces cerevisiae* приводила к гибели клеток, которая по своим признакам была сходна с

ВАХ-зависимой ПКГ (Kawai-Yamada et al., 2005). У пшеницы обнаружен белок ВАХ.2, функциональный гомолог белка CDF1 *A. thaliana*, однако участие его в процессах ПКГ пока окончательно не установлено.

Другой путь активации ПКГ связан с ЭР. В клетках растений под влиянием различных стресс-факторов в полости ЭР накапливаются неправильно синтезированные, несвернутые или неправильно свернутые белки (Deng et al., 2013), вследствие этого в полости ЭР развивается ЭР-стресс. В ответ на ЭР-стресс активируется защитный механизм UPR (Deng et al., 2013; Kørner et al., 2015). Однако, если количество неправильно упакованных белков в ЭР очень велико, работа системы UPR может нарушиться. В этом случае развивается ЭР-зависимая ПКГ (Liu, Howell, 2010; Дедов и др., 2012; Cai et al., 2014). Кроме того, хорошо известно, что ЭР также выступает в качестве депо кальция. ЭР-стресс приводит к выходу кальция из ЭР, что является одной из причин повышения концентрации ионов кальция в митохондриях (Berridge, 2002; Williams et al., 2014).

Описанные выше события (выход ВАХ и цитохрома *c* из митохондрий, мощное развитие ЭР-стресса, выход Ca^{2+} из ЭР) через ряд реакций приводят к активизации протеолитических ферментов, наиболее характерных молекулярных маркеров ПКГ, регулирующих инициацию и обеспечивающих дальнейшие процессы клеточной гибели (Замятнин, 2015). Такими ключевыми ферментами у животных являются каспазы – аспартат-специфичные протеолитические ферменты (Фомичева и др., 2012; Замятнин, 2015). У растений каспазы отсутствуют. Однако у них обнаружена каспазоподобная активность, которая осуществляется за счет функциональных аналогов животных каспаз (Beers et al., 2000, Фомичева и др., 2012). Например, вакуолярный процессирующий фермент vacuolar processing enzyme (VPE) обладает каспазо-1-подобной активностью (Li et al., 2012; Фомичева и др., 2012; Natsugai et al., 2015). Кроме того, у растений, грибов и простейших обнаружены другие ферменты, которые могут быть участниками ПКГ – метакаспазы. В отличие от каспаз, метакаспазы являются аргинин/лизин-специфичными ферментами (Tsiatsiani et al., 2011; Замятнин, 2015). Однако сведения об участии метакаспаз в ПКГ неоднозначны. Так,

известно, что метакаспаза AtMC1 участвует в формировании гиперчувствительного ответа у *A. thaliana*, тогда как AtMC2 является антагонистом этого процесса (Coll et al., 2010). Отмечено снижение экспрессии генов *OsMC4* и *OsMC7* у риса при действии на растения высоких температур. В то же время наблюдается повышение экспрессии генов *OsMC1*, *OsMC3*, *OsMC5*, *OsMC6* и не зафиксированы изменения в активности генов *OsMC2* и *OsMC8*. Тем не менее, предполагается участие в ПКГ CaMC9 у перца (Kim et al., 2013) и TaeMCP у пшеницы (Piszczek et al., 2011).

В целом молекулярно-генетические механизмы ПКГ растений изучены в настоящее время крайне слабо. Тем не менее, установлено, что клеточная гибель как важный компонент иммунитета вовлечена в защитные реакции растений при заражении патогенами, что проявляется в виде реакции сверхчувствительности (СВЧ-реакция) – быстрой локальной гибели клеток в местах проникновения патогенного организма для подавления его дальнейшего распространения и развития (Morel, Dangl, 1997; Heath, 2000). ПКГ также участвует в образовании ткани аэренхимы, которая возникает при дефиците кислорода во время затопления и представляет собой воздушные полости (Самуилов, 2001). Показано, что ПКГ развивается и при других неблагоприятных воздействиях: засолении, воздействии тяжелых металлов, окислительном стрессе, низких и высоких температурах и др., но в этих случаях функциональное значение данного процесса до конца не определено (Fan, Xing, 2004; D'Angeli, Altamura, 2007; Li et al., 2007; Ma et al., 2010; Lyubushkina et al., 2014; Laloi, Navaux, 2015). Особый интерес представляет вопрос о развитии ПКГ у растений при действии неблагоприятных температур, в частности высоких температур. Как известно, температура – это фактор физической природы, который, в отличие от биотических воздействий или таких абиотических факторов, как затопление и воздействие тяжелых металлов, влияет одновременно на все живые клетки и ткани организма. При этом неясно, носит ли развитие ПКГ у растений, вызванное действием высоких температур, адаптивный характер или является следствием деструктивных процессов, обусловленных нагревом. Кроме того, современные представления о механизмах

ПКГ связаны, как правило, с изучением влияния какой-то одной конкретной температуры, хотя известно, что характер ответной реакции растений способен меняться не только количественно, но и качественно в зависимости от интенсивности стрессора. Существуют лишь немногочисленные работы, показывающие, что тип гибели зависит от интенсивности температурного воздействия. Предполагается, что ПКГ запускается только тогда, когда интенсивность температурного воздействия превышает определенное пороговое значение, при котором изменения в метаболизме значительно отличаются от изменений, происходящих при более слабых воздействиях (Marsoni et al., 2010). Однако эти данные в основном опираются на морфологические и некоторые биохимические признаки ПКГ. Так, в суспензионной культуре *Saccharum officinarum* L. гибель клеток при 50°C сопровождалась характерными для ПКГ морфологическим (конденсация протопласта) и биохимическими (генерация АФК, изменения электрохимического потенциала на внутренней мембране митохондрий) изменениями. При экстремально высокой температуре 60°C наблюдалась быстрая гибель клеток, вероятно, представляющая собой некроз (Любушкина и др., 2014). Воздействие на растения пшеницы температуры 42°C в течение 30 мин приводило к фрагментации ДНК, т.е. к проявлению признака ПКГ, а воздействие температуры 80°C в течение 10 мин вызывало некротическую гибель (Fan, Xing, 2004). Схожие данные получены на растениях маша (Egorova et al., 2011) и растениях табака (Locato et al., 2008; Marsoni et al., 2010). В этих работах было установлено, что одни температуры не вызывают изменений в жизнеспособности клеток, тогда как другие, более высокие температуры, приводят к развитию признаков ПКГ.

Таким образом, можно заключить, что сведения об особенностях и механизмах индукции клеточной гибели у растений, испытывающих действие экстремально высоких температур, носят пока фрагментарный характер, что не позволяет на данный момент оценить роль этих процессов в защитно-приспособительных реакциях растений. Существуют лишь отдельные данные о некоторых участниках этого процесса, но их относительный вклад в ПКГ при

высокотемпературных воздействиях, особенно разной интенсивности, не установлен. Поэтому требуется проведения дальнейших исследований, посвященных этому вопросу.

1.4. Стресс как реакция растений на действие высоких температур

Как было сказано выше, температура окружающей среды является одним из главных факторов, определяющих рост, развитие, продуктивность, и в целом, жизнеспособность растений. В зависимости от температуры окружающей среды меняется и устойчивость растений. В 70-е годы С. Н. Дроздовым с соавт. была выдвинута «зональная» гипотеза, объясняющая закономерности изменения устойчивости растений в зависимости от температуры окружающей среды. В соответствии с этой гипотезой весь диапазон действующих на растения температур предложено разделять на пять зон: фоновую, холодового и теплового закаливания (адаптации), холодового и теплового повреждения (Дроздов и др., 1977, 1984; Титов, 1989; Титов и др., 2006). Показано, например, что фоновая зона (оптимальная для жизнедеятельности растений) у различных сортов озимой пшеницы варьирует в пределах от 13°C до 29°C (Балагурова и др., 1994). Температуры выше указанных значений и не превышающие 42°C относятся к зоне теплового закаливания. В этих условиях происходит повышение теплоустойчивости растений пшеницы. Температуры выше 42°C являются повреждающими (Титов и др., 2006), их действие на растения приводит к снижению устойчивости и к гибели клеток и растений в целом. Предложенная гипотеза хорошо объясняет характер изменения устойчивости растений и некоторых физиолого-биохимических показателей в ответ на действие закаливающих и повреждающих температур. Кроме того, было показано, что основную роль в механизмах повышения устойчивости растений при действии на них закаливающих температур играет белоксинтезирующая система клеток и синтез белков *de novo* (Критенко, 1987; Титов, 1989; Титов и др., 2006). В отличие от этого, кратковременный рост устойчивости, наблюдаемый в начальный период действия на растения повреждающих температур, обеспечивается иными

механизмами, не связанными непосредственно с качественными изменениями в процессе биосинтеза белка (Топчиева, 1994). Однако дальнейшие исследования показали, что температуры, даже относящиеся к одному температурному диапазону, могут вызывать разные не только в количественном, но и в качественном отношении реакции растений. Например, при действии на растения закаливающей температуры, находящейся на границе между фоновой зоной и зоной теплового закаливания, происходит лишь очень небольшое торможение роста, тогда как при закаливающей температуре, находящейся на границе между зоной теплового закаливания и зоной теплового повреждения, рост прекращается практически полностью (Лархер, 1978; Коровин, 1984; Титов, 2006). Для верхней части зоны теплового закаливания также характерно нарушение фотосинтеза, что не всегда происходит при действии более низких температур из этой же зоны (Лархер, 1978; Титов и др., 2006). В то же время температуры, относящиеся к разным температурным зонам, например, к зоне теплового закаливания и к зоне теплового повреждения, вызывают активизацию ферментов АОС (Satbhai et al., 2015). Поэтому при изучении механизмов устойчивости растений следует иметь в виду не только общие закономерности ее изменения под влиянием тех или иных температур, но также очень важно учитывать и те реакции растений, которые происходят в ответ на изменения температуры даже в пределах одной температурной зоны.

В настоящее время считается, что большая часть реакций растений на действие различных неблагоприятных факторов внешней среды носит неспецифический характер (Александров, 1975; 1985; Шакирова, 2001; Чиркова, 2002; Титов и др., 2006; Кузнецов, 2009). Для обозначения совокупности неспецифических реакций у животных Г. Селье (1972) в свое время ввел термин стресс, а неблагоприятные факторы, действующие на организм, назвал стрессорами. Он же разделил реакцию животных на неблагоприятные воздействия на три фазы: тревоги, адаптации и, при длительном и/или слишком интенсивном воздействии, истощения. В дальнейшем термин «стресс» довольно быстро приобрел популярность и получил широкое распространение, в том числе

и в физиологии растений. При этом некоторые авторы приравнивают друг к другу понятия стресс и стрессор, рассматривая стресс как неблагоприятный фактор, действующий на организм (Levitt, 1980). Однако все-таки чаще под стрессом понимают процессы, развивающиеся в организме растений под влиянием неблагоприятных факторов. Так, Вл. В. Кузнецов (2009) определяет стресс как неспецифический ответ организма на действие стрессора, обеспечивающий кратковременное выживание организма за счет активации систем широкого ответа. Другие авторы считают, что стресс – это не только ответ растений (активация защитных механизмов), но и нарушения и/или повреждения, вызванные действием на организм неблагоприятного фактора (Larcher, 2003; Mosa et al., 2017), т. е. понимая под стрессом совокупность адаптивных и деструктивных процессов, а также механизмов, участвующих в восстановлении организма после прекращения действия стрессора (Lichtenthaler, 1996; 1998). Другими словами, стресс в подобной трактовке – это неспецифическая реакция растений, включающая многочисленные изменения в организме, в ответ на действие неблагоприятного фактора. В данной диссертационной работе мы придерживаемся именно такой трактовки этого термина.

У растений также как и у животных можно выделить несколько фаз ответной реакции на действие стрессора. Сразу следует отметить, что в иностранной литературе название первой фазы стресса «тревога» или «alarm» используется применительно и к растениям (Lichtenthaler, 1998; Kranner et al, 2010), что не совпадает с терминологией, используемой в отечественной литературе. Строго говоря, фаза тревоги у растений как таковая отсутствует, хотя в ответ на неблагоприятные воздействия у них наблюдается ряд быстрых неспецифических изменений, которые, по-видимому, корректнее называть «первичной индуктивной стрессовой реакцией» (Полевой, 1989; Чиркова, 2002) или «неспециализированной стрессорной реакцией» (Холодова и др., 2001; Кузнецов, 2009). К ним относят, во-первых, такие неспецифические защитно-приспособительные реакции как изменение в мембранных структурах, синтез стрессовых белков, активизацию ферментов АОС и ряд других (Los, Murata, 2004;

Малышев, 2012; Horváth et al., 2012; Mittler et al., 2012; Bahuguna, Jagadish, 2015; Шарова, 2016). Во-вторых, к этим изменениям также причисляют некоторые структурно-функциональные нарушения, например, накопление белков с нарушенной структурой, генерацию АФК, сдвиг рН цитоплазмы в кислую сторону, повышение проницаемости мембран и т.д. (Полевой, 1989, Чиркова, 2002; Miller et al., 2007; Кормощ, 2011; Креславский и др., 2012; Wan, Jiang, 2016). Следует отметить, что в целом одной из главных черт первичной реакции является резкое усиление процессов катаболизма липидов и биополимеров (Тарчевский, 2001). В случае умеренной интенсивности и продолжительности высокотемпературного воздействия растения адаптируется к неблагоприятным условиям, что характеризуется повышением их устойчивости и происходит во второй фазе стрессового ответа растений (Чиркова, 2002; Титов и др., 2006; Кузнецов, 2009).

Вместе с тем относительно небольшие повреждения клетки, связанные например, с накоплением белков с нарушенной структурой и генерацией АФК, могут послужить причиной синтеза защитных белков (Iwata, Koizumi, 2012; Deng et al., 2013; Kørner et al., 2015; Wan, Jiang, 2016). Например, АФК влияют на уровень экспрессии генов, кодирующих стрессовые белки, в частности HSP, и ферменты АОС (Volkov et al., 2006), а также регулируют активность ТФ (ApeI, Hirt, 2004; Davletova et al., 2005; Miller, Mittler, 2006; Kotak et al., 2007).

Следует отметить, что согласно современным представлениям, стрессовые реакции затрагивают также отдельные части растительного организма, например, клетки и даже отдельные их компартменты. Так, неблагоприятные воздействия могут приводить к развитию ЭР-стресса, для которого характерно накопление белков с нарушенной структурой в полости ЭР, и ряд реакций направленных на устранение таких белков (Deng et al., 2013; Kørner et al., 2015). Поэтому ЭР-стресс считается важным звеном в цепи событий, приводящих к повышению устойчивости (Liu, Howell, 2010; Deng et al., 2013).

Разные авторы отмечают, что изменения в клетках растений в зависимости от интенсивности высокотемпературного воздействия могут быть обратимыми и

вызывать повышение устойчивости растений или быть необратимыми и приводить к их гибели (Balogh et al., 2013; Рихванов и др., 2014; Giri et al., 2017). Поэтому у стресса выделяют разные формы. Например, эустресс (изменения, способствующие выживанию в неблагоприятных условиях) и дистресс (деструктивные изменения) (Lichtenthaler, 1998; Larcher, 2003; Kranner et al., 2010). Кроме того, в работах разных авторов все чаще используются такие понятия как «мягкий», «средний» и «жесткий» стресс («mild», «moderate», «severe» stress). Подобный подход предполагает, что слово стресс соответствует понятию неблагоприятный фактор, который действует на растения с разной силой (Войников, 1987; Volat et al., 2014; Nguyen et al., 2015).

Мы в своей работе также используем термины «мягкий», «средний» и «жесткий» стрессы. При этом под «мягким» стрессом мы понимаем изменения, не носящие деструктивного характера и приводящие к активации только защитно-приспособительных реакций и повышению устойчивости растений. Под «средним» стрессом мы подразумеваем изменения, которые наряду с защитно-приспособительными реакциями могут включать в себя какие-либо нарушения и/или повреждения, но с которыми растения успешно справляются. Устойчивость растений в таких условиях будет сохраняться на достаточно высоком уровне в течение относительно длительного времени. Наконец, под «жестким» стрессом мы понимаем серьезные деструктивные изменения, с которыми защитно-приспособительные механизмы растений уже не справляются, и которые ведут к гибели растения.

2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования (краткая характеристика). Исследования проводили на проростках озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Оригинатором и патентообладателем сорта является НИИСХ Центральных районов Нечерноземной зоны (НИИСХ ЦРНЗ). Данный сорт относится к среднеспелым, вегетационный период 305–308 дней. Предназначен для получения продовольственного зерна (сильная пшеница) в Центральном, Центрально–Черноземном регионах России, считается перспективным и для сопредельных регионов.

Характеризуется зимостойкостью, морозоустойчивостью, засухоустойчивость, а также устойчивостью к патогенам – твёрдой головне, снежной плесени, септориозу, бурой ржавчине и мучнистой росе.

Кроме того, проростки злаков являются одним из наиболее удобных объектов для исследования программируемой клеточной гибели (Ванюшин, 2001).

Схема эксперимента. Исследования проводили в лабораторных условиях с использованием камер искусственного климата. Растения в течение 7-и дней выращивали в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе, содержащем 3.15 мМ NH_4NO_3 , 1.55 мМ KH_2PO_4 , 1.55 мМ MgSO_4 , 24 мкМ H_3BO_3 , 21 мкМ цитрата железа ($\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$), 10 мкМ MnSO_4 , 3.1 мкМ CuSO_4 , 2.55 мкМ $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 1.55 мкМ ZnSO_4 , и 5 мМ $\text{Ca}(\text{OH})_2$, pH 6.4, при температуре воздуха 22°C, его относительной влажности 60 – 70%, освещенности ФАР 180 мкмоль/(м²·с), фотопериоде 14 ч. Затем проростки пшеницы подвергали температурным воздействиям разной интенсивности (опыт), при этом диапазон температур варьировался от 29° до 45°C при сохранении прочих условий неизменными. Продолжительность высокотемпературного воздействия также варьировалась – от 15 мин до 96 ч. В качестве контроля выступали проростки, выращенные при обычных (22°C) температурных условиях.

Методы исследования

Теплоустойчивость растений оценивали а) после 5-минутного прогрева высечек из листа в водном термостате при последовательном повышении температуры с интервалом в 0,4°C (Александров, 1963). В качестве критерия устойчивости использовали температуру гибели 50% (ЛТ₅₀) палисадных клеток листа, определяемую с помощью светового микроскопа Микмед 2 («ЛОМО», Россия) (объектив 40^x) по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

б) после воздействия температур 33°, 37° и 43°C в течение 1 – 3 сут и отрастания в нормальных условия при температуре 22°C. Критериями устойчивости являлись степень повреждения листьев проростков и выживаемость растений.

Оводненность тканей анализировали с помощью весового метода, высушивая растительные образцы до постоянного веса при температуре 105°C (Аринушкина, 1970).

Рост листьев пшеницы определяли общепринятыми методами.

Содержание малонового диальдегида (МДА) оценивали по накоплению продукта его реакции с тиобарбитуровой кислотой спектрофотометрическим методом (Stewart, Bewley, 1980). Для этого использовали реакционную среду, содержащую 0,5% раствор тиобарбитуровой кислоты в 20% трихлоруксусной кислоте. Первый лист контрольных растений и растений после воздействия высокой температуры навеской 0,1 г гомогенизировали в реакционной среде объемом 2 мл. Далее пробы центрифугировали 15 мин при 10000 об./мин. После этого отбирали супернатант и выдерживали его на водяной бане 30 мин при температуре 95°C. Далее пробы охлаждали до комнатной температуры и повторно центрифугировали 5 мин при 10000 об./мин. После чего измеряли оптическую плотность на спектрофотометре СФ – 2000 (Спектр, Россия) при длине волны 532 и 600 нм.

Концентрацию МДА рассчитывали по следующей формуле:

$$СМДА=(D532-D600)/\varepsilon \cdot m,$$

где СМДА – концентрация МДА (мкМ/г сырого веса), D532 и D600 – оптическая плотность образца при соответствующих длинах волн, ε – коэффициент экстинкции МДА, равный $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, m – масса навески (г).

Образование супероксид радикала оценивали качественным методом *in situ* путем восстановления нитросинего тетразолия с образованием фиолетового преципитата формазана методом, описанным Джабсом с соавторами (Jabs et al., 1996). Для этого листья контрольных растений и растений после теплового воздействия подвергали вакуумной инфильтрации в 10 мМ калий-фосфатном буфере (рН 7,8) с добавлением 10 мМ азида натрия. Затем листья выдерживали в 0,1% растворе нитросинего тетразолия в течение 30 мин при комнатной температуре. Для обесцвечивания листа растения подвергались кипячению в растворе, содержащем ледяную уксусную кислоту, глицерин, этанол в соотношении по объему 1:1:3 в течение 5-10 мин. Затем листья фотографировали.

Образование перекиси водорода анализировали качественным методом *in situ*, который описал Тордал-Кристенсен с соавторами в 1997 г. (Thordal-Christensen et al., 1997). Метод основан на полимеризации 3,3-диаминабензидина (DAB) при вступлении в контакт с пероксидом водорода в присутствии пероксидазы. Листья растений инфильтровали в растворе 1 mg/ml^{-1} DAB·HCl рН 3.8 и выдерживали в этом растворе в течение 4 ч. Далее листья обесцвечивали кипячением в растворе (ледяная уксусная кислота, глицерин, этанол (1:1:3) в течение 5-10 мин. Затем листья фотографировали.

Анализ фотографий, полученных при исследовании генерации супероксид радикала и содержания пероксида водорода проводили с применением программы ImageJ (Image Processing and Data Analysis in Java), предназначенной для изучения медико-биологических изображений. Образование супероксид радикала и перекиси водорода рассчитывали как отношение в (%) окрашенных областей к общей площади листа.

Общую активность (СОД) определяли спектрофотометрическим методом. Для выделения белка навеску 0,3 г гомогенизировали с добавлением К/Na-фосфатного буфера (рН 7.8) при температуре 4°C , после чего гомогенат

центрифугировали 20 мин при 15 000 g при температуре 4°C; полученный супернатант использовали для определения СОД. Метод определения СОД основан на способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия (Beauchamp, Fridovich, 1971). Для проведения анализа готовили три варианта реакционной смеси: 1) контроль (2 мл реакционной среды с добавлением 100 мкл супернатанта); 2) световой контроль (2 мл реакционной среды с добавлением 100 мкл К/Na-фосфатного буфера (pH 7.8)); 3) опытный образец (2 мл реакционной среды с добавлением 100 мкл супернатанта). Реакционная среда объемом 2 мл содержала 10 mM L-метионина, 54 мкМ нитросинего тетразолия, 0,025% Тритона X-100. Для запуска ферментативной реакции во все три варианта вносили 50 мкл раствора рибофлавина. После этого контроль помещали в темноту, а световой контроль и опытный образец помещали в условия освещения на 30 мин. После этого, определяли оптическую плотность светового контроля и опытного образца относительно контроля при длине волны 560 нм, используя спектрофотометр СФ-2000 (Спектр, Россия). За единицу активности СОД принимали количество фермента, способное подавить реакцию восстановления нитросинего тетразолия на 50%. Расчет активности фермента проводили по формуле

$$АСОД = \log(E_{\text{контр.}}/E_{\text{опыт.}})/(\log 2 \cdot m_{\text{белка}}),$$

где АСОД – активность СОД (усл. ед. активности/мг белка), $E_{\text{контр.}}$ – оптическая плотность светового контроля, $E_{\text{опыт.}}$ – оптическая плотность опытного образца, $m_{\text{белка}}$ – масса белка в пробе (мг).

Содержание белка определяли по методу Брэдфорда (Bradford, 1976), основанному на сдвиге спектра поглощения в сторону значений 595 нм красителя кумасси ярко-голубого при связывании его с белком, прямо пропорционально концентрации последнего. Для приготовления реактива Бредфорда 100 мг Кумасси ярко-голубого растворяли в 50 мл 96% этанола, к этому раствору добавляли 10 мл 85% фосфорной кислоты и доводили до объема 1 л бидистиллята. Для определения содержания растворимых белков в пробе, растения навеской 0,3 г гомогенизировали в 3 мл 0.1 М К/Na-фосфатном буфере,

полученный гомогенат центрифугировали 20 мин при 15 000 об./мин. После чего отбирали 100 мкл супернатанта и добавляли к ним 5 мл реактива Брэдфорда. Пробы оставляли при комнатной температуре на 10 мин. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ – 2000 (Спектр, Россия) при длине волны 595 нм. В качестве контроля использовали 5 мл реактива Брэдфорда с добавлением 100 мкл 0,1 М К/Na-фосфатного буфера. Содержание белка определяли по калибровочной кривой. Калибровочную кривую строили, используя бычий сывороточный альбумин.

Для анализа уровня транскриптов генов навеску листьев (50 мг) фиксировали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора Extract RNA (Евроген, Россия). Качество и количество тотальной РНК проверяли спектрофотометрический на приборе SmartSpec Plus (Bio-Rad, США) по соотношению длин волн 260:280 и с помощью электрофореза в 1% агарозном геле. Тотальную РНК обрабатывали ДНКазой (1 единица активности ЕА). С помощью набора для обратной транскрипции (Евроген, Россия) синтезировали кДНК, используя очищенный на колонках CleanRNA Standart (Евроген, Россия) препарат РНК. Количество и качество выделенной кДНК определяли спектрофотометрически на приборе SmartSpec Plus (Bio-Rad, США). Уровень экспрессии генов растений оценивали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (Bio-Rad, США), используя набор для амплификации с интеркалирующим красителем SYBR Green (Евроген, Россия). Праймеры (Евроген, Россия) для проведения ПЦР представлены в таблице 1. Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 100 нг кДНК, по 1 пкМ прямого и обратного праймеров, 5 мкл реакционной смеси и 16 мкл деионизованной воды, свободной от нуклеаз. Протокол ПЦР: денатурация кДНК 5 мин при 95 °С; 40 циклов: денатурация при 95°С 30 с; отжиг при 58°С 30 с; элонгация при 72° 30 с. Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов.

Характеристика праймеров для ПЦР в режиме реального времени

Ген	Номер доступа в базе NCBI	Праймер	Последовательность праймера 5' → 3'
<i>TaBI-1</i>	GU564292.1	прямой обратный	CCAGCGGATGGGGCTACGACT GCGAGCATTTGTCAGCATCCCG
<i>TaBAX.2</i>	FJ747648.1	прямой обратный	AGAGGTTTGGGCTGCTGATGGGT CCTGTCACGAGGATACTTGGGTC
<i>TaMCAII</i>	GU130248.1	прямой обратный	TCCTTCCTCAAAGAGACCGTTCG CTCCTCAATGTCATCCTTCCCAG
<i>TaBiP</i>	KC894715.1	прямой обратный	GCTATTGCCTATGGTTTGGACCT TGCCGTGCTTCTTCT
<i>TaIRE1</i>	CX536022.1	прямой обратный	GAAGAAGCCAGGAGATAA AAGCGGTTGATGTGATA
<i>TaHSP90</i>	DQ270237.1	прямой обратный	TCCGACCTCGTCAACAACC ACACCGAACTGCCCAATCA
<i>TaHSP70</i>	AF005993.1	прямой обратный	AGGAGGAGATTGAGAAGATGGTG C GTCGTCCTTGACCGTGTTGC
<i>TaHSP19</i>	AM422845.1	прямой обратный	CCCCGTTCGGTAAGTCCTCG CCAGCATCTGCCGCATCGTC
<i>TaHSP16.9</i>	EU649679.1	прямой обратный	TCCTACCTGCGGTCCGATAC AGGCGTCTCCTTCCAGTCCA
<i>Actin</i>	AB181991	прямой обратный	GGGACCTCACGGATAATСТААТГ AACCTCCACTGAGAACAACATTAC

Эффективность ПЦР для праймеров референсного и целевых генов определяли путем проведения ПЦР с последовательными разбавлениями исследуемого образца к ДНК (Рис. 5). Уровень транскриптов генов вычисляли по формуле:

Уровень транскриптов = $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (Livak, Schmittengen, 2001).

В качестве контрольных образцов были выбраны кДНК, выделенные из растений, не подвергнутых высокотемпературному воздействию. В качестве референсного гена использовали ген *actin Triticum aestivum*.

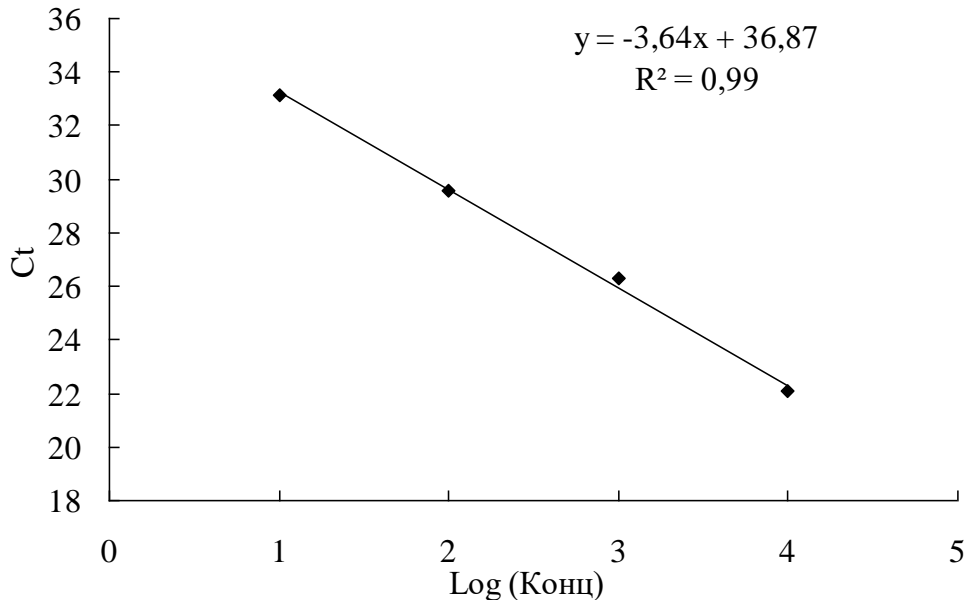


Рис. 5. График зависимости порогового цикла (C_t) референсного гена (*actin*) от логарифма исходной концентрации ДНК-матрицы (log конц.).

Эффективность ПЦР (E) по формуле:

$$E = 10^{1/a},$$

где а – коэффициент уравнения зависимости порогового цикла (C_t) от логарифма исходной концентрации ДНК – матриц. ПЦР для референсного и целевых генов протекала со сходной эффективностью, примерно равной 2.

Фрагментацию ДНК оценивали с помощью электрофоретического метода. ДНК выделяли согласно протоколу. Навеску листьев (50 мг) растирали в жидком азоте с добавлением TES-буфера, содержащего 100 мМ Трис-НСl (рН 8,0), 10 мМ ЭДТА, 2% ДДС-Na и 10 мМ β-меркаптоэтанол. После инкубации в течение 30 мин при 55°C к образцам добавляли 140 мкл 5М хлорида Na и 65-70 мкл 10% цетилтриаммоний бромиды. После инкубации при 65°C в течение 10 мин к образцам добавляли смесь хлороформа и изоамилового спирта (24:1 соотношение по объему). После инкубации в течение 30 мин при -20°C осаждали белки

центрифугированием. Нуклеиновые кислоты осаждали в изопропиловом спирте с добавлением 5М ацетата натрия. Осадок дважды промывали 70% этиловым спиртом, высушивали и растворяли в стерильной деионизованной воде. Раствор обрабатывали РНКазой (Синтол, Россия) в течение 2 ч при 37°C. ДНК очищали с помощью экстракции хлороформом и переосаждали. Осадок растворяли в стерильной деионизованной воде. Для электрофоретического разделения ДНК в лунки 1,5% агарозного геля вносили 5 мкг выделенной и очищенной ДНК. ДНК визуализировали в УФ-свете после окрашивания бромистым этидием.

Математическая обработка результатов

Каждый опыт повторялся не менее 3 раз. Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта 3-6 кратная, при анализе ростовых показателей – 50-кратная. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилки. В случае нормального распределения обшчет данных проводили, используя параметрические критерии, данные представлялись в виде средних арифметических значений и их стандартных ошибок, оценку достоверности различий проводили с помощью критерия Стьюдента (при $P \leq 0,05$). Если распределение отличалось от нормального (в случае данных по экспрессии генов), использовали непараметрические критерии (Вилкоксона-Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса).

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр РАН».

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Некоторые физиологические особенности реакций растений озимой пшеницы на высокотемпературные воздействия разной интенсивности

3.1.1. Теплоустойчивость клеток листьев

Теплоустойчивость клеток листьев, также как, их холодо-, заморозко- и морозоустойчивость существенным образом зависит от интенсивности и продолжительности температурного воздействия на растения (Александров, 1975; Туманов, 1979; Удовенко, 1979; Генкель, 1982; Дроздов и др., 1984; Коровин, 1984; Титов, 1989; Тарчевский, 2001; Титов и др., 2006; Кузнецов, 2009). Для ее изучения авторы применяют различные подходы. В одних случаях, растения подвергают кратковременному (от секунд до нескольких часов) воздействию экстремально высоких температур – тепловому шоку, в других случаях, теплоустойчивость оценивают после продолжительных (сутки и более) высокотемпературных воздействий.

В нашей работе изучен характер изменения теплоустойчивости листьев пшеницы при постоянном продолжительном воздействии на растения температур из диапазоне 29° – 45°C . Как показали исследования, теплоустойчивость остается неизменной при действии на растения температур 29° – 31°C (рис. 6). При действии температур 33° и 35°C зафиксировано небольшое, но статистически значимое повышение теплоустойчивости клеток листьев через 1 сут с достижением максимума через 2 сут. В дальнейшем этот уровень устойчивости сохранялся у растений на протяжении всего эксперимента (рис. 7. а, б). Отметим сходство в динамике теплоустойчивости при этих двух вариантах температурного воздействия, за тем исключением, что при температуре 35°C абсолютные значения теплоустойчивости были несколько выше, чем при 33°C .

Под влиянием температуры 37°C рост теплоустойчивости был отмечен уже через 30 мин, а её максимум зафиксирован спустя 2 сут (рис. 7, в). При 39°C теплоустойчивость возрастала также через 30 мин. При этом максимального значения теплоустойчивость достигала через 1 сут. Дальнейшее увеличение

экспозиции проростков растений при 37° и 39°С не вызывало дополнительного прироста теплоустойчивости (рис. 7, г).

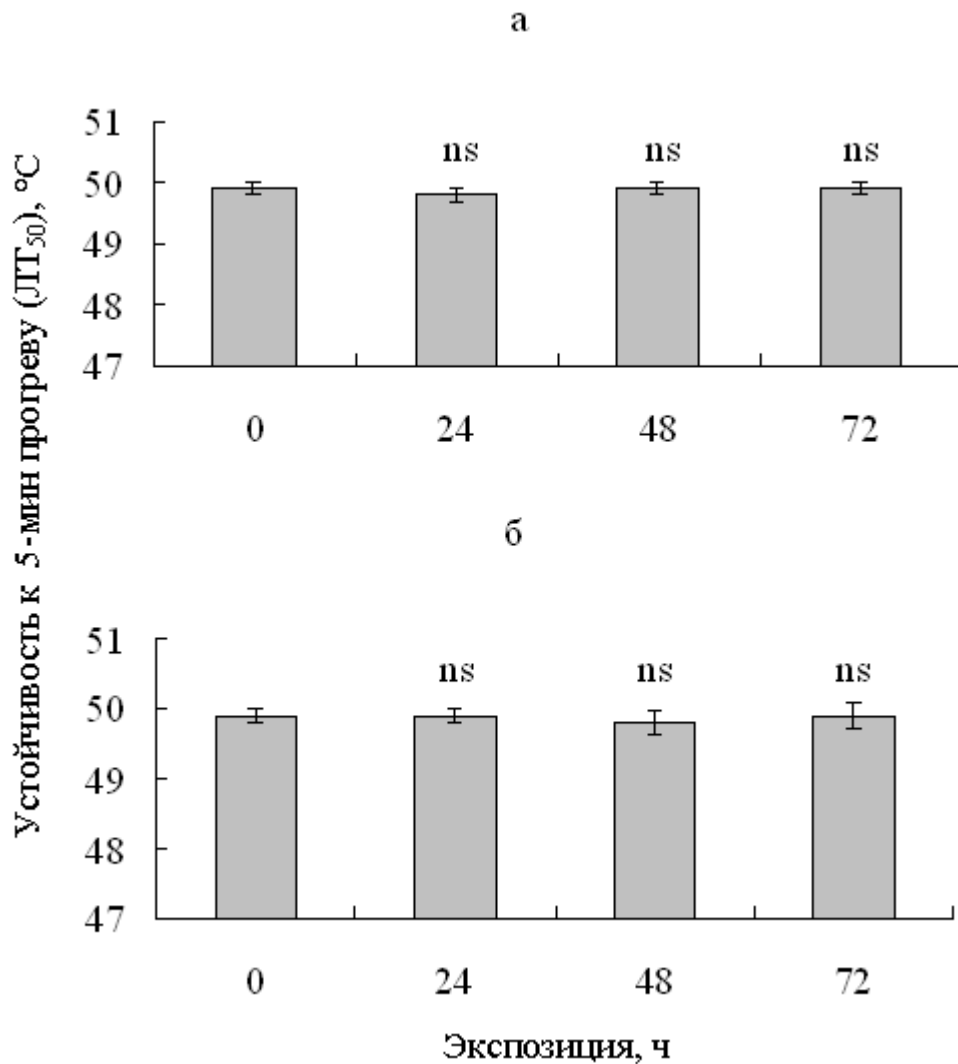


Рис. 6. Влияние высоких температур на динамику теплоустойчивости растений пшеницы с. Московская 39: а – 29°, б – 31°С.

ns – отсутствие статистически значимых отличий от исходного уровня при $p \leq 0,05$. Здесь и далее: исходный уровень – это значение показателя, зафиксированное у недельных проростков пшеницы, выращенных при температуре воздуха 22°С.

Так, из полученных результатов следует, что температуры 33°, 35°, 37° и 39°С оказывают однотипное влияние на теплоустойчивость растений, вызывая ее повышение. Согласно «зональной» гипотезе (Дроздов и др., 1977;1984; Титов, 1989; Титов и др., 2006) эти температуры следует отнести к зоне теплового закаливания. Однако количественно характер реакции растений существенным

образом зависел от интенсивности действующей на них температуры. С увеличением температуры воздуха повышение теплоустойчивости клеток листьев происходит быстрее, а прирост теплоустойчивости становится большим.

Характер ответной реакции растений на действие температур 41°, 43° и 45°С был иным. В частности, повышение теплоустойчивости клеток листьев наблюдали при температуре 41°С через 30 мин от начала прогрева. Однако устойчивость при этом увеличивалась только в течение первых суток эксперимента, а на 2-е сут она начинала снижаться (рис. 8, а).

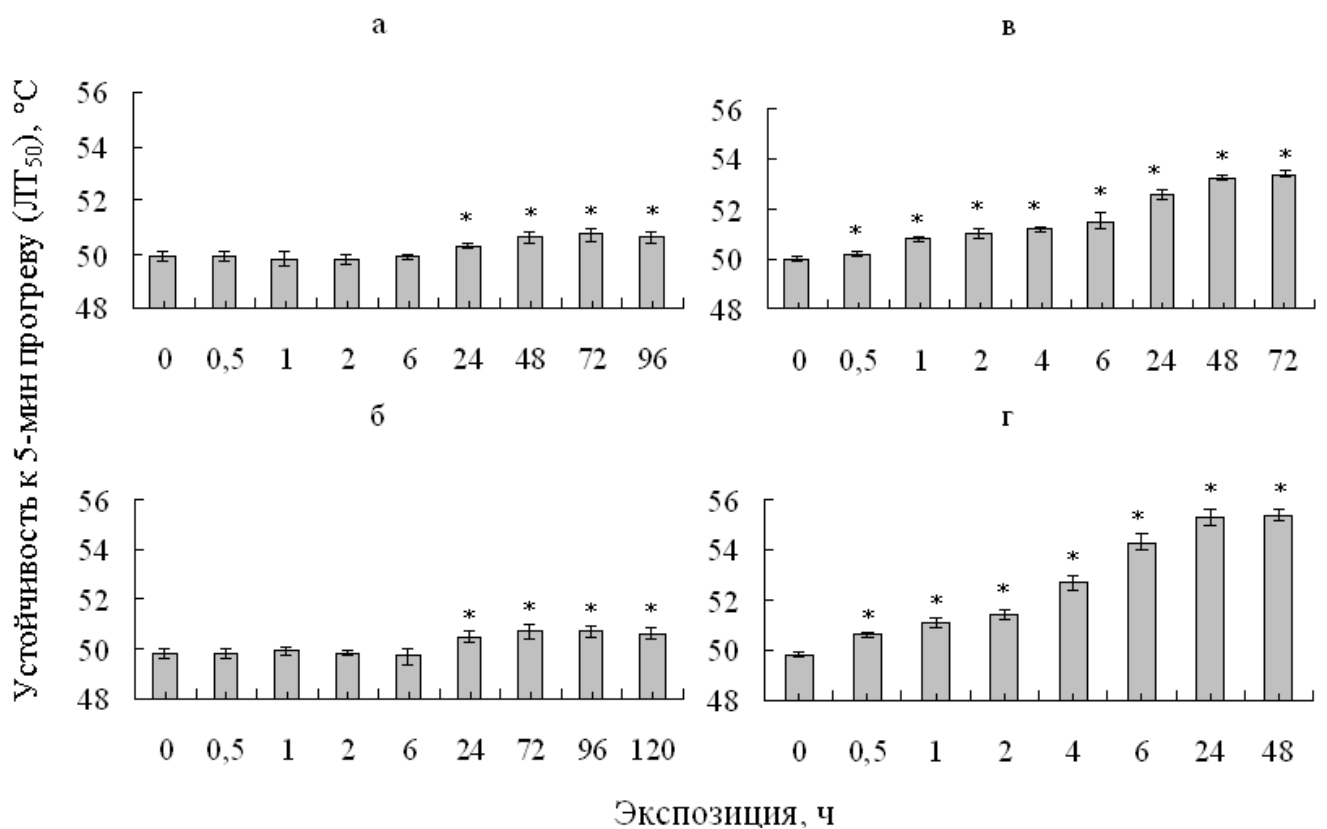


Рис. 7. Влияние высоких температур на динамику теплоустойчивости растений пшеницы с. Московская 39: а – 33°, б – 35°, в – 37°, г – 39°С.

Здесь и далее: * – отличия от исходного уровня статистически значимы при $p \leq 0,05$.

Более высокие температуры – 43° и 45°С – оказывали сходное действие на теплоустойчивость пшеницы: под их влиянием зафиксирован быстрый рост теплоустойчивости листьев уже в первые минуты воздействия, а затем - резкое её

снижение (рис. 8, б, в). Наблюдаемые в этом случае изменения характера реакции растений свидетельствует о том, что, действующие на них температуры относятся к зоне теплового повреждения. Отметим, что реакция растений на действие температур 43° и 45°С, как и в случае с температурами 33°, 35°, 37° и 39°С, различалась только количественно. В частности, при температуре 43°С теплоустойчивость возрастала и снижалась медленнее, чем при 45°С, но максимальный прирост теплоустойчивости при 43°С был выше, чем при 45°С.

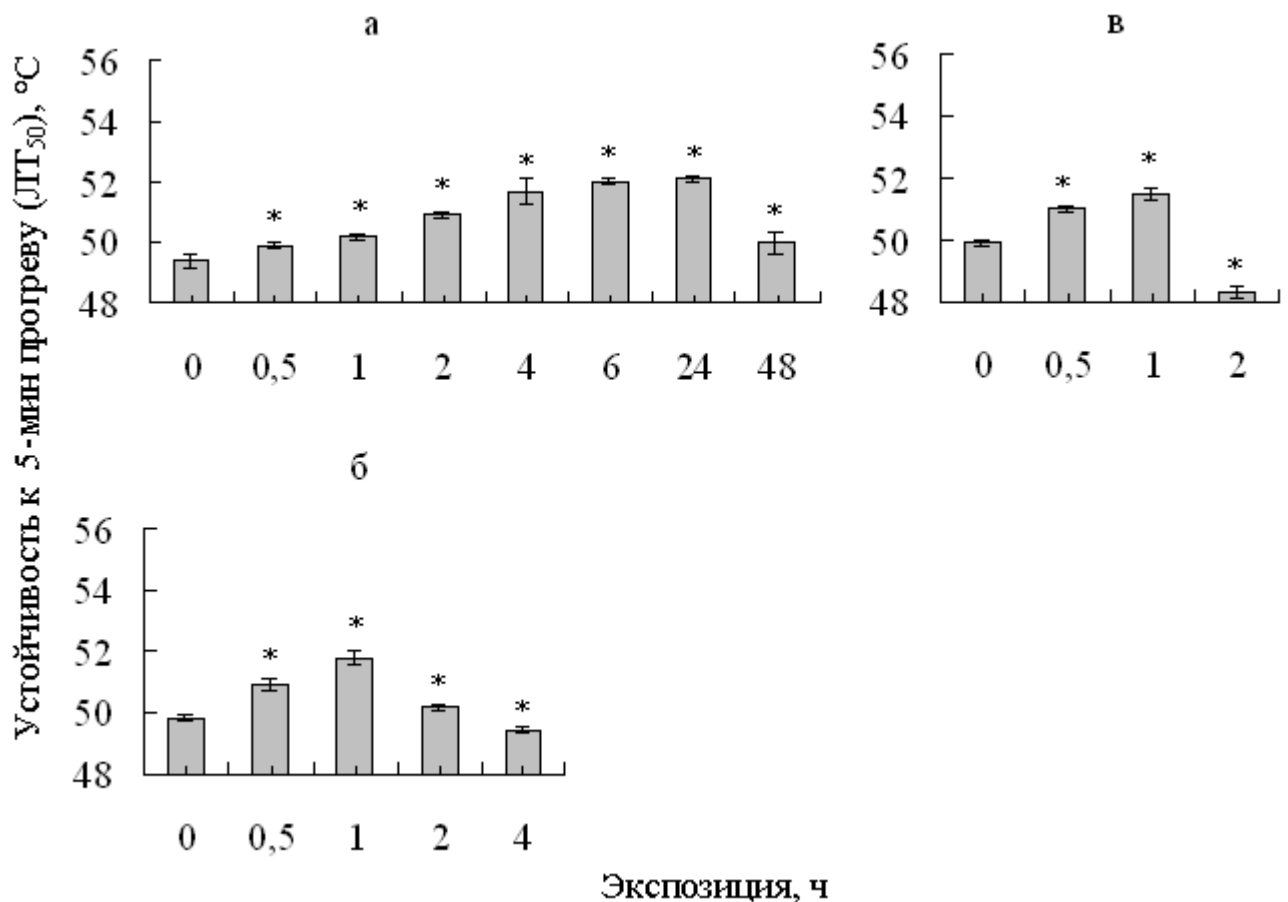


Рис. 8. Влияние высоких температур на динамику теплоустойчивости растений пшеницы с. Московская 39: а – 41°, б – 43°, в – 45°С.

Таким образом, проведенные исследования показали, что характер изменения теплоустойчивости листьев пшеницы варьируется как количественно, так и качественно в зависимости как от диапазона (зоны), к которому относится, действующая на растения температура, так и от интенсивности

высокотемпературного воздействия (в том случае, когда растения испытывают действие температур, относящихся к одной температурной зоне).

Исходя из полученных экспериментальных данных можно выделить два различных (по влиянию на теплоустойчивость растений) диапазона температур: от 33° до 39°С и от 41° до 45°С. Температуры, относящиеся к первому из них, вызывают постепенное повышение теплоустойчивости листьев пшеницы в течение первых суток воздействия, а затем после достижения максимальных значений теплоустойчивость не изменяется до конца эксперимента. Из литературы известно, что температуры, относящиеся к этому диапазону, оказывают существенное влияние не только на формирование теплоустойчивости, но и на другие физиологические процессы. Например, они приводят к уменьшению интенсивности фотосинтеза в листьях пшеницы (Pastenes, Horton, 1996; Ugarte et al., 2007; Bella et al., 2013; Begum, Nessa, 2014; Barlow et al., 2015; Niu, Xiang, 2018). Однако важно, что изменения в фотосинтетическом аппарате пшеницы при температурах, не превышающих 37,5°С, носят обратимый характер (Lu, Zhang, 2000). ФС II при таких температурах не повреждается или повреждается незначительно (Sharkey, 2005). Более того, кратковременная обработка растений температурами из этого диапазона приводит к повышению устойчивости ФС II к действию экстремально высоких температур (Navaux, 1993). Напротив, температуры из диапазона от 41° до 45°С первоначально вызывают быстрый (в течение нескольких минут) рост теплоустойчивости с последующим резким ее снижением. Сходные данные получены и другими авторами, которые показали, что температуры, превышающие 40°С вызывают у растений более значительные нарушения (Lu, Zhang, 2000; Fahad et al., 2017), зачастую являющиеся необратимыми (Yamane et al., 1998; Sinsawat et al., 2004; Mathur et al., 2011).

Наши дальнейшие исследования были направлены на оценку выживаемости растений и степени повреждения листьев после воздействия на них температур 33°, 37° и 43°С. Первая из этих температур, как следует из полученных нами данных, характеризуется слабым закаливающим эффектом, вторая – хорошо

выраженным закаливающим эффектом, а третья является повреждающей. Полученные результаты показали, что выживаемость растений, подвергнутых действию температур 33° и 37°С в течение 1 – 3 сут и затем перенесенных на отрастание в обычные условия (22°С в течение 7 сут), составляет 100%. При этом 1-й и 2-й лист не имели видимых признаков повреждения (табл. 2).

Таблица 2

Влияние высоких температур (33° и 37°С) на выживаемость растений и степень повреждения листьев пшеницы с. Московская 39, % от контроля

Экспозиция, ч	Выживаемость растений, %		Степень повреждения 1-го листа, %		Степень повреждения 2-го листа, %	
	33°	37°	33°	37°	33°	37°
24	100	100	0	0	0	0
48	100	100	0	0	0	0
72	100	100	0	0	0	0

В отличие от этого, через 7 сут отрастания при оптимальной температуре после воздействия температуры 43°С в течение 1 сут выживаемость растений слегка снижалась (до 95%), а степень повреждения листьев составляла 50% у 1-го листа и 25% у 2-го листа (табл. 3, рис. 9). В случае увеличения экспозиции растений до 2 сут выживаемость снижалась до 80%, степень повреждения 1-го листа достигала 65%, а 2-го листа – 45%. Действие температуры 43°С в течение 3 сут приводило к снижению выживаемости растений более, чем на 50% и к еще более значительным повреждениям 1-го и 2-го листа.

Таблица 3

Влияние высокой температуры (43°С) на выживаемость растений и степень повреждения листьев пшеницы с. Московская 39, % от контроля

Экспозиция при 43°С, ч	Выживаемость растений, %	Степень повреждения 1-го листа, %	Степень повреждения 2-го листа, %
24	95	50	25
48	80	65	45
72	15	80	75

Таким образом, температуры 33° и 37°С не оказывают влияния на выживаемость растений пшеницы сорта Московская 39 и не вызывают видимых признаков их повреждения, в то время как температура 43°С (и выше) не только приводит к снижению теплоустойчивости клеток листьев, но и к повреждению растений, а через 3 сут воздействия – к их гибели.



Рис. 9. Внешний вид растений пшеницы спустя неделю после воздействия температуры 43°С: а – контроль (22°С), б – 1 сут при 43°С, в – 3 сут при 43°С.

3.1.2. Рост и оводненность листьев

Наиболее активный рост растений происходит, как известно, при оптимальном значении температуры (или иного фактора), тогда как при минимальных или максимальных ее значениях ростовые процессы замедляются или даже полностью прекращаются (Гребинский, 1961; Hatfield, Prueger, 2015). Торможение роста растений принято рассматривать как первичную неспецифическую стрессовую реакцию на действие неблагоприятных факторов (Кудоярова, 2000; Шакирова, 2001; Чиркова, 2002).

В ходе наших исследований изучена динамика ряда биометрических показателей, характеризующих рост проростков пшеницы при действии высоких температур разной интенсивности. Опыты показали, что при воздействии на

растения температур 33°, 35° и 37°C происходит торможение ростовых процессов уже начиная с 1-х сут (табл. 4).

Таблица 4

Влияние высоких температур на суточный прирост в высоту растений
пшеницы с. Московская 39, % от контрольного уровня

Температура, °С	Экспозиция, сут					
	0	1	2	3	4	5
22 (контроль)	100	112*	121*	127*	142*	155*
33	100	107*	113*	114*	116*	117*
35	100	108*	113*	114*	115*	116*
37	100	104*	114*	115*	116*	116*
39	100	102*	103*	103*	103*	103*
41	100	100	100	100	100	100
43	100	100	100	100	-	-
45	100	100	-	-	-	-

За 100% принята высота растений (19,1±1,3 см) у семидневных проростков, находящихся при 22°C.

Прирост контрольных растений (22°C) на первые сутки эксперимента (8-дневные проростки) составлял 12%, а на 5-е – 55%. В случае с температурами 33°, 35° и 37°C прирост растений через 1 сут эксперимента не превышал 8%, а через 5 сут – 17%. Сходная картина была отмечена и в отношении температуры 39°C: по сравнению с контрольными растениями, прирост под ее влиянием резко снижался и составлял всего 3% на 5-е сут. О существенном влиянии супероптимальных, но не повреждающих температур на ростовые показатели проростков пшеницы свидетельствуют и данные литературы. Например, выращивание проростков пшеницы на стадии 3-х листьев при 40/35°C (день/ночь) в течение 14 дней приводило к снижению высоты стебля примерно на 25% и уменьшению количества листьев растения на треть по сравнению с растениями, находящимися в оптимальных температурных условиях (25/20°C) (Maulana et al., 2018).

Температуры от 41 до 45°C приводили к полной остановке роста растений уже через 1 сут от начала воздействия (табл. 4).

Аналогичные результаты получены при анализе динамики роста 1-го листа проростков пшеницы. У контрольных растений (22°C) прирост в длину 1-го листа составлял 15% и 31% на 1-е и 5-е сут соответственно. При температурах 33°, 35° и 37°C снижение темпов роста 1-го листа отмечено через 1 сут воздействия, которое продолжалось на протяжении всего эксперимента (табл. 5). Экспозиция растений при этих температурах в течение 1 – 5 сут вызывала незначительное снижение прироста 1-го листа относительно контроля, в среднем на 3-7% (прирост в длину 1-го листа составил не менее 11% через 1 сут и 24% через 5 сут). При действии температуры 39°C уменьшение прироста 1-го листа было более выражено. Прирост в длину первого листа составил 4 и 5% через 1 и 5 сут соответственно. Температуры 41 – 45°C вызывали полную остановку роста 1-го листа.

Таблица 5

Влияние высоких температур на суточный прирост в длину 1-го листа растений пшеницы с. Московская 39, % от контрольного уровня

Температура, °С	Экспозиция, сут					
	0	1	2	3	4	5
22 (контроль)	100	115*	127*	130*	131*	131*
33	100	118*	122*	124*	126*	126*
35	100	114*	120*	123*	123*	124*
37	100	111*	121*	123*	124*	124*
39	100	104*	104*	105*	105*	105*
41	100	100	100	100	100	100
43	100	100	100	100	-	-
45	100	100	-	-	-	-

За 100 % принята длина 1-го листа ($14,3 \pm 1,7$ см) у семидневных проростков, находящихся при 22°C.

Следует отметить, что наибольший ингибирующий эффект исследованные температуры оказывали на рост 2-го листа. Так, у контрольных растений (22°C) на 5-е сут опыта его прирост по отношению к исходному уровню достигал 262%, при 33 – 92%, при 35 – 90%, а при 37°C – только 66%. При 39°C и выше рост 2-го

листа полностью прекращался (табл. 6). Более выраженный негативный эффект высоких температур на рост 2-го листа можно объяснить тем, что у недельных проростков пшеницы 2-й лист находится в фазе активного роста, тогда как формирование 1-го листа близко к завершению, поэтому его рост замедляется даже в оптимальных условиях. Это подтверждают и данные, полученные другими авторами, исследовавшими влияние температуры 42°C в течение 1 сут на рост пшеницы (Savicka, Škute, 2010). В частности, ими отмечен более выраженный негативный эффект на рост первого листа у 4-дневных, по сравнению с 7-дневными, проростков пшеницы.

Таблица 6

Влияние высоких температур на суточный прирост в длину 2-го листа растений пшеницы с. Московская 39, % от контрольного уровня

Температура, °С	Экспозиция, сут					
	0	1	2	3	4	5
22 (контроль)	100	141*	190*	245*	311*	362*
33	100	122*	163*	164*	176*	192*
35	100	118*	141*	160*	177*	190*
37	100	111*	118*	142*	152*	166*
39	100	107*	111*	112*	112*	112*
41	100	100	100	100	-	-
43	100	100	-	-	-	-

За 100 % принята длина 2-го листа ($7,9 \pm 2,0$ см) у семидневных проростков пшеницы, находящихся при 22°C.

Наряду с линейным ростом у растений под влиянием высоких температур изменяются сырая и сухая биомассы, что связано с изменениями в процессах поглощения воды и ее испарения, синтеза органических веществ и энергии при фотосинтезе и дыхании (Головко, 1999; Климов, 2008; Креславский, 2007; 2014; Кудоярова, 2013;). Нами установлено, что при температурах 33° и 37°C накопление сырой и сухой биомассы побега пшеницы не прекращается, однако этот показатель становится несколько ниже, чем при 22°C (рис. 10). При

температуре 43°C изменений в накоплении сухой биомассы также несколько снижалось относительно растений, выращенных при 22°C, в то время как содержание сырой биомассы резко уменьшалось даже по сравнению с исходным уровнем уже через 1 сут от начала ее воздействия.

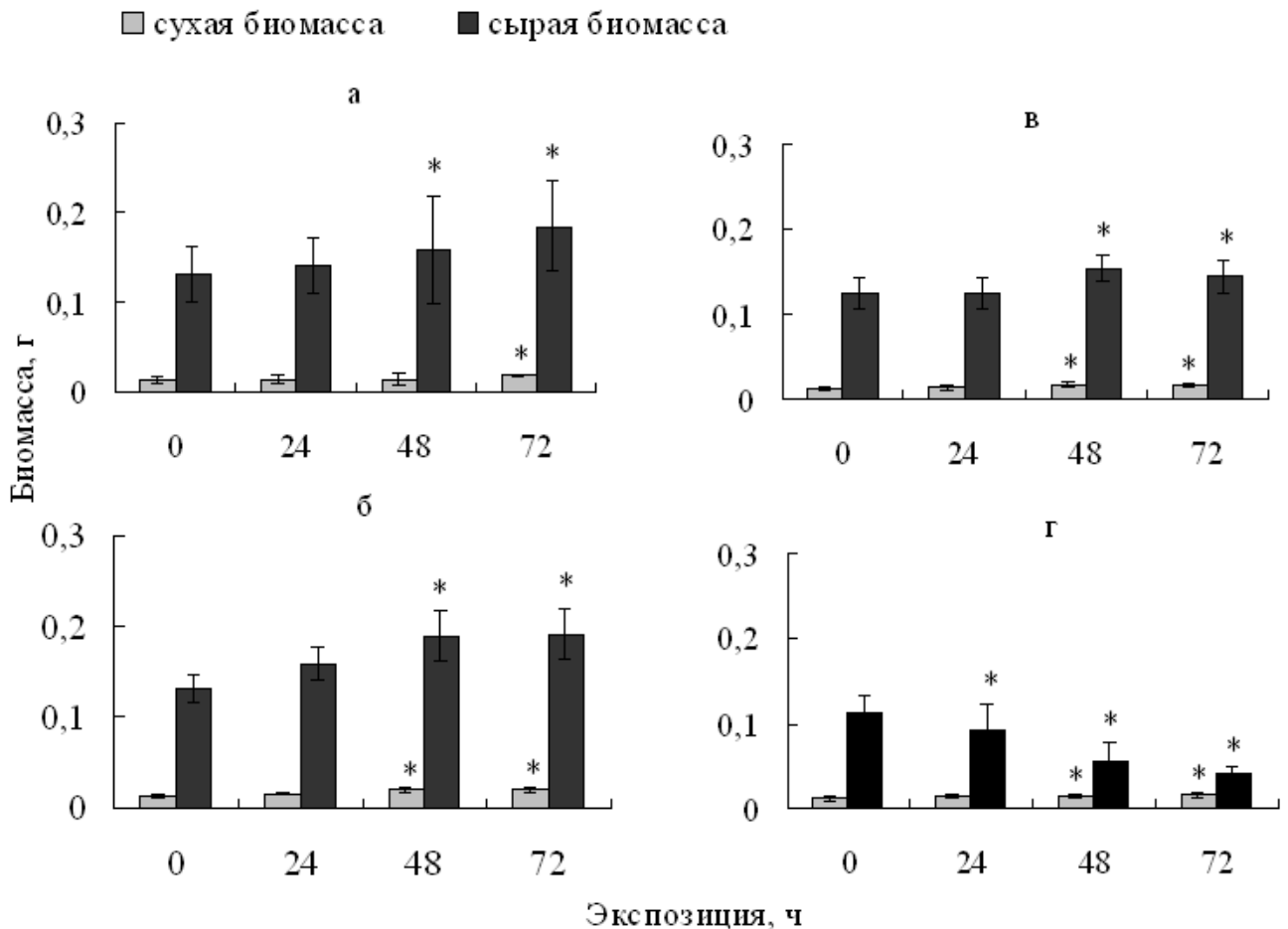


Рис. 10. Влияние высоких температур на динамику накопления сухой и сырой биомасса побега пшеницы с. Московская 39: а – 22°, б – 33°, в – 37°, г – 43°C ч.

Известно, что действие высоких температур оказывает сильное влияние на водный статус растений (Фархутдинов и др., 2003; Кудоярова, 2014; Akter, Islam, 2017), и такое снижение накопления сырой биомассы, вероятно, связано не только с торможением роста, но и с изменением содержания воды в тканях листа пшеницы. Нами установлено, что если при действии температур 33° и 37°C содержание воды в тканях листа не изменялось, то при 43°C зафиксировано значительное снижение этого показателя (на 6, 22 и 30% через 1, 2 и 3 сут,

соответственно) (табл. 7), что, очевидно, усугубляет негативное влияние экстремально высокой температуры на растения.

Таблица 7

Влияние высоких температур на содержание воды в тканях
листа растений пшеницы, в %

Температура, °С	Экспозиция, сут			
	0	1	2	3
33	90	90	89	91
37	90	88	88	88
43	90	84*	68*	60*

Отсутствие значительных изменений в накоплении сырой и сухой биомассы и в оводненности листьев растений при 33° и 37°С может быть свидетельством их устойчивости к действию указанных температур. В литературе имеются аналогичные данные, полученные при исследовании устойчивых растений, подвергнутых действию умеренно повышенной температуре (не выше 35°С). В этих условиях сырая биомасса у растений снижается незначительно, а сухая биомасса не изменяется (Zhou et al., 2017). Небольшое снижение сырой биомассы растений и содержания воды в тканях их листьев в начальный период действия высоких температур, по всей вероятности, происходит вследствие снижения водоудерживающей способности растений (Жолкевич и др., 1989; Кудоярова и др., 2007; Кудоярова и др., 2014). Серьезные потери воды и снижение накопления сырой биомассы пшеницы сорта Московская 39 при температуре 43°С могут являться признаками их повреждения (Кудоярова, 2013). Из литературы следует, что падение оводненности тканей растений и резкое уменьшение их биомассы (по отношению к контролю) часто сопровождается другими признаками повреждения растений и даже активацией процесса ПКГ (Ferris et al., 1998; Porter, Gawith, 1999; Egorova et al., 2011). Например, у растений маша наряду с уменьшением сырой биомассы при действии высоких температур (50° – 55°С) отмечена фрагментация ДНК, которая является характерным признаком развития ПКГ (Egorova et al., 2011).

Таким образом, с повышением теплоустойчивости растений, наблюдаемым под влиянием закаливающих температур $33^{\circ} - 39^{\circ}\text{C}$, возрастает степень ингибирования их роста, что, очевидно, связано с определенными изменениями в метаболизме растений, и прежде всего с торможением процессов, необходимых для активного роста и развития растений, и с активацией различных защитных механизмов. Напомним, что адаптация растений к действию высоких температур является энергоемким процессом (Talanova et al., 1983; Чиркова, 2002; Hüve et al., 2011). Усиление дыхания в начальный период действия высоких температур обеспечивает клетку дополнительной энергией (Гармаш, 2016). Одновременно с этим может происходить снижение скорости фотосинтеза, что при достаточно интенсивном высокотемпературном воздействии приводит к истощению дыхательных субстратов и/или нарушению синтеза АТФ (Atkin et al., 2005; Sicher, 2015). В силу этого обстоятельства, а также из-за нарушения других физиологических процессов, например, водного обмена и минерального питания (см. раздел 1.1), более высокие температуры ($41^{\circ} - 45^{\circ}\text{C}$) приводят к резкому снижению устойчивости растений, что является следствием развития деструктивных процессов.

Представленные выше данные об устойчивости и выживаемости растений пшеницы, изменении ростовых показателей, оводненности тканей листа, а также анализ литературных данных позволили нам не только ранжировать изученные температуры относительно характера их действия на указанные показатели жизнедеятельности растений, но и выбрать температуры и экспозиции, необходимые для дальнейшего изучения биохимических и молекулярно-генетических особенностей реакций проростков пшеницы на высокотемпературные воздействия разной интенсивности.

3.2. Некоторые биохимические особенности реакций растений озимой пшеницы на высокотемпературные воздействия разной интенсивности

Предполагается, что устойчивость растений к различным стрессорам тесно связана с активностью ферментов АОС и содержанием АФК (Møller, 2001; Полесская, 2007; Møller et al., 2007; Колупаев, Карпец, 2010; Gill, Tuteja, 2010; Креславский, 2012; Шарова, 2016;). В небольших концентрациях АФК могут выступать в роли сигнальных молекул и активировать защитные реакции (в том числе активацию ферментов АОС), однако в высоких концентрациях они способствуют развитию деструктивных процессов и являются основной причиной повреждения растений. В частности, чрезмерная генерация АФК является причиной перекисного окисления липидов (Chemielowska-Bak et al., 2015; Kong et al., 2016; Khan et al., 2017). Для защиты от негативного воздействия АФК у растений функционирует АОС. Одним из ключевых ферментов АОС является СОД. Этот фермент относится к ферментам первого уровня защиты биологических структур от АФК (ApeI, Hirt, 2004; Прадедова и др., 2011), он катализирует дисмутацию супероксидного анион-радикала в пероксид водорода (Бараненко, 2006). В целом, как генерация АФК, так и активизация ферментов АОС относится к первому этапу ответа растений на стресс – «первичной индуктивной стрессовой реакцией» (Полевой, 1989; Чиркова, 2002) или к «неспециализированной стрессорной реакции» (Холодова и др., 2001; Кузнецов, 2009).

3.2.1. Динамика активности в листьях супероксиддисмутазы (СОД)

В ходе нашего исследования установлено, что активность СОД в листьях проростков пшеницы при 33°C не изменяется в течение всего эксперимента (рис. 11). Под влиянием температуры 37°C активность СОД статистически значимо возрастала на 2-е и 3-и сут. Действие температуры 43°C приводило к очень быстрой активизации фермента СОД: его активность повышалась уже через 15

мин и продолжала возрастать до конца опыта. При этом активность СОД при 43°C была значительно выше, чем при 37°C.

Несмотря на то, что активизация ферментов АОС в настоящее время считается одним из основных механизмов повышения теплоустойчивости, в нашей работе максимальная активность СОД отмечена при повреждающей температуре 43°C. Дело в том, что активность ферментов, в том числе и СОД, зависит от температуры. В соответствии с правилом Вант-Гоффа, повышение температуры на 10°C в диапазоне, в котором ферменты сохраняют нативную структуру, способствует увеличению скорости ферментативных реакций в 2 – 3 раза (Хочачка, Сомеро, 1988; Семиохин, 2001). Температурный оптимум для многих ферментов составляет 30 – 45°C (Хочачка, Сомеро, 1988; Hasanuzzaman et al., 2013). Это может являться одной из причин более высокой активности СОД при температуре 43°C, по сравнению с температурой 37°C.

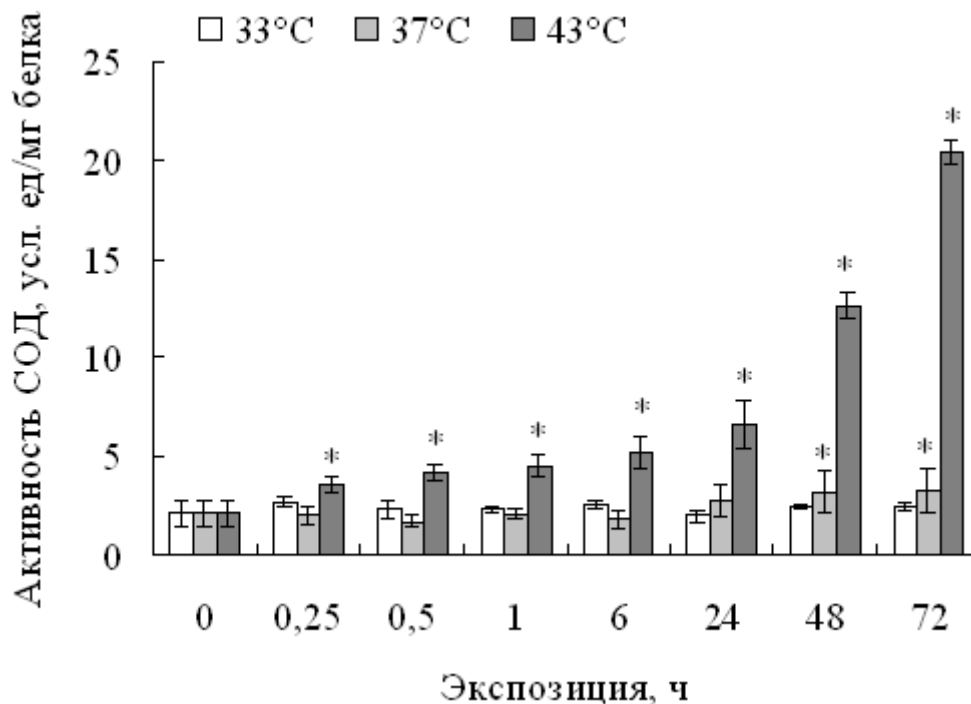


Рис. 11. Влияние высоких температур на динамику активности СОД в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Наши результаты согласуются с данными, полученными другими авторами. Так, показано, что в диапазоне от 20 до 40°C (Kumar et al., 2012) и от 25 до 46°C (Satbhai et al., 2015) максимальная активность СОД наблюдается при 40°C и 46°C, соответственно. Также с увеличением температуры повышается не только активность ферментов, но и транскрипционная активность генов, кодирующих у пшеницы митохондриальную СОД (Kumar et al., 2013). Повышение активности СОД способствует снижению интенсивности окислительного повреждения клеток растений при действии умеренно высоких температур, что, в свою очередь, может быть одной из причин стабильности фотосинтетического аппарата, мембранных структур (Almeselmani et al., 2006) и повышения устойчивости пшеницы при действии температуры 37°C.

Активность СОД также во многом зависит от содержания в клетке АФК (Badawi et al., 2007; Wang et al., 2010; Ara et al., 2013; Guan et al., 2017). В связи с этим, следующим этапом нашего исследования стало изучение динамики образования АФК в листьях проростков пшеницы при высокотемпературных воздействиях разной интенсивности.

3.2.2. Образование в листьях супероксид анион-радикала

В растительной клетке постоянно происходит образования АФК, среди которых наиболее важными формами считаются синглетный кислород, супероксид анион-радикал, пероксид водорода, гидроксильный радикал. Действие высоких температур на растение приводит к избыточной продукции в их клетках АФК (Qu et al., 2013). Генерация АФК происходит в пероксисомах, апопласте и при нарушении электрон-транспортной цепи хлоропластов и митохондрий. Супероксид анион-радикал является одной из первых молекул, образующихся вследствие неполного восстановления кислорода до воды (Полесская, 2007).

Нами установлено, что действие высоких температур на растения пшеницы приводит к усилению образования супероксид анион-радикала в их листьях. При температуре 33°C повышение уровня генерации супероксид анион-радикала

отмечено только через 4 и 24 ч эксперимента, а через 72 ч этот показатель возвращался к уровню контроля (рис. 12 а, б).

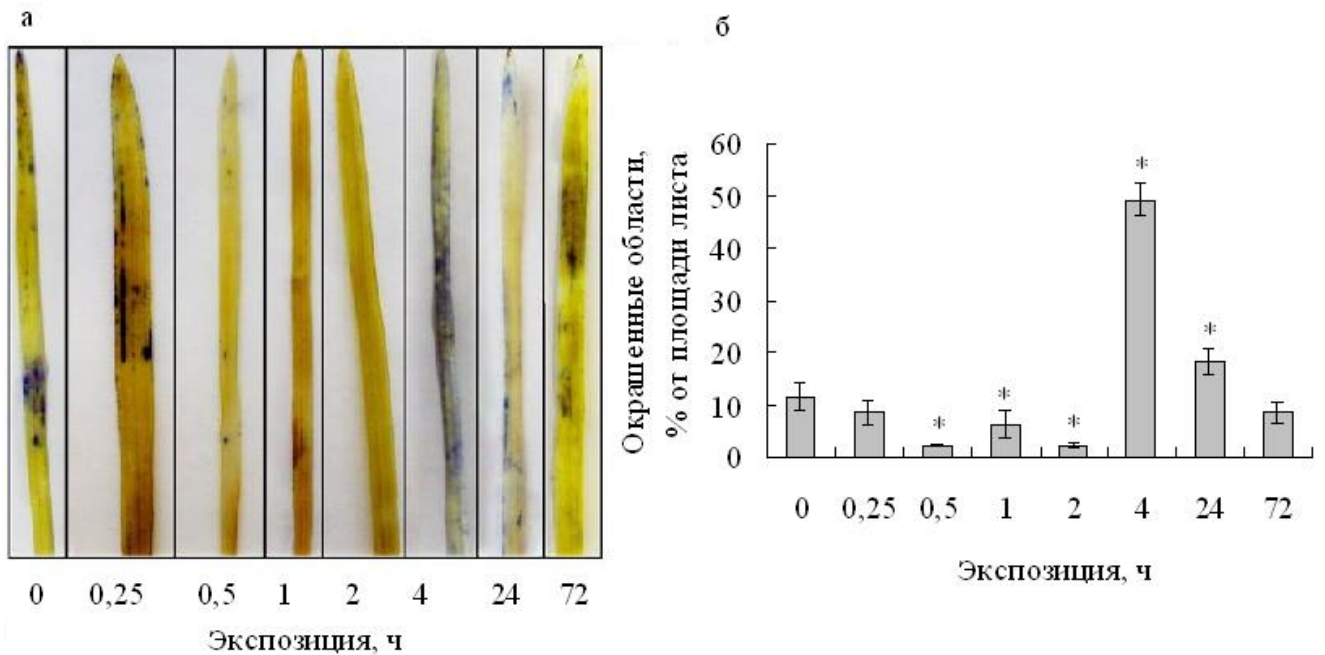


Рис. 12. Влияние температуры 33°C на образование супероксид анион-радикала в листьях растений пшеницы с. Московская 39: а – внешний вид, б – % от площади листа.

В отличие от этого, под влиянием температуры 37°C усиление образования супероксид анион-радикала происходило уже через 15-30 мин. Однако через 1 ч его генерация снижалась, а через 3 сут снова повышалось (рис. 13 а, б). Интересно, что при действии температуры 43°C образование супероксид анион-радикала через 15 и 30 мин эксперимента не изменялась. Формирование супероксид анион-радикала отмечено только через 1 и 2 ч эксперимента, через 4 ч этот показатель снова снижался до уровня контроля (рис. 14 а, б).

Другими авторами отмечено, что усиление генерации супероксид анион-радикала происходит в листьях пшеницы как при температурах 35°C (Wang et al., 2014; El-Beltagi et al., 2016), так и при более высоких температурах 40°C – 42°C (El-Beltagi et al., 2016; Nahar et al., 2017; Luo et al., 2018). В ходе наших исследований установлено, что характер динамики образования супероксид

анион-радикала изменяется в зависимости от интенсивности высокотемпературного воздействия.

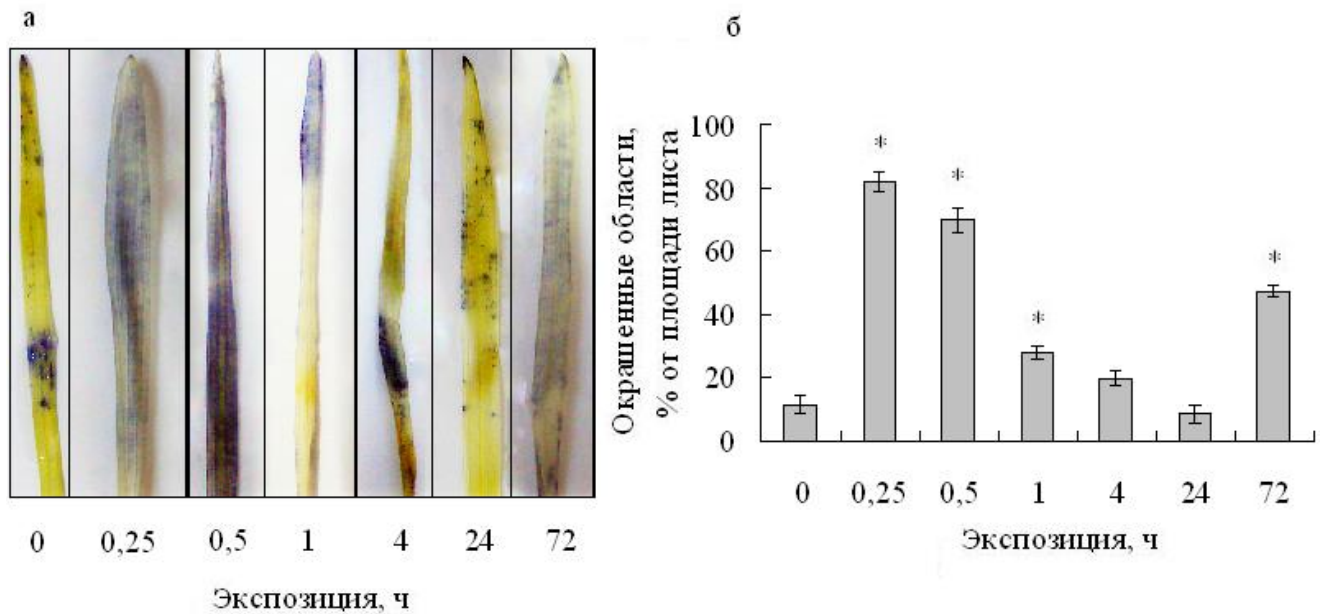


Рис. 13. Влияние температуры 37°C на образование супероксид анион-радикала в листьях растений пшеницы с. Московская 39: а – внешний вид, б – % от площади листа.

В обычных условиях (температура воздуха 22°C) образуется незначительное количество супероксид анион-радикала, и это соответствует нормальному процессу жизнедеятельности. При действии всех исследуемых температур (33, 37 и 43°C) наблюдалось большее или меньшее увеличение генерации супероксид анион-радикала в листьях пшеницы. Однако данный процесс происходил при разных температурах по-разному. Так, при температуре 33°C усиление образования супероксид анион-радикала отмечено через несколько часов, при 37°C – уже в первые минуты эксперимента. При самом интенсивном высокотемпературном воздействии (43°C) накопление в тканях листа фиолетового преципитата формазана происходило только через 1 и 2 ч эксперимента, что, вероятно, связано с высокой активностью СОД в условиях действия температуры 43°C.

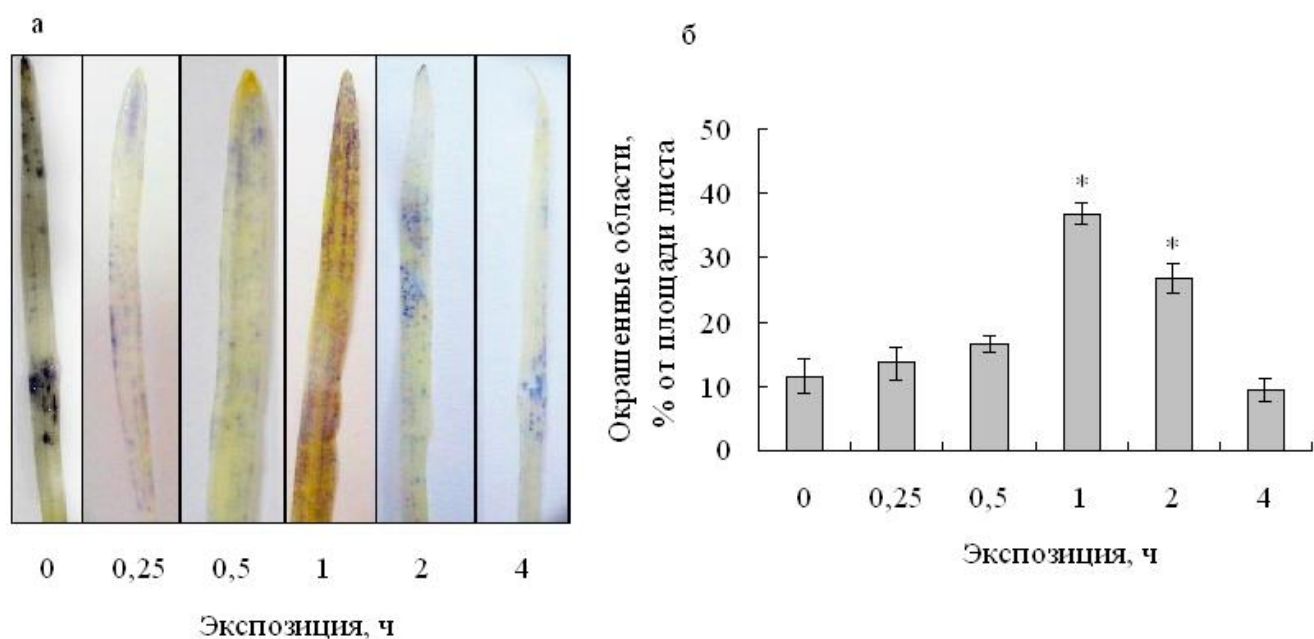


Рис. 14. Влияние температуры 43°C на образование супероксид анион-радикала в листьях растений пшеницы с. Московская 39: а – внешний вид, б – % от площади листа.

Анализ литературных данных показывает, что генерация супероксид анион-радикала является неспецифической реакцией растений на действие многих стрессоров (Bai et al., 2009; Колупаев, Карпец, 2010; Baek, Skinner, 2012; Demidchik, 2012; Jajic et al., 2015; Ma et al., 2017; Nahar et al., 2017; Prasad et al., 2017; Mir et al., 2018; Zhao et al., 2018;). Однако важно, что супероксид анион-радикал не только приводит к повреждению мембран, но и является компонентом сигнальной системы растений; его генерация индуцирует экспрессию ряда супероксид-чувствительных генов, в том числе *WRKY30* (Scarpeci et al., 2008). Поэтому усиление его образования при действии высоких температур также можно расценивать как часть защитно-приспособительных реакций растений. Но поскольку время полужизни супероксид анион-радикал составляет всего несколько микросекунд и он не успевает перемещаться в другие части клетки от места своего образования (Takahashi, Asada, 1983; Dat et al., 2000), его участие в реакциях растений на стресс изучено пока слабо. Далее наши исследования были направлены на изучение другой, более стабильной АФК – пероксида водорода.

3.2.3. Образование в листьях пероксида водорода

Пероксид водорода является наиболее долгоживущей и реакционноспособной молекулой АФК (Yang, Poovaiah, 2002; Quan et al., 2008; Креславский и др., 2012;), он способен окислять важнейшие соединения в клетке, такие как липиды, белки, нуклеиновые кислоты и др., а также участвует в различных биологических процессах (росте, развитии, защите от патогенов и формировании сигнала, приводящего к повышению устойчивости растений к абиотическим факторам) (Mullineaux et al., 2006; Møller et al., 2007; Mullineaux, Baker, 2010). Известно, что пероксид водорода принимает участие в регуляции экспрессии многих генов в ответ на действие высоких температур (Креславский и др., 2012; Wrzaczek et al., 2013; Suriyasak et al., 2017;), включая гены, кодирующие белки АОС и HSF (Mullineaux et al., 2000). Интересно, что в ответ на действие экстремально высоких температур в клетках растений наблюдается увеличение уровня мРНК генов и белков с прооксидантными функциями. Например, у растений риса высокие температуры стимулировали экспрессию гена *OsNox5-9*, кодирующего НАДФН-оксидазу плазматической мембраны (Wang et al., 2013). Этот фермент использует пероксид водорода для окисления НАДФН до НАД⁺, что, в свою очередь, редуцирует O₂ до O₂^{•-} (Bolwell et al., 1995; Bhattacharjee, 2012). Супероксид затем дисмутирует с образованием пероксида водорода и кислорода (Bhattacharjee, 2012).

Результаты проведенных исследований показали, что при температуре 37°C через 15 мин уровень образования пероксида водорода снижался. Через 30 мин действия этой температуры его содержание не отличалось от контроля, затем, через 24 ч снова уменьшалось (рис. 15 а, б). Через 48 и 72 ч от начала теплового воздействия наблюдали увеличение образования пероксида водорода. При температуре 43°C отмечено повышение уровня пероксида водорода (рис. 16 а, б). Особенно это было выражено через 48 и 72 ч эксперимента.

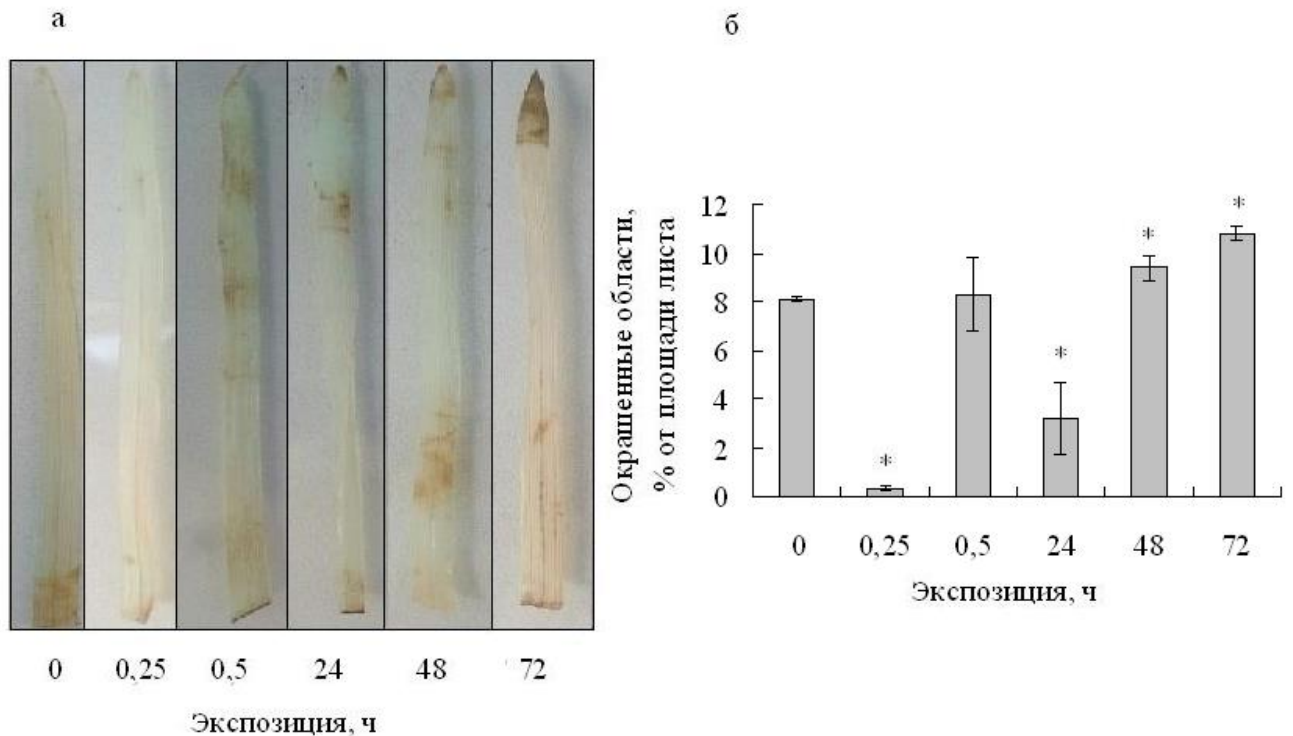


Рис. 15. Влияние высокой температуры 37°C на образование пероксида водорода в листьях растений пшеницы с. Московская 39: а – внешний вид, б – % от площади листа.

Таким образом, с повышением интенсивности температурного воздействия содержание пероксида водорода увеличивается. Снижение генерации супероксид анион-радикала и накопление пероксида водорода при закаливании проростков пшеницы в условиях температуры 37°C свидетельствует, по нашему мнению, об эффективной работе СОД. В ходе наших исследований действия температуры 43°C, также отмечена высокая активность СОД (рис. 11) и накопление перекиси водорода. Однако, как показано в разделе 3.1, при длительных экспозициях (24 – 72 ч) при 43°C проявляются признаки повреждения растений и даже наступает их гибель. Очевидно, в этом случае АОС уже не справляется с сильно возросшим уровнем АФК, и накопление АФК становится одной из причин сильного (и необратимого) повреждения различных структур клетки, что ведет к гибели растений.

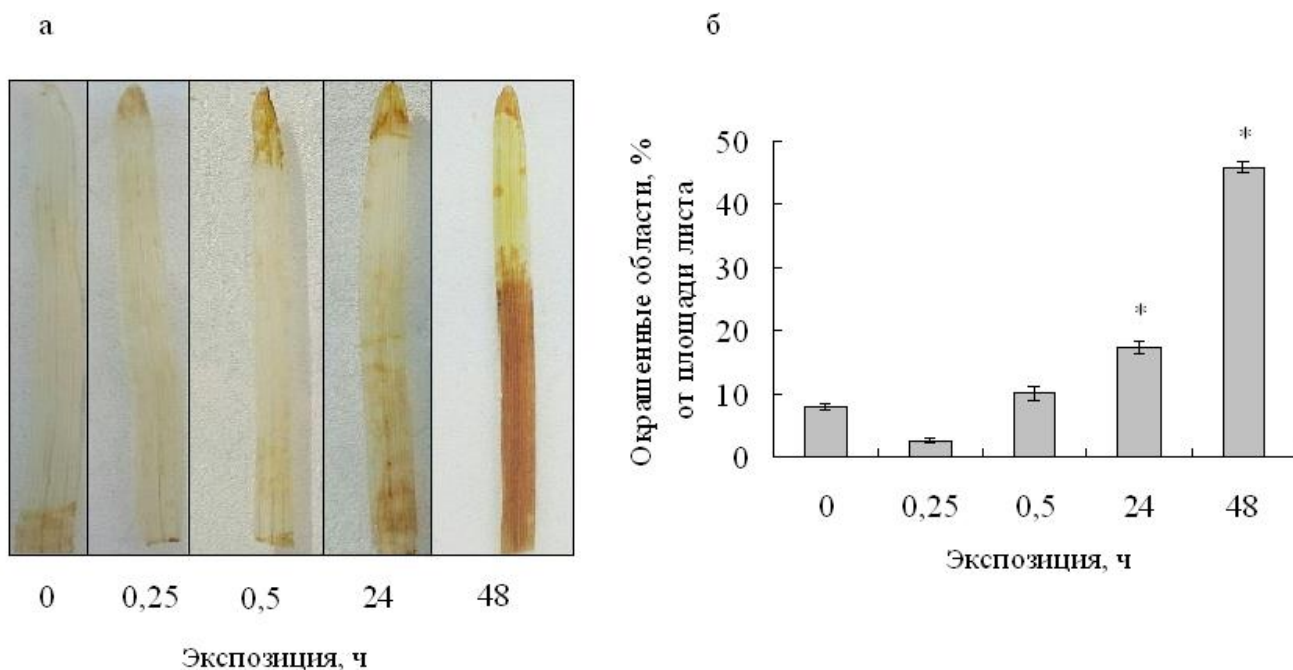


Рис. 16. Влияние высокой температуры 43°C на образование пероксида водорода в листьях растений пшеницы с. Московская 39: а – внешний вид, б – % от площади листа.

3.2.4. Динамика содержания в листьях малонового диальдегида (МДА)

Предполагается, что супероксид анион-радикал и пероксид водорода инициируют каскад реакций, которые приводят к образованию гидроксильного радикала (Noctor, Foyer, 1998). Перечисленные АФК, как уже отмечалось, участвуют в перекисном окислении липидов (ПОЛ). Считается, что повышение уровня ПОЛ свидетельствует о повреждении мембран и влечет за собой гибель клеток и всего растения (Chmielowska-Bąk et al., 2015; Khan et al., 2017). МДА представляет собой высокореакционноспособную молекулу, которая является побочным продуктом окисления полиненасыщенных жирных кислот – фосфолипидов, входящих в состав клеточных мембран (Asthir, 2015). Повышение уровня МДА в клетках в целом является неспецифической реакцией растений на действие неблагоприятных факторов среды (Kong et al., 2016).

В ходе нашего исследования было установлено, что высокотемпературные воздействия разной интенсивности неодинаково влияют на накопление МДА в

листьях пшеницы (таб. 8). При температуре 33°C содержание МДА в листьях растений не изменялось. В то же время, при действии температуры 37°C статистически значимое повышение концентрации МДА в листьях наблюдалось только через 1 и 2 сут от начала эксперимента. Причем через 2 сут уровень МДА был значительно выше, чем через 1 сут воздействия. Температура 43°C, так же как и 37°C, индуцировала накопление МДА в листьях пшеницы через 1 и 2 сут, однако в этом случае его содержание было много выше, чем при действии температуры 37°C.

Полученные данные свидетельствуют о том, что с повышением интенсивности температурного воздействия содержание МДА в листьях пшеницы возрастает, а следовательно, усиливается и ПОЛ. Эти результаты согласуются с литературными данными. Например, экспонирование растений пшеницы при 35°C в течение суток не приводило к накоплению МДА в тканях листьев (Khan et al., 2017). Тем не менее, при умеренно высоких температурах может происходить небольшое увеличение концентрации МДА даже у генотипов пшеницы с высоким уровнем теплоустойчивости (Sanghera, Thind, 2016). Более высокие температуры (40 и 45°C) способствуют резкому повышению его уровня и повреждению растений (Khan et al., 2017).

Таблица 8

Влияние высоких температур на содержание малонового диальдегида (МДА) в листьях растений пшеницы с. Московская 39, мкМ/г сырого веса

Экспозиция, ч	Температура, °C		
	33	37	43
0	12,7 ±1,7	12,7 ±1,7	12,7 ±1,7
0,25	13,0 ±2,1	11,6 ±1,0	12,9 ±0,1
0,5	13,1 ±2,2	12,9 ±2,0	13,3 ±1,6
1	14,6 ±2,2	12,2 ±1,2	12,8 ±1,3
6	15,8 ±3,4	13,2 ±0,1	21,4 ±1,3
24	11,5 ±1,6	19,3 ±1,7*	42,3 ±1,9*
48	10,3 ±0,1	20,5 ±0,5*	103,3±8,0*

Обобщая все вышеизложенное, можно заключить, что направленность биохимических реакций существенным образом зависит от интенсивности высокотемпературного воздействия. Температура 33°C практически не влияла на изученные нами показатели. Особенно важно, что при действии этой температуры не изменялась активность СОД, и не происходило накопление МДА, однако повышалась теплоустойчивость (см. раздел 3.1). Очевидно, это свидетельствует о высокой стабильности мембран (Sanghera, Thind, 2016). Тем не менее, у растений под влиянием температуры 33°C замедлялся рост (см. раздел 3.1), т. е. действие этой температуры приводит к определенным отклонениям в организме растений от нормы или к развитию «мягкого» стресса.

Более высокая температура (37°C) индуцировала повышение активности СОД, но в то же время вызывала умеренное накопление МДА в листьях пшеницы. Несмотря на это растения характеризовались высокой теплоустойчивостью (см. раздел 3.1). Можно предположить, что при такой интенсивности высокотемпературного воздействия в структуре мембран и других внутриклеточных компартментов появляются определенные нарушения, но они являются обратимыми – растения успешно с ними справляются за счет активации защитных механизмов. Соответственно, действие этой температуры можно классифицировать как «средний» стресс.

При 43°C высокая активность СОД уже не способна в полной мере компенсировать повреждающие эффекты, вызванные действием этой температуры (генерацию АФК, особенно пероксида водорода, и значительное накопление МДА). Поэтому теплоустойчивость растений при 43°C возрастала только в первые часы температурного воздействия, а далее было отмечено ее резкое снижение, повреждение и гибель растений (см. раздел 3.1), что говорит о развитии «жесткого» стресса. Таким образом, с увеличением интенсивности высокотемпературного воздействия до определенного предела, с одной стороны, возрастает сопротивляемость растений, с другой стороны, постепенно развиваются и нарастают деструктивные процессы, и, как следствие, наблюдается повреждение клеток и тканей растения.

3.3. Некоторые молекулярно-генетические особенности реакций растений озимой пшеницы на высокотемпературные воздействия разной интенсивности

В последние годы при изучении устойчивости растений к действию высоких температур особое внимание уделяется молекулярно-генетическим механизмам и прежде всего механизмам, затрагивающим функциональную активность генетического аппарата. В целом ряде работ показано, что повышение устойчивости растений, наблюдаемое в ответ на действие высокой температуры, непосредственно связано с изменениями в экспрессии достаточно большого числа генов (Rizhsky et al., 2002; Volkov et al., 2003). Так, в геноме пшеницы (*Triticum aestivum* L.), который составляет около 107 000 генов (Brenchley et al., 2012; Appels et al., 2018), при воздействии температуры 40°C в течение 1 ч усиливается экспрессия более 5000 генов, а экспрессия более 6000 генов, наоборот, снижается (Liu et al., 2015). При этом 117 генов, экспрессия которых повышается в ответ на действие высоких температур, кодируют различные HSP (Qin et al., 2008). Важно, что одной из главных причин повреждения и гибели растений при действии высоких температур является инактивация и денатурация белков (Лархер, 1978; Косаковская, 2008; Кузнецов, 2009). Поэтому одним из наиболее важных молекулярно-генетических механизмов повышения устойчивости растений в настоящее время считается активация экспрессии генов, кодирующих белки системы контроля качества белка (Qu et al., 2013). К этим белкам прежде всего относят шапероны, а именно HSP.

3.3.1. Динамика содержания в листьях транскриптов генов *HSP*

В последние 20-30 лет многочисленные исследования доказали, что синтез HSP является обязательным условием приобретения растениями высокой теплоустойчивости и завершающим этапом клеточного ответа на высокотемпературные воздействия (Usman, 2014).

Нами было показано, что динамика экспрессии гена *HSP70*, кодирующего цитоплазматический HSP с молекулярной массой 70 кДа, при действии на растения температур 33, 37 и 43°C в целом является схожей: статистически значимое увеличение содержания мРНК этого гена наблюдали уже через 15 мин от начала теплового воздействия, но после достижения максимального уровня через 1 ч происходило его снижение (рис. 17). Отмечены также статистически значимые различия между температурными вариантами в пределах каждой экспозиции. В целом при температуре 43°C содержание мРНК гена *HSP70* в клетках листьев было значительно выше через 30 мин, 1 и 6 ч и значительно ниже через 24 и 72 ч, чем при температурах 33 и 37°C.

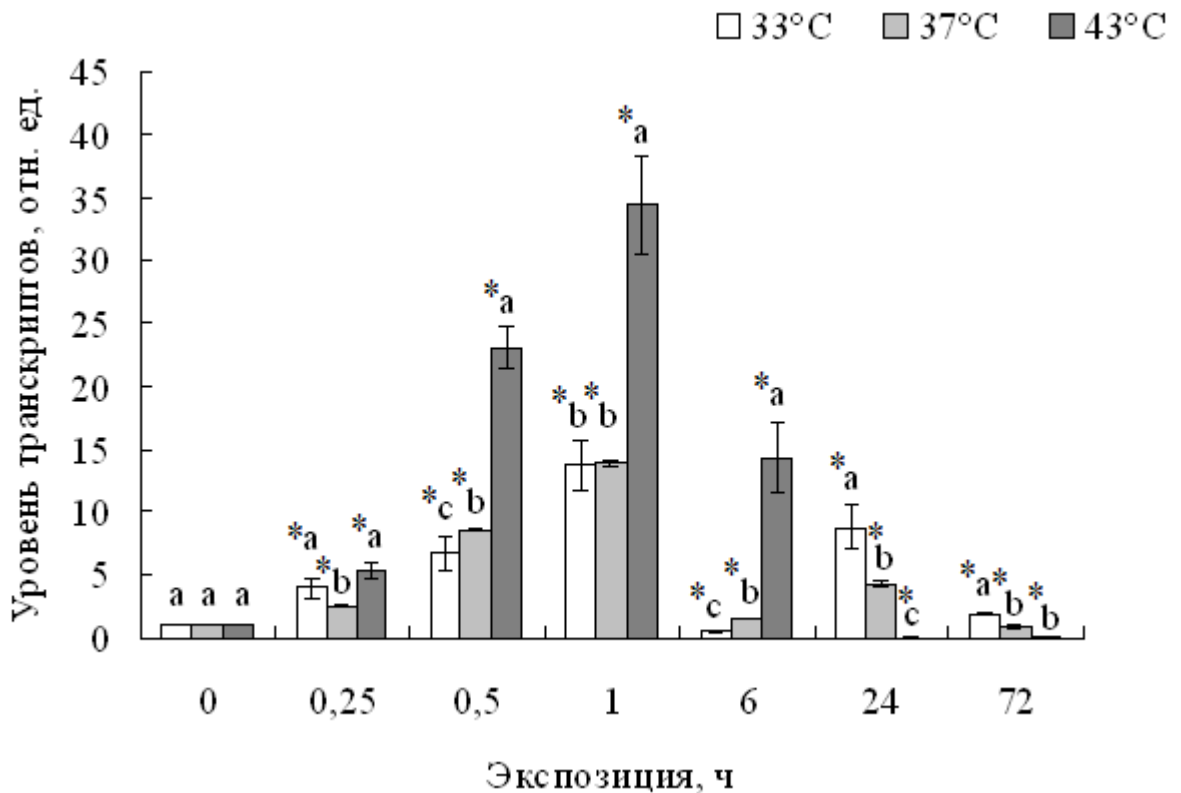


Рис. 17. Влияние высоких температур на динамику уровня транскриптов генов *HSP70* в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Здесь и далее: разные латинские буквы обозначают статистически значимые различия между температурными вариантами при $p \leq 0,05$ в пределах каждой экспозиции.

Полученные нами данные согласуются с литературными данными, свидетельствующими о том, что у пшеницы экспрессия *HSP70* чаще всего повышается в начальный период действия высокой температуры, а затем через 5 ч снижается (Xue et al., 2014a). Белок HSP70 является одним из наиболее важных белков шаперонов, участвующих в защите клетки от высокотемпературных воздействий. Поэтому у устойчивых сортов растений экспрессия этого гена обычно более высокая, чем у чувствительных (Usman et al., 2015).

В зависимости от сложившейся в клетках ситуации белок HSP70 выполняет различные функции. В одних случаях HSP70 связывается АТФ-зависимым образом с гидрофобными участками частично денатурированных белков и предотвращает их агрегацию (Mayer and Bukau, 2005). В других случаях он участвует в переносе поврежденных белков в протеасомы и лизосомы для рефолдинга или деградации (Мальшев, 2012).

В литературе также широко представлены данные, свидетельствующие о том, что у животных HSP70 обладает антиапоптотическими свойствами (Jäättelä et al., 1998; Rérole et al., 2011; Vasaikar et al., 2015). Существует предположение, что и у растений HSP70 ингибирует процессы ПКГ (Cronjé et al., 2004; Горбылева и др., 2013). Например, у проростков риса со сверхэкспрессией митохондриального mtHSP70 процессы АФК-зависимой ПКГ были менее выражены, чем у растений дикого типа (Qi et al., 2011). Таким образом, более низкий уровень экспрессии гена *HSP70* при температуре 43°C, чем при температуре 37°C через 24 и 72 ч может объясняться активацией процессов ПКГ.

Также установлено, что у растений пшеницы в защите от неблагоприятного воздействия высоких температур принимает участие не только цитоплазматический HSP70, но и митохондриальный mtHSP70 (Qi et al., 2011), и хлоропластный TaHSC70 (Duan et al., 2011). Кроме того, в формировании теплоустойчивости растений участвует белок ViP – представитель семейства HSP70, локализованный в ЭР.

Как уже отмечалось, действие на растения высоких температур может приводить к накоплению в ЭР и цитозоле большого количества неправильно

упакованных белков, что вызывает развитие ЭР-стресса и даже гибель клеток (Deng et al., 2013; Wan, Jiang, 2016). Поэтому усиление контроля за качеством упаковки белка является важной составляющей формирования теплоустойчивости растений. В ответ на ЭР-стресс в растительной клетке активируется защитный механизм – unfolded protein response (UPR) (Wan, Jiang, 2016). Основным регулятором UPR выступает белок BiP (Iwata, Koizumi, 2012; Kørner et al., 2015).

В наших экспериментах также обнаружено изменение транскрипционной активности гена *BiP* (Рис. 18). В частности, при действии на проростки температуры 33°C в клетках листьев уже через 15 мин зафиксировано снижение содержания мРНК этого гена. Низкий уровень экспрессии *BiP* был отмечен вплоть до окончания закаливания растений (3 сут) при данной температуре. Экспонирование проростков при 37°C, напротив, вызывало многократное повышение содержания транскриптов этого гена уже через 15 мин с максимальным уровнем после 30 мин прогрева. При более продолжительном воздействии температуры 37°C отмечено снижение уровня экспрессии *BiP*, а затем (через 1 сут) его повторное повышение. Под влиянием температуры 43°C в листьях проростков уже через 15 мин зафиксировано увеличение содержания транскриптов этого гена, которое через 1 ч сменялось резким падением. Отметим также, что при температуре 37°C содержание мРНК гена *BiP* было значительно выше, чем при 43°C через 0,25, 0,5 и 24 ч.

Несмотря на то, что *HSP70* и *BiP* относятся к генам одного семейства, динамика их экспрессии при высокотемпературных воздействиях разной интенсивности различается. Белок BiP является наиболее распространенным шапероном в ЭР (Iwata, Koizumi, 2012). В доступной нам литературе не содержится достаточно информации о накоплении транскриптов этого гена и о синтезе белка BiP при действии высоких температур. Тем не менее, известно, что увеличение содержания BiP коррелирует с устойчивостью растений *A. thaliana* к ЭР-стрессу (Koizumi, 1996). Установлено, что основным индуктором усиления экспрессии *BiP* являются белки с нарушенной структурой, которые появляются в полости ЭР в результате активизации процессов синтеза белка при наступлении

неблагоприятных условий или при прохождении растениями некоторых фаз развития (Carolino et al., 2003). Молекулы ViP связываются с такими белками, предотвращают их агрегацию и передают на другие компоненты ЭР для рефолдинга или деградации (Wan, Jiang, 2016).

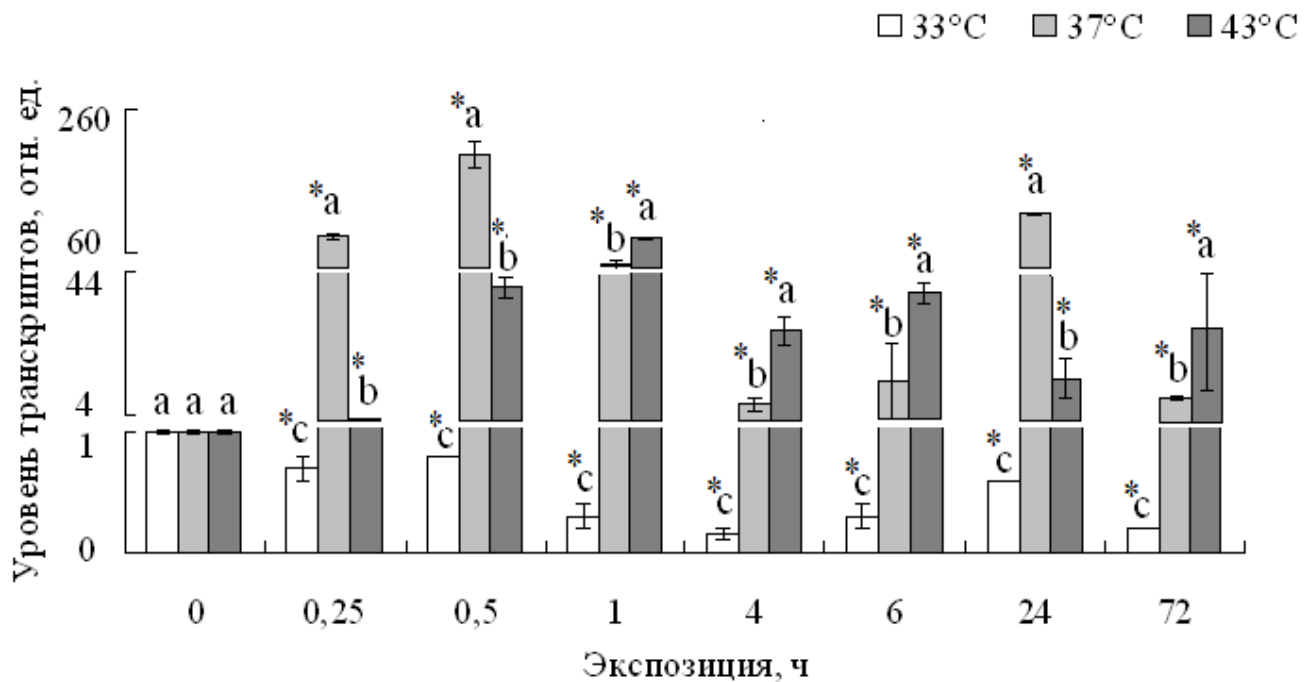


Рис. 18. Влияние высоких температур на динамику уровня транскриптов генов *ViP* в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Существует предположение, что увеличение содержания белков с нарушенной структурой в ЭР, т. е. развитие ЭР-стресса, приводит к тому, что свободных молекул ViP становится недостаточно и это является сигналом для синтеза дополнительного количества транскриптов (Leborgne-Castel et al., 1999). Так, обработка растений табака туникамицином – ингибитором гликозилирования и активатором ЭР-стресса – приводила к увеличению мРНК гена *ViP* и к накоплению белка ViP (Alvim et al, 2001). Из этого следует, что повышенное содержание транскриптов гена *ViP* можно рассматривать как один из показателей, свидетельствующий о накоплении белков с нарушенной структурой и развитии ЭР-стресса (Zhang, Kaufman, 2008). Наши исследования показали, что при

температуре 33°C («мягком» стрессе) в листьях пшеницы не происходит накопление транскриптов гена *ViP*, следовательно, логично полагать, что развитие ЭР-стресса при этом также не происходит. Повышение интенсивности высокотемпературного воздействия до 37°C («средний» стресс), напротив, приводит к усилению экспрессии этого гена. В данном случае это может быть связано с быстрым повышением устойчивости растений и синтезом стрессовых белков *de novo* (Титов, 1989; Титов и др., 2006), что, в свою очередь, приводит к повышению нагрузки на белоксинтезирующий аппарат клетки и, как следствие, к увеличению количества белков с нарушенной структурой. Интересно, что действие температуры 43°C («жесткий» стресс) также вызывает накопление транскриптов гена *ViP*, однако их уровень через 0,25, 0,5 и 24 ч был ниже, чем при температуре 37°C. Возможно, это связано с тем, что *ViP*, как и другие белки, относящиеся к группе БТШ с молекулярной массой 70 кДа, чаще работают в комплексе с другими шаперонами, кошаперонами и ферментами (Малышев, 2012), синтез которых в условиях действия экстремально высоких температур может нарушаться.

Таким образом, динамика экспрессии генов, кодирующих HSP70, может меняться в зависимости от того, к какой группе относится данный белок (цитоплазматический или ЭР), а также от интенсивности высокотемпературного воздействия. Совместно с HSP70 в формировании теплоустойчивости растений могут участвовать HSP с молекулярной массой 90 кДа. Поэтому следующим этапом нашего исследования стало изучение динамики накопления транскриптов генов, кодирующих цитоплазматический белок HSP90.

Нами установлено, что действие всех исследуемых температур приводит к статистически значимым изменениям в экспрессии гена *HSP90* относительно исходного уровня. Уже через 15 мин после помещения проростков в условия температуры 33°C в клетках листьев наблюдали небольшое повышение содержания транскриптов этого гена (рис. 19). Через 1 ч был отмечен их максимальный уровень, а затем его снижение. При температуре 37°C изменения в содержании мРНК данного гена также регистрировали через 15 мин от начала

эксперимента. Причем максимальный уровень транскриптов наблюдали после часовой экспозиции проростков при 37°C. При более продолжительном действии температуры 37°C содержание мРНК гена *HSP90* в листьях проростков снижалось, достигая через сутки исходных значений. При 43°C накопление транскриптов гена также происходило уже в первые минуты эксперимента. Максимум экспрессии *HSP90* в листьях проростков зафиксирован через 30 минут.

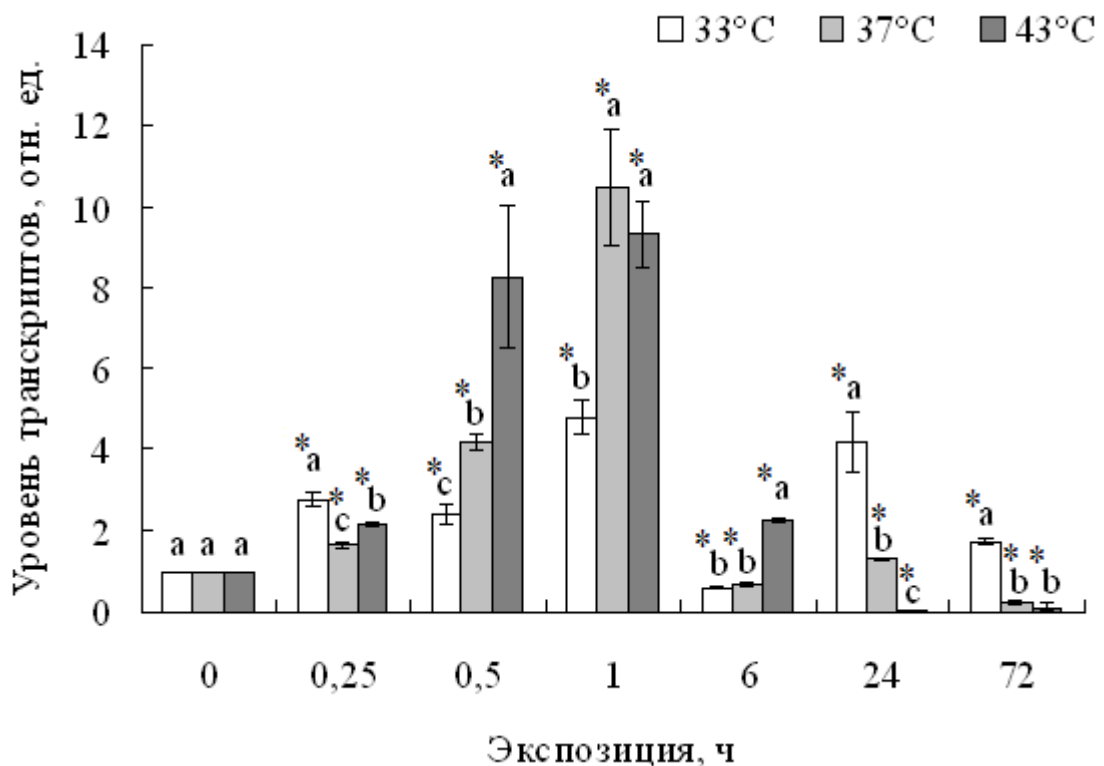


Рис. 19. Влияние высоких температур на динамику уровня транскриптов генов *HSP90* в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Установлены также определенные отличия и при сравнении экспрессии гена *HSP90* в условиях действия температур 33, 37 и 43°C в пределах одной экспозиции. Например, при температуре 37°C максимальный уровень экспрессии гена был в 2 раза выше, чем при температуре 33°C, однако максимальный уровень экспрессии гена при 43°C был равен максимальному уровню при температуре 37°C. Отметим также, что при действии температуры 33°C содержание

транскриптов *HSP90* через 24 и 72 ч было выше, чем при действии температур 37 и 43°C.

Как известно, белки *HSP90* являются высококонсервативными молекулярными шаперонами, в основном участвующими в упаковке белков АТФ-зависимым образом, активации и передаче сигналов. Совместно с *HSP70*, *HSP40* и другими кошаперонами они изменяет конформацию сигнальных белков (Pratt, Toft, 2003; Richter et al., 2010). *HSP90* наряду с *HSP70* обладают антиапоптотической функцией (Wang et al., 2014). *HSP90* иногда относят к белкам «домашнего хозяйства». Они участвуют в эмбриогенезе растений. Мутанты *A. thaliana* по гену *HSP90* имеют аномальное развитие эмбриона (Samakovli et al., 2007). Однако экспрессия этого гена в значительной степени зависит от сортовых особенностей растения, например, у разных сортов сорго, подвергнутых действию температуры 47°C в течение 10 – 180 мин, содержание транскриптов гена *HSP90* различалось в сотни раз (Pavli et al., 2011).

В целом динамика накопления транскриптов генов *HSP90* схожа с динамикой накопления транскриптов генов *HSP70*. Предполагается, что эти два шаперона могут задействоваться на разных этапах упаковки белка (Hahn et al., 2011; Mine et al., 2012). Так, *HSP70* связывают гидрофобные участки вновь синтезированных белков, предотвращают агрегацию и способствуют их правильной упаковке. Далее, уже на промежуточных стадиях упаковки белка, с созревающими молекулами взаимодействуют *HSP90*. И наоборот, после повреждения белка с поврежденной молекулой сначала взаимодействует *HSP90* (Picard, 2002). Вполне вероятно, что *HSP70* и *HSP90* участвуют в первичных ответных реакциях растений на действие высоких температур и действуют при этом кооперативно, что подчеркивает: ответная реакция представляет собой сложный многокомпонентный процесс с тонкой регуляцией.

В защитных реакциях растений в ответ на действие высоких температур участвуют не только *HSP* с высокой молекулярной массой, примеры которых были рассмотрены выше, но и низкомолекулярные *HSP*. Молекулярная масса этих белков варьируется от 12 до 42 кДа (Vierling, 1991), при этом молекулярная масса

большинства sHSP находится в пределах от 15 до 22 кДа, поэтому их иногда обозначают как семейство белков HSP20 (Muthusamy et al., 2017). Эти белки удерживают белок с нарушенной структурой АТФ-независимым образом, а затем передают его HSP70/HSP40 для дальнейшего рефолдинга или деградации уже с использованием энергии АТФ (Haslbeck, Virling, 2015). Кроме того, HSP20 могут образовывать большие белковые комплексы, так называемые гранулы теплового шока, появляющиеся в цитоплазме под влиянием высоких температур (Косаковская, 2008; Chen et al., 2014).

В настоящее время установлено, что в геноме пшеницы имеется не менее 163 генов, кодирующих белки HSP20. Их разделяют на 17 подсемейств и 75% sHSP относятся к подсемейству CI (Muthusamy et al., 2017). Одним из представителей этого подсемейства является HSP16,9, который считается необходимым компонентом теплоустойчивости растений.

Нами было показано, что температура 33°C приводит к незначительным изменениям в содержании транскриптов гена *HSP16,9* в листьях пшеницы (рис. 20). Тем не менее, через 15 мин от начала эксперимента отмечено небольшое статистически значимое повышение экспрессии этого гена. Через 6 ч уровень транскриптов гена *HSP16,9* опускался даже ниже контрольного уровня, однако затем он снова повышался и через 24 достигал максимума. Экспонирование растений при 37°C также способствовало повышению транскриптов этого гена уже в первые минуты опыта. Максимальное содержание мРНК *HSP16,9* было зафиксировано через час после переноса растений из обычных условий в условия действия температуры 37°C. При этом уровень экспрессии данного гена при температуре 37°C был намного выше, чем при температуре 33°C. У растений, испытывающих действие температуры 43°C, также наблюдали значительное повышение содержания транскриптов *HSP16,9* с максимумом через 2 ч от начала теплового воздействия. При температуре 43°C уровень экспрессии гена *HSP16,9* в листьях проростков значительно превышался по сравнению с наблюдаемым при других тепловых воздействиях через 0,5, 1 и 6 ч. Действие этой температуры в течение 24 и 72 ч, напротив, приводило к падению уровня экспрессии *HSP16,9*.

Можно заключить, что с увеличением интенсивности высокотемпературных воздействий экспрессия *HSP16,9* усиливается. Однако это заключение справедливо только для начального периода теплового воздействия, при более длительных экспозициях (24 и 72 ч) в условиях действия экстремально высокой температуры (43°C) уровень экспрессия гена становится ниже контрольного. Отметим, в исследованиях других авторов показано, что динамика экспрессии *HSP16,9* зависит не только от интенсивности высокотемпературного воздействия, но и от сортовых особенностей растений, в частности, пшеницы (Nguyen et al., 1994), риса (Chandel et al., 2013), фасоли (Simões-Araújo et al., 2003).

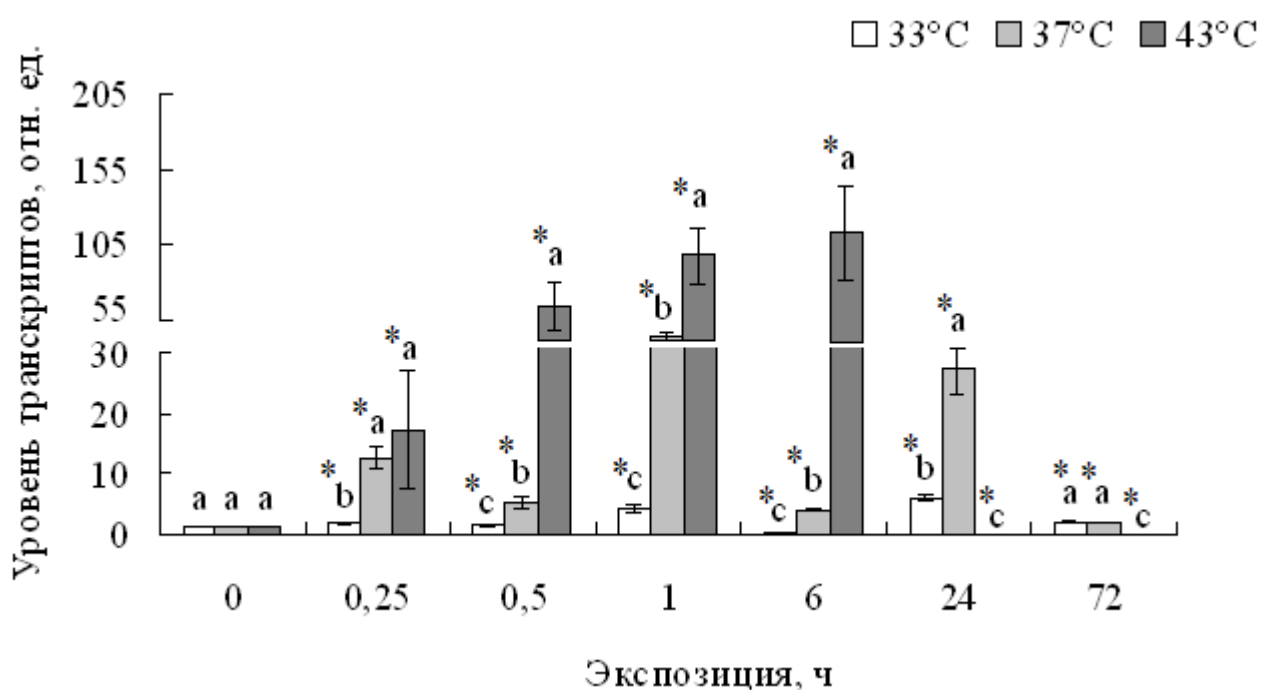


Рис. 20. Влияние высоких температур на динамику уровня транскриптов генов *HSP16,9* в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Кроме того, в ходе наших исследований установлена следующая особенность динамики экспрессии гена *HSP16,9*: в отличие от динамики транскриптов генов, кодирующих высокомолекулярные БТШ, изменение содержания мРНК этого гена в условиях теплового закаливания (33, 37°C) носит двухфазный характер. Первое усиление транскрипционной активности *HSP16,9*

наблюдали в начальный период действия этих температур, второе – через сутки. Согласно литературным данным, динамика синтеза различных БТШ неодинакова. Синтез одних БТШ происходит на протяжении всего периода теплового воздействия, других – только в начальный период теплового закаливания (Neschi et al., 1987; Титов и др., 2006). Возможно, такой характер изменения транскрипционной активности гена *HSP16,9* позволяет ему участвовать не только в быстрой (первичной) защите внутриклеточных структур и других белков, но и в восстановлении и поддержании нормального метаболизма клеток в условиях пролонгированного стресса. Не исключено, что двухфазность синтеза транскриптов указанного гена связана также и с небольшим временем жизни кодируемого им белка. По имеющимся данным, время полужизни разных низкомолекулярных БТШ может значительно варьировать. Например, время полужизни БТШ17,8 у *A. thaliana* составляет примерно 6 ч, БТШ22 у кукурузы – 4 ч (Lund et al., 1998; Kim et al., 2011), у гороха БТШ18,1 - 40 ч, а хлоропластного БТШ21 – более 52 ч (Chen et al., 1990; DeRocher et al., 1991). Вероятно, для осуществления защиты клеток растений пшеницы в ходе пролонгированного высокотемпературного стресса требуется дополнительный синтез БТШ16,9, поскольку *HSP16,9* является необходимым компонентом устойчивости растений (Yeh et al., 2002; Vasha et al., 2004).

Кроме того, можно предположить, что накопление транскриптов гена *HSP16,9* является одним из обязательных звеньев процесса развития теплоустойчивости пшеницы при действии температур 37 и 43°C. При температуре 33°C белок *HSP16,9*, по-видимому, вносит незначительный вклад в формирование теплоустойчивости и, соответственно, накопление мРНК *HSP16,9* происходит в меньшей объеме, чем при более высоких температурах.

Помимо экспрессии гена *HSP16,9* нами изучена динамика накопления транскриптов гена *HSP19*, который кодирует еще один низкомолекулярный белок *HSP19*, относящийся к подсемейству СIII (Muthusamy et al., 2017).

Нами было установлено различное влияние температур 33, 37 и 43°C на уровень транскриптов гена *HSP19* (рис. 21). В первые часы (0,25 – 6 ч)

экспозиции проростков при 33°C в их листьях регистрировали уменьшение содержания мРНК гена *HSP19*. Через сутки наблюдали увеличение уровня его экспрессии, а через трое суток – снижение до исходного значения. При действии температуры 37°C через 15 мин от начала опыта в листьях проростков отмечен постепенный рост уровня экспрессии этого гена, а наибольшее содержание транскриптов отмечено через 72 ч. Температура 43°C вызывала быстрое накопление транскриптов гена *HSP19* с максимумом уже через 0,5 – 1 ч от начала эксперимента. Транскрипционная активность гена была высокой на протяжении 6 ч теплового воздействия, а затем через 24 и 72 ч снижалась.

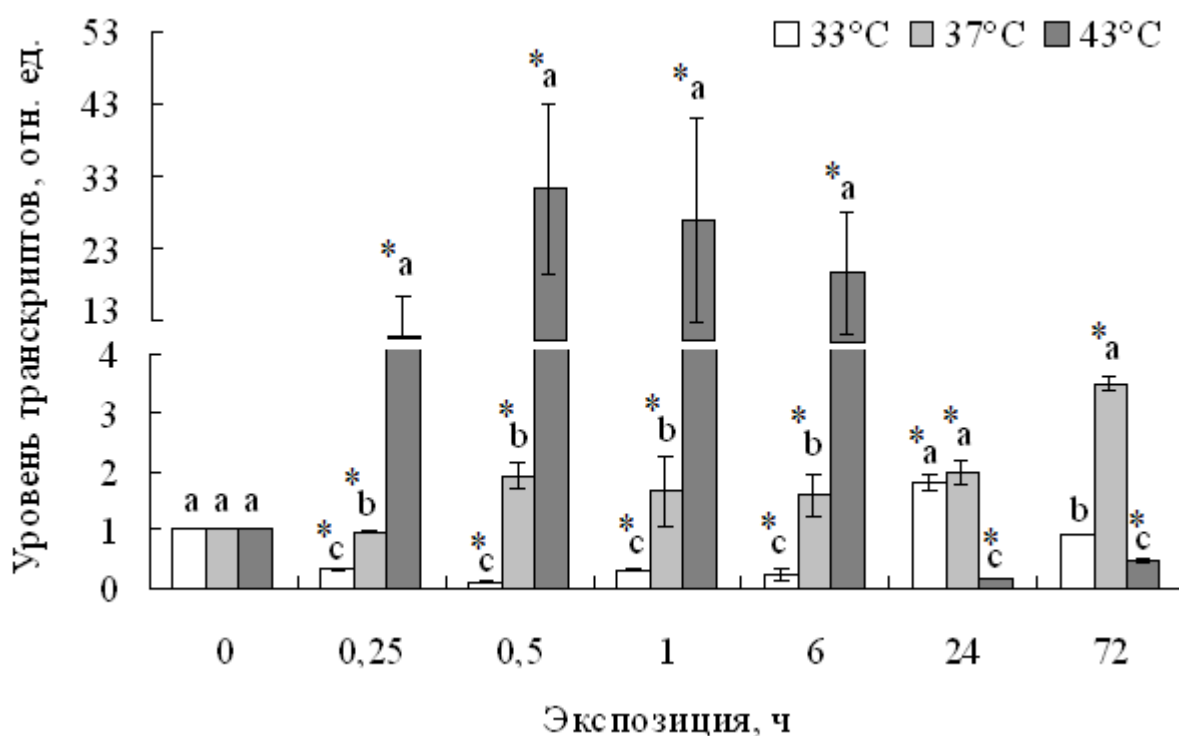


Рис. 21. Влияние высоких температур на динамику уровня транскриптов генов *HSP19* в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Полученные нами результаты, характеризующие особенности экспрессии *HSP19* при действии высоких температур, в целом согласуются с данными литературы о том, что *HSP19* участвует в ответной реакции растений в начальный период высокотемпературного воздействия (Zhao et al., 2003; Muthusamy et al., 2017). Как отмечалось выше, *HSP19* относится к подсемейству СIII (Akashi et al.,

2011; Muthusamy et al., 2017), белки этого подсемейства в основном локализованы в цитоплазме и ядре и предполагается, что они образуют гранулы теплового шока, которые могут служить в качестве «мест хранения» термочувствительных белков в период высокотемпературных воздействий, тем самым предотвращая их необратимую деградацию (Siddique et al., 2008). Кроме того, было показано, что HSP19 связан с мембранами хлоропластов (Restivo et al., 1986) и митохондрий (Коротаева, 2007). Поэтому логично предполагать, что в условиях стресса HSP19, как и другие sHSP, участвуют в поддержании стабильности мембран (Nakamoto, Vigh, 2007; Nautiyal, Shono, 2010).

Можно заключить, что для «мягкого», «среднего» и «жесткого» стресса характерно накопление транскриптов генов *HSP70* и *HSP90*. Кроме того, при «среднем» и «жестком» стрессе также происходит накопление транскриптов генов *BiP*, *HSP16,9* и *HSP19*, а при «мягком» стрессе изменения в содержании транскриптов этих генов наименее выражены. Следует отметить, что ответная реакция растений также зависит от продолжительности высокотемпературного воздействия. Так, накопление транскриптов генов, кодирующих высокомолекулярные цитоплазматические HSP70 и HSP90 происходит в основном в начальный период действия высоких температур (до 6 часов), тогда как накопление транскриптов гена *BiP*, кодирующего белок, который расположен в ЭР, а также генов, кодирующих низкомолекулярные HSP16,9 и HSP19, отмечено при более продолжительных высокотемпературных воздействиях (от 24 до 48 ч). Это в целом согласуется с данными литературы (Huerta et al, 2013; Kumar et al, 2013; Guo et al, 2014). На основании этого можно предположить, что ранний (первичный) ответ растений пшеницы на действие высоких температур, проявляющийся в повышении устойчивости листьев к прогреву, связан с увеличением транскрипционной активности определенной группы генов и, соответственно, с усилением синтеза кодируемых ими белков. Тем не менее, только их накопления недостаточно, для сохранения жизнеспособности растений при пролонгированном действии повреждающей температуры, о чем

свидетельствует резкое снижение теплоустойчивости проростков уже после часового прогрева растений при 43°C, а затем и их гибель.

3.3.2. Динамика содержания в листьях транскриптов генов системы контроля качества белка (*IRE1, BI-1*)

Как уже отмечалось, при действии неблагоприятных факторов в ЭР накапливается большое количество белков с нарушенной структурой (Deng et al., 2013; Kørner et al., 2015). В ответ на это активируется механизм UPR (Rothman, Schekman, 2011; Зверев, Брюханов, 2012). Выше (глава 3.3.1, рис. 18) была рассмотрена динамика экспрессии гена, кодирующего белок BiP, который является главным регулятором этого процесса. Еще одним участником UPR является сенсорно-сигнальный фермент IRE1 (Chen, Brandizzi, 2013). Он связан с BiP и обычно находится в неактивном состоянии, но, когда BiP присоединяется к белку с нарушенной структурой, IRE1 переходит в активное состояние путем гомодимеризации и трансавтофосфорилирования (Зверев, Брюханов, 2012). После чего IRE1 участвует в активации различных ТФ, которые, в свою очередь, усиливают экспрессию генов, кодирующих белки шапероны (Liu, Howell, 2010; Zhang et al., 2015).

В доступной нам литературе сведения о накоплении транскриптов гена *IRE1* или белка IRE1 у растений при высокотемпературных воздействиях разной интенсивности отсутствуют. Нами впервые было показано, что воздействие температуры 33°C вызывает снижение уровня транскриптов генов *IRE1* в листьях пшеницы уже в первые минуты высокотемпературного воздействия, затем, через 24 ч этот показатель возвращается на уровень контроля (рис. 22). При температуре 37°C содержание транскриптов этого гена в клетках листьев, напротив, повышалось через 15 мин, достигало максимума через 1 ч, а затем снижалось и через 72 ч воздействия не имело статистически значимых различий с уровнем экспрессии генов контрольных растений. Действие температуры 43°C, аналогично температуре 33°C, приводило к резкому снижению транскриптов гена

IRE1 через 15 мин, а через 72 ч содержание транскриптов этого гена возвращалось к уровню, характерному для контрольных растений.

Интересно отметить, что максимальный уровень экспрессии *IRE1* наблюдался при температуре, вызывающий «средний» стресс, т.е. в условиях наибольшего прироста теплоустойчивости (37°C). По всей видимости, это связано с тем, что *IRE1* и *BiP* являются важной составляющей системы контроля качества белка в ЭР. Было показано, что альтернативный сплайсинг мРНК *bZIP60* и накопление мРНК *bZIP60s* происходит через 0,5 – 2 ч действия неблагоприятных факторов (Parra-Rojas et al., 2015), в результате чего образуется активный ТФ, который стимулирует экспрессию *BiP* (Iwata, Koizumi, 2005; Deng, et al., 2013). Таким образом, накопление транскриптов гена *IRE1* на фоне накопления транскриптов гена *BiP* (рис. 18) при «среднем» стрессе можно рассматривать как включение и активизацию еще одного защитного механизма, приводящего к повышению теплоустойчивости растений.

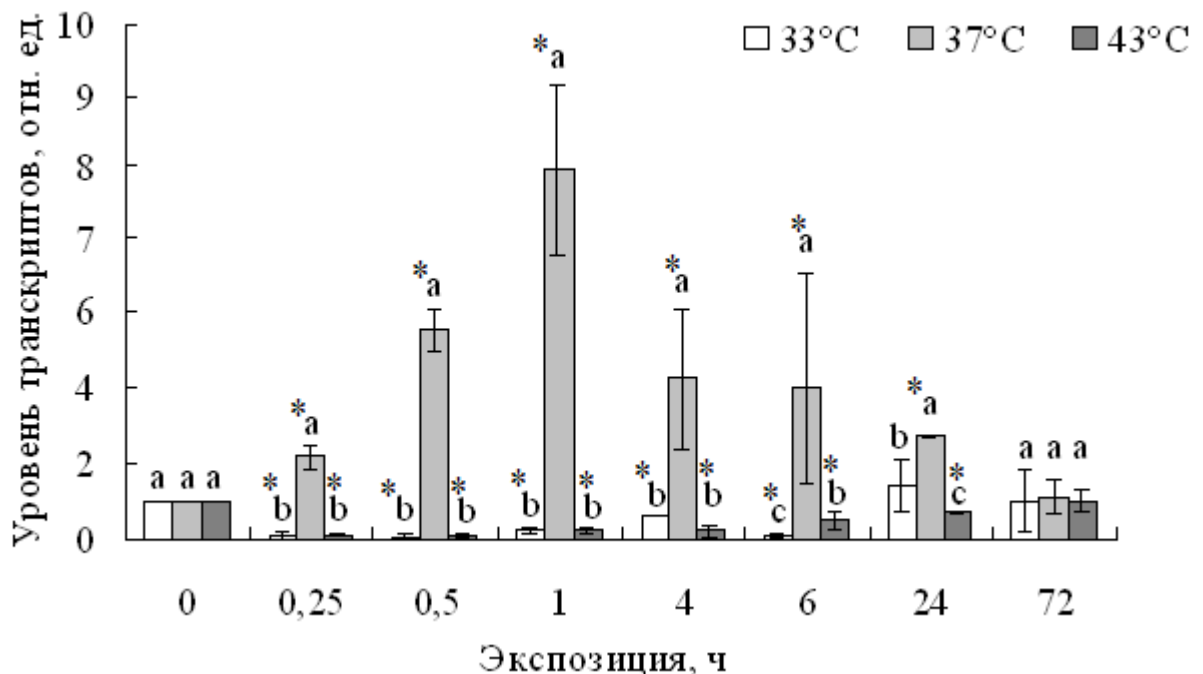


Рис. 22. Влияние высоких температур на динамику уровня транскриптов генов *IRE1* в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Отметим, что при «мягком» стрессе (при 33°C), как и при «жестком» (при 43°C), экспрессия гена *IRE1* резко снижается. При «мягком» стрессе также отмечен низкий уровень экспрессии гена *BiP* (рис. 18), это еще раз подтверждает предположение, что при действии этой температуры накопление белков с нарушенной структурой в большом количестве не происходит, и ЭР-стресс не развивается.

Исходя из того, что температура 43°C является повреждающей, а также учитывая, что при этой температуре происходит накопление транскриптов гена *BiP* и других шаперонов (рис. 17 - 21), логично предположить, что в клетках пшеницы при 43°C накапливается значительное количества белков с нарушенной структурой. Однако система контроля качества белка не может в этом случае работать полноценно, так как отмечено снижение уровня экспрессии гена, кодирующего фермент IRE1. Это может быть связано с необратимыми повреждениями клетки, вызванными действием экстремально высокой температуры. Кроме того, известно, что у животных одной из функций IRE1 является деградация мРНК генов некоторых секреторных белков, т. е. IRE1 регулирует IRE1-зависимый распад мРНК (RIDD), тем самым, ослабляя нагрузку на ЭР и сдерживая развитие ПКГ. Если же сила ЭР-стресса была достаточно велика, то активность IRE1 снижалась, что приводило к нарушению баланса между антиапоптотической и проапоптотической системой и к гибели клеток (Hollien et al., 2009). У растений также обнаружена IRE1-зависимая деградация некоторых мРНК (RIDD). Таким образом, IRE1, помимо альтернативного сплайсинга bZIP60, участвует в снижении нагрузки на ЭР (Mishiba et al., 2013). Установлено, что у мутантных растений *A. thaliana* с дефектом IRE1 гибель клеток выше, чем у мутантных растений с дефектом bZIP60 и у растений дикого типа (Mishiba et al., 2013). Это служит доказательством антиапоптотических свойств IRE1 и, следовательно, снижение количества транскриптов гена *IRE1* при «жестком» стрессе может быть одним из триггеров, запускающих механизм ПКГ.

Существует мнение о том, что у животных IRE1 является также проапоптотическим белком, и при жестком ЭР-стрессе он способен активировать

процессы апоптоза (Chen, Brandizzi, 2013). У растений ЭР-стресс тоже приводит к ПКГ (Zuppinì et al., 2004), однако вклад *IRE1* в этот процесс еще не изучен. Более того, несмотря на то, что ПКГ у растений и животных обладает общими чертами, она все-таки протекает по-разному и не исключено, что *IRE1* у растений обладает только антиапоптотическими свойствами.

Таким образом, при «мягком» стрессе накопление транскриптов гена *IRE1* не происходит, так как клетка, вероятно, не нуждается в этой белке. При «среднем» стрессе экспрессия *IRE1* резко увеличивается, что, по-видимому, благоприятствует процессу повышения теплоустойчивости. При «жестком» стрессе содержание транскриптов гена *IRE1* снижается, что может быть одной из причин активации процессов ПКГ.

В ЭР располагается еще один белок *BI-1* (Watanabe, Lam, 2008), однако это не единственное его место локализации, он может также находиться на ядерной оболочке и в мембранах митохондрий (Xu, Reed, 1998). Первоначально данный белок был определен у животных и рассматривался как ингибитор *BAX*-зависимого апоптоза, хотя показано, что непосредственно с *BAX* белком он не взаимодействует (Xu, Reed, 1998). *BI-1* обнаружен и у растений (Sanchez et al., 2000). Несмотря на то, что *BAX* у растений отсутствует, в трансгенных растениях *BI-1* блокирует развитие *BAX*-зависимой ПКГ (Kawai-Yamada et al., 2004). *BI-1* не только подавляет развитие ПКГ, но и участвует в подавлении генерации АФК, регулировании уровня кальция в клетке и передаче сигнала об ЭР-стрессе (Robinson et al., 2011). Однако пока функции *BI-1* в клетках растений и динамика экспрессии гена *BI-1* при высокотемпературных воздействиях разной интенсивности не изучены.

Нами показано, что воздействие высоких температур на проростки пшеницы приводит к увеличению содержания транскриптов *BI-1* в листьях (рис. 23). При температурах 33 и 37°C уже через 15 мин отмечено повышение содержания транскриптов гена *BI-1* до максимального уровня (примерно в 3 раза), который в дальнейшем сохранялся практически неизменным в течение всего периода теплового воздействия. Под влиянием температуры 43°C также через 15

мин происходило трехкратное повышение уровня транскриптов гена *BI-1*, через 1 ч содержание транскриптов увеличивалось почти в 25 раз, затем оно резко снижалось и спустя 6 ч возвращалось к исходному уровню, а через 72 ч даже опускалось ниже его.

Известно, что *BI-1* необходим растениям для повышения устойчивости к действию неблагоприятных факторов среды. Так, сверхэкспрессия гена *AtBI-1* у трансгенных растений сахарного тростника приводила к повышению устойчивости к засухе, что, вероятно, связано с повышением устойчивости ЭР к ЭР-стрессу (Ramiro et al., 2016). Действие высокой температуры вызывало накопление транскриптов гена *BI-1* у растений *A. thaliana*, при этом мутантные растения с дефектом гена *BI-1* показали повышенную чувствительность к действию высокой температуры, что выражалось в их сильном повреждении по сравнению с контрольными растениями (Watanabe, Lam, 2006).

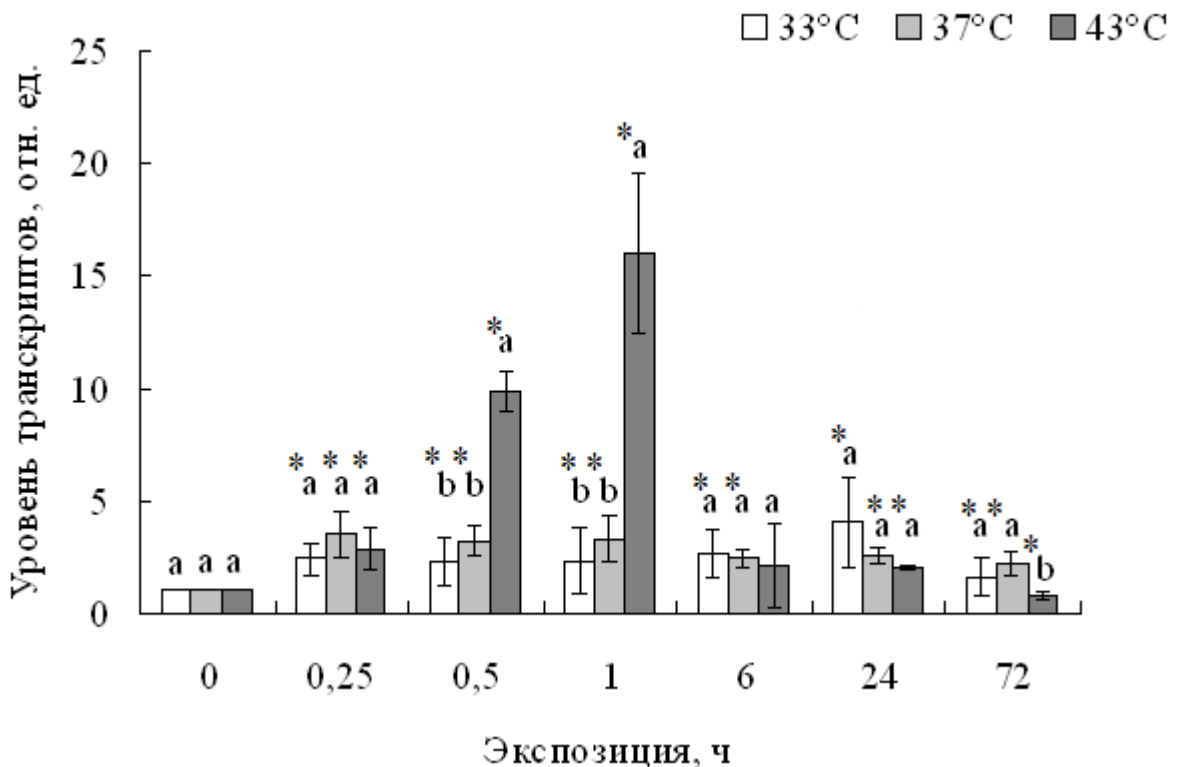


Рис. 23. Влияние высоких температур на динамику уровня транскриптов генов *BI-1* в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Нами было показано, что при «жестком» стрессе (при 43°C) достигается максимальный уровень экспрессии гена, кодирующего белок BI-1, тогда как при «мягком» и «среднем» стрессе (при 33°C и 37°C, соответственно) его экспрессия повышается незначительно. Объяснить это можно следующим образом. При увеличении интенсивности высокотемпературного воздействия степень повреждения растений возрастает. Когда повреждения оказываются достаточно сильными, в клетках одновременно могут разворачиваться два сценария. В одном случае подавляются защитные механизмы и активируются механизмы ПКГ. Примером реализации такого сценария может стать рассмотренное выше снижение уровня экспрессии *IRE1* и *BI-1* (при более длительных воздействиях, после 6 ч) при температуре 43°C. Другими авторами на растениях кукурузы также было показано, что на более поздних стадиях ЭР-стресса и на фоне растущей волны гибели клеток активность *IRE1* снижалась, как и снижалась экспрессия гена *BI-1* (Srivastava et al., 2018).

При развитии другого сценария, наоборот, активность защитных механизмов в клетке усиливается. Это касается, например, повышения активности СОД, а также, вероятно, и накопления транскриптов гена *BI-1* (в начальный период, до 1 ч, действия температуры 43°C).

Стоит отметить, что существует другое объяснение значительно более высокого уровня экспрессии *BI-1* в начальный период действия повреждающей температуры (43°C) по сравнению с температурами 33 и 37°C. Предполагается, что BI-1 может участвовать не только в защитных механизмах, но и в процессах аутофагии. Показано, что снижение экспрессии *BI-1* в растениях *Nicotiana benthamiana* тормозило у них развитие аутофагии. Напротив, сверхэкспрессия *AtBI-1* в трансгенных растениях *N. benthamiana* усиливала аутофагию и вызывала гибель клеток (Xu et al., 2017). Авторы этой работы предполагают, что в зависимости от условий *BI-1* участвует как в механизмах, помогающих растению выжить «prosurvival effect», так и в механизмах, приводящих к аутофагии и смерти клетки «prodeath effect» (Xu et al., 2017). Возможно, повышение

экспрессии *BI-1* в начальный период действия температуры 43°C приводит к активации ПКГ.

3.3.3. Динамика содержания в листьях транскриптов генов *ВАХ.2*, *МСАII*, кодирующих белки, участвующих в ПКГ

У животных одним из наиболее изученных типов ПКГ является апоптоз, обязательными участниками этого процесса считаются белок ВАХ и ферменты каспазы. У растений эти компоненты отсутствуют. Однако у *A. thaliana* найден белок cell growth defect factor 1 (*Cdf1*), обладающий схожими функциями с ВАХ (Kawai-Yamada et al., 2005). У пшеницы также обнаружен гомолог *Cdf1* – трансмембранный ВАХ.2, который предположительно участвуют в процессах ПКГ у растений, однако сведений, касающихся этого вопроса, в данный момент крайне мало.

Нами было показано, что уже через 15 мин от начала действия всех исследуемых температур в клетках листьев пшеницы происходит статистически достоверный рост содержания транскриптов гена *ВАХ.2* (рис. 24). При продолжительном действии температур 33 и 37°C содержание мРНК гена *ВАХ.2* снижалось. При температуре 43°C уровень экспрессии этого гена был высоким до конца эксперимента. Следует отметить, что при 33 и 37°C содержание транскриптов гена *ВАХ.2* было примерно одинаково и значительно меньше, чем при 43°C.

ВАХ.2 является ВАХ-подобным мембраносвязанным белком, гомологом *Cdf1 A. thaliana* (URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/225193977>), но сведений об экспрессии гена *ВАХ.2*, синтезе белка и его участии в каких-либо процессах в доступной нам литературе содержится крайне мало. Тем не менее, известно, что у дрожжей сверхэкспрессия *AtCdf1* вызывала гибель клеток. Интересно, что во вариантах, где дрожжи экспрессировали *AtBI-1*, уровень гибели клеток был значительно ниже. Кроме того, показано, что *Cdf1*, так же, как ВАХ, локализован в митохондриях и приводит к потере митохондриального мембранного потенциала (Kawai-Yamada et al., 2005).

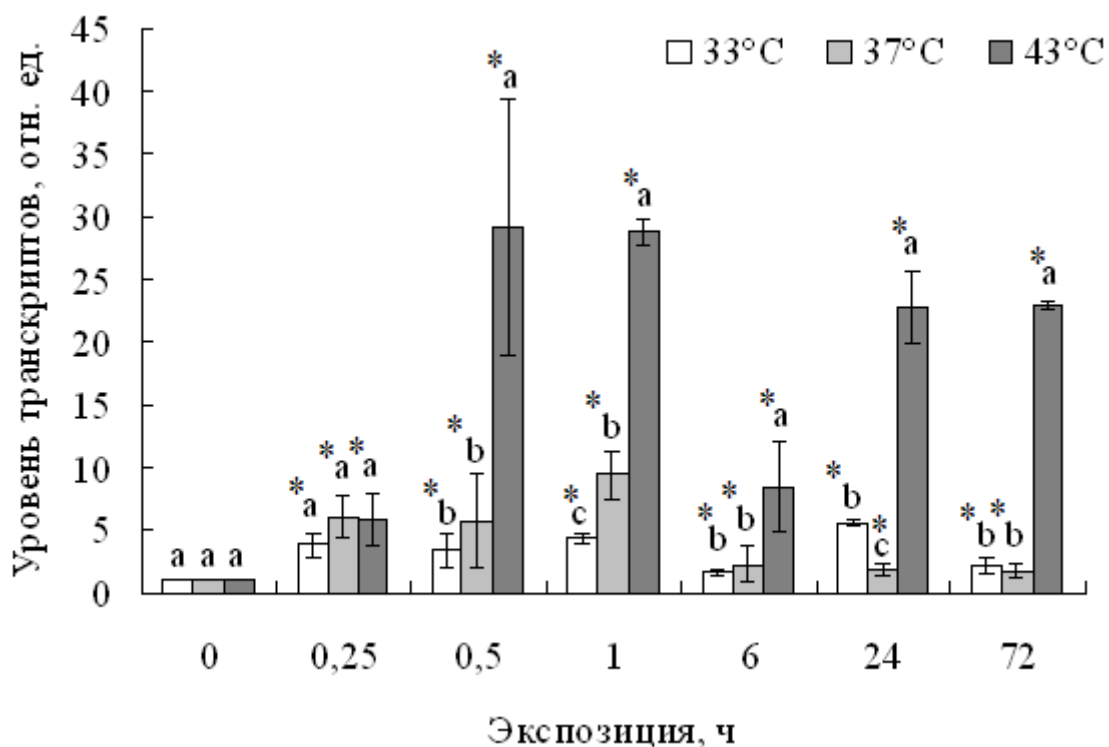


Рис. 24. Влияние высоких температур на динамику уровня транскриптов генов *VAX.2* в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Немаловажно, что, подобно некоторым другим белкам, экспрессию генов, которых мы уже рассматривали, *Cdf1* может участвовать не только в процессе ПКГ, но и в работе защитных механизмов клетки. В литературе белок *Cdf1* иногда встречается под другим названием – *chaperone-like protein of protochlorophyllide oxidoreductase 1 (CPP1)*. Было показано, что *CPP1* может регулировать стабильность фермента, необходимого для синтеза хлорофилла – протохлорофиллид-редуктазы в хлоропластах, предотвращая денатурацию и агрегацию этого фермента при действии высокой температуры или при обработке растений *N. benthamiana* и *A. thaliana* пероксидом водорода (Lee et al., 2013; Reinbothe et al., 2015).

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что *VAX.2* при «мягком» и «среднем» стрессе может выполнять защитные функции, однако при действии более высокой, повреждающей температуры и развитие «жесткого» стресса он также способен участвовать и в процессах ПКГ. Однако в целом этот вопрос требует дальнейшего изучения.

У животных другими неотъемлемыми участниками апоптоза считаются ферменты каспазы, которые так же, как и ВАХ отсутствуют у растений. У растений в ПКГ могут участвовать другие протеолитические ферменты – метакаспазы. Сведения об участии метакаспаз в ПКГ немногочисленны. В связи с этим нами было изучено изменение уровня экспрессии гена *MCAII*, кодирующего фермент метакаспазу II типа.

Было обнаружено, что в ответ на действие высоких температур в клетках листьев пшеницы происходит изменение уровня транскриптов гена *MCAII* (рис. 25). При температуре 33° и 37°С в начальный период их действия отмечено статистически значимое снижение уровня транскриптов гена *MCAII*, далее, через сутки, происходило повышение экспрессии этого гена. При действии температуры 43°С содержание транскриптов гена *MCAII* повышалось уже в течение 1-го ч, но спустя 6 ч, мРНК этого гена становилось меньше.

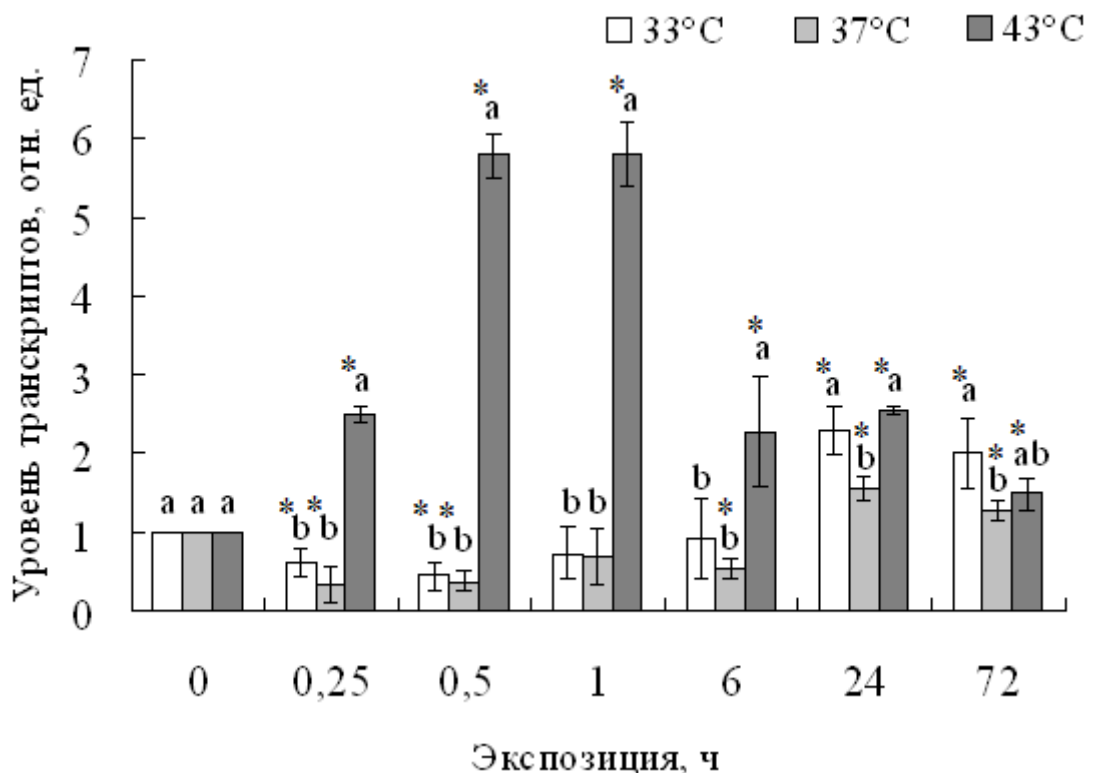


Рис. 25. Влияние высоких температур на динамику уровня транскриптов генов *MCAII* в листьях растений пшеницы с. Московская 39.

Из литературы известно, что *MCAII* участвует в процессе ПКГ (Dudkiewicz, Piszczek 2011; Zhang et al., 2017). Растениям пшеницы для активации *MCAII* требуется высокий уровень ионов кальция, что еще раз подчеркивает его вовлеченность в процессы ПКГ, так как известно, что для различных органелл клетки ионы кальция в высокой концентрации могут быть токсичны (Xiong et al., 2006).

Интересно, что при «мягком» и «жестком» стрессе, несмотря на первоначальное понижение экспрессии *MCAII*, к концу эксперимента накопление транскриптов этого гена все же увеличивалось. В целом расщепление ядерной ДНК на олигонуклеосомные фрагменты – «лестница», проявляющаяся на электрофореграмме ДНК – является частью механизма ПКГ, который запускается при естественном старении листьев (Yen, Yang et al., 1998). Старение первого листа растений пшеницы происходит на 7 – 14 сут, которое также сопровождается активацией ПКГ (Ванюшин, 2001; Замятина и др., 2003). Поскольку, при действии высоких температур процессы старения у растений ускоряются (Sung, Jeng, 1994), активация некоторых признаков ПКГ при закаливающих температурах может быть свидетельством запуска программы старения листа.

В связи с необходимостью подтвердить возможность участия *WAX.2* и *MCAII* в ПКГ следующим этапом наших исследований стало изучение проявления признаков ПКГ.

3.3.4. Фрагментация ДНК в клетках листьев

Известно, что при высокоинтенсивном или продолжительном тепловом воздействии активируются процессы ПКГ. Одним из доказательств развития ПКГ служит фрагментация ядерной ДНК.

В нашем случае во варианте с температурой 33°C признаки нуклеосомной деградации ДНК (наличие так называемой «лестницы» на электрофореграмме) у проростков пшеницы отсутствуют (рис. 26). Их появление зафиксировано в образцах ДНК, выделенной из листьев проростков, экспонированных при температуре 37°C в течение 24 и 72 ч и при 43°C в течение 6, 24 и 72 ч.

Таким образом, увеличение уровня транскриптов гена *ВАХ.2* при 37°C и 43°C, а также сохранение его на повышенном уровне (особенно при повреждающей температуре 43°C) до конца эксперимента может быть свидетельством того, что *ВАХ.2* участвует в ПКГ. Следует отметить, что повышение экспрессии *ВАХ.2* значительно опережало появление признаков деградации ДНК в тканях листьев. Это может быть связано с тем, что ПКГ у растений – процесс, требующий относительно много времени для активации нуклеаз и деградации ДНК. Например, в протопластах моркови, подвергнутых тепловому шоку (55°C), фрагментация ДНК обнаруживалась только после 3-5 ч тепловой обработки (McCabe, 1997).

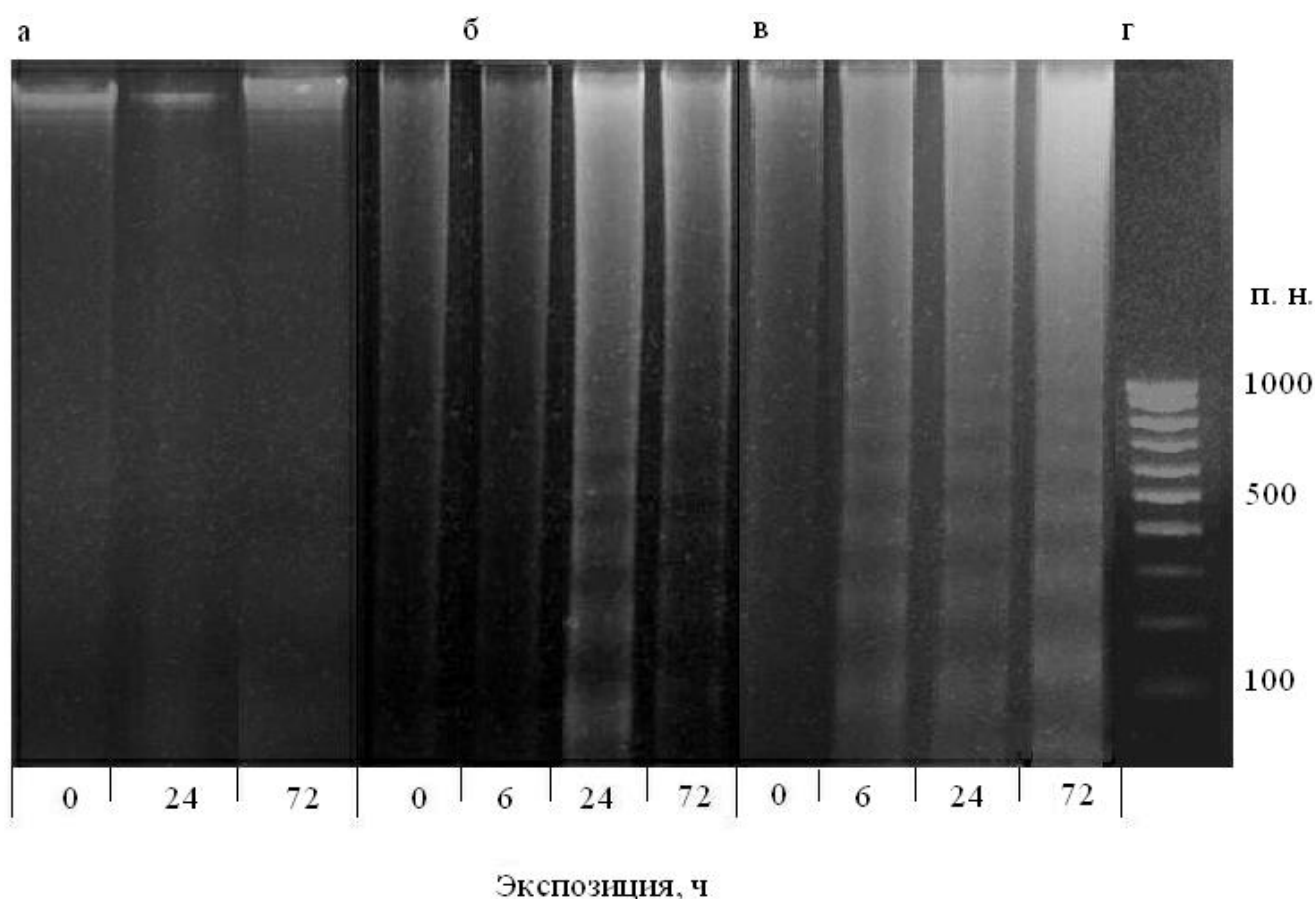


Рис. 26. Электрофореграмма ДНК, выделенной из листьев проростков пшеницы, подвергнутых действию высокой температуры: а – 33°C, б – 37°C, в – 43°C, г – маркер молекулярного веса ДНК, 1000 – 100 п.н.

Существенно важно, что появление признаков деградации ДНК в клетках при действии температур 37 и 43°C практически совпадало с повышением уровня транскриптов гена *МСАII*. Более того, другими авторами было показано, что экспрессия *МСАII* в проростках пшеницы повышается только через 48 ч после 20-минутного воздействия экстремально высокой температуры 50°C (Piszczyk et al., 2011). Авторы считают, что это служит доказательством участия *МСАII* на более поздних этапах ПКГ. Наши данные также подтверждают это предположение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышение температуры воздуха, наблюдаемое в последние годы во многих регионах мира вследствие глобального изменения климата, считается одной из важных причин снижения урожайности растений (Ortiz et al., 2008; Brisson et al., 2010; Olesen et al., 2011; Gouach et al., 2012; Teixeira et al., 2013; Morgounov et al., 2018). Как считают специалисты, если наблюдаемая тенденция потепления сохранится, к 2100 году даже в ряде северных регионов потребуются устойчивые к действию высоких температур и засухи сорта пшеницы и других культурных злаков (Tao et al., 2015). Поэтому вполне закономерно, что интерес исследователей к изучению механизмов теплоустойчивости растений к действию высоких температур в последние годы усиливается.

Ранее проведенные в нашей лаборатории исследования позволили предположить, что механизмы, лежащие в основе повышения теплоустойчивости растений под влиянием высоких закаливающих (субповреждающих) температур, отличаются от механизмов теплоустойчивости, активизирующихся при действии повреждающих температур (Критенко, 1987; Титов, 1989; Топчиева, 1994; Титов и др., 2006). И, следовательно, одинаковый прирост теплоустойчивости при действии высоких закаливающих и повреждающих температур может достигаться за счет разных механизмов (Титов и др., 1988; 2006; Топчиева, 1994). Этот вывод базировался главным образом на данных, полученных на основе ингибиторного анализа и электрофоретического изучения белков и ферментов. Современные методы исследования, прежде всего молекулярно-биологические, появившиеся в последние годы, позволяют более детально изучить изменения в белоксинтезирующем аппарате.

Как следует из цели и задач нашей работы, проведенные нами исследования были сосредоточены на изучении динамики теплоустойчивости проростков озимой пшеницы при действии высоких температур разной интенсивности, а также на ряде физиолого-биохимических (рост, оводненность листа, активизация СОД, генерация АФК, накопление МДА) и молекулярно-генетических реакций

(накопление транскриптов ряда генов, кодирующих белки, участвующие в механизмах формирования теплоустойчивости, а также кодирующих белки, предотвращающие развитие ПКГ или участвующие в ПКГ).

Нами показано, что на физиолого-биохимическом уровне реакция растений на действие высоких закаливающих и повреждающих температур различается. В частности, действие высоких закаливающих температур приводит к повышению теплоустойчивости растений, торможению роста, незначительному снижению оводненности тканей листа, активизации СОД и умеренному накоплению АФК и МДА. Напротив, действие на растения повреждающих температур приводит только к кратковременному повышению их теплоустойчивости, вызывает полную остановку роста и резкое падение оводненности тканей листа, а также к активизации СОД, но наряду с этим вызывает значительное накопление АФК и МДА.

Из анализа полученных данных также следует, что примерно одинаковый по величине прирост теплоустойчивости при высокотемпературных воздействиях разной интенсивности может достигаться за счет изменения продолжительности их воздействия, например, через 6 ч при температуре 37°C, или за 1 ч при 43°C (табл. 9). Однако, несмотря на сходный по величине прирост теплоустойчивости растений, активность обеспечивающих его механизмов оказалась значительно выше при температуре 43°C, чем при 37°C. Очевидно, изученные нами механизмы приносят неодинаковый вклад в повышение теплоустойчивости растений, наблюдаемое при действии на них закаливающих температур и в начальный период действия повреждающих температур.

Следовательно, при обсуждении экспериментальных данных важно учитывать, что активизация защитных механизмов зависит не только от интенсивности, но и от продолжительности высокотемпературного воздействия. Так, в нашем случае ряд механизмов теплоустойчивости растений, например, связанных с накоплением транскриптов генов *HSP70* и *HSP90*, активизируется в начальный период (15 мин – 1 ч) действия высоких температур (см. раздел 3.3.1, рис. 17, 19). Поэтому можно предположить, что повышение теплоустойчивости

растений на 1,9°C к краткосрочному нагреву, зарегистрированное в начальный момент действия повреждающей температуры 43°C (1 ч), в значительной мере обеспечивается за счет активизации синтеза HSP, т. е. усиление экспрессии *HSP70*, *HSP90*, *HSP16,9*, *HSP19*, а также за счет возрастания активности СОД.

Таблица 9

Влияние закаливающей (37°C) и повреждающей (43°C) температуры на физиолого-биохимические и молекулярно-генетические реакции растений пшеницы с. Московская 39

Показатель	Температура и продолжительность воздействия	
	37°C, 6 ч	43°C, 1 ч
Прирост теплоустойчивости, °C	1,6	1,9
Активность СОД, усл. ед./мг белка	1,8 ^{ns}	4,5
Образование супероксид анион-радикала	–	увеличивается
Содержание МДА, мкМ/г сыр. веса	13,2 ^{ns}	12,8 ^{ns}
Экспрессия генов, отн. ед.		
<i>HSP70</i>	1,5	34,4
<i>BiP</i>	14,6	101,1
<i>HSP90</i>	0,7	9,3
<i>HSP16,9</i>	3,9	110,7
<i>HSP19</i>	1,6	29,6
<i>IRE1</i>	4	0,1
<i>BI-1</i>	2,4	18,4
<i>BAX.2</i>	2,3	28,8
<i>MCAII</i>	0,54	5,8

Здесь и в таблице 10: ns – статистически значимые отличия от исходного уровня отсутствуют при $p \leq 0,05$.

В то же время HSP (в частности, *HSP70*, *HSP90*), по-видимому, вносят значительно меньший вклад в сопоставимый по величине прирост

теплоустойчивости ($1,6^{\circ}\text{C}$), отмеченный при 37°C , так как для его достижения при данной температуре требуется намного более продолжительное ее действие (6 ч). Можно предположить, что при действии этой температуры более весомый вклад в формирование теплоустойчивости привносит повышение активности генов, кодирующих белки ЭР, которые участвуют в ЭР-стрессе, в частности, *IRE1* и *BiP*. Именно при температуре 37°C в наших опытах отмечен наибольший уровень транскриптов гена *IRE1*, в то время как при 43°C наблюдалось его резкое снижение. Интересно и то, что в начальный период (15 – 30 мин) действия температуры 37°C экспрессия гена *BiP* была выше, чем при 43°C (см. раздел 3.3.1, рис. 18). Само накопление транскриптов гена *BiP* является маркером накопления в ЭР белков с нарушенной структурой (Leborgne-Castel et al., 1999) – наряду с повышением уровня транскриптов гена *IRE1* оно свидетельствует об активизации защитных механизмов, обеспечивающих уменьшение количества таких белков (Liu, Howell, 2010), что, несомненно, способствует процессу повышения теплоустойчивости при 37°C .

Заслуживает внимания и то, что вклад различных механизмов в повышение теплоустойчивости растений при действии температур одного диапазона тоже может быть разным. Так, нами было показано, что при действии закалывающей температуры 33°C теплоустойчивость растений повышается на $0,8^{\circ}\text{C}$ только через 3 дня, а при действии температуры 37°C сходный по величине прирост теплоустойчивости ($0,9^{\circ}\text{C}$) наблюдается уже через 1 ч (табл. 10). Вполне вероятно, что прирост устойчивости в начальный момент действия закалывающей температуры 37°C , так же, как в начальный период действия повреждающей температуры 43°C , обеспечивается в значительной мере за счет синтеза HSP. Соответственно, наблюдаемое при температуре 33°C повышение теплоустойчивости растений происходит за счет активизации иных механизмов. Отметим, что прирост теплоустойчивости при 33°C не сопровождался повышением экспрессии генов *BiP* и *IRE1* – это свидетельствует об отсутствии при данной температуре в клетках тканей листа белков с нарушенной структурой

в ЭР, а следовательно, об отсутствии необходимости в активизации дополнительных защитных механизмов.

Наконец, следует еще раз подчеркнуть, что в начальный период действия повреждающей температуры (43°C) активность большинства изученных нами защитных механизмов выше, чем при действии закаливающих температур (33 и 37°C), а при 37°C выше, чем при 33°C.

Таблица 10

Влияние высоких закаливающих (33 и 37°C) температур на физиолого-биохимические и молекулярно-генетические реакции растений пшеницы с. Московская 39

Показатель	Температура и продолжительность ее воздействия	
	33°C, 72 ч	37°C, 1ч
Прирост теплоустойчивости, °C	0,8	0,9
Активность СОД, усл. ед./мг белка	2,4 ^{ns}	2,7 ^{ns}
Образование супероксид анион-радикала	—	увеличивается
Содержание МДА, мкМ/г сыр. веса		12,2 ^{ns}
Экспрессия генов, отн. ед.		
<i>HSP70</i>	1,9	13,9
<i>BiP</i>	0,2	60,5
<i>HSP90</i>	1,7	10,4
<i>HSP16,9</i>	1,9	57,1
<i>HSP19</i>	0,9 ^{ns}	1,6
<i>IRE1</i>	1 ^{ns}	8
<i>BI-1</i>	2,2	3,3
<i>BAX.2</i>	2,3	9,4
<i>MCAII</i>	1,9	0,8 ^{ns}

Очевидно, чем выше температура, тем бóльшие повреждения она вызывает, но важно и усиление противодействия со стороны растений, которое заключается

в том, что в подобной ситуации организм мобилизует все защитные механизмы, которыми он располагает. Тем не менее, с повышением температуры (или продолжительности ее воздействия) возникает все большее «напряжение» или, иначе говоря, увеличивается сила стресса. При этом по мере повышения температуры стресс из «мягкой» (при 33°) и «средней» (при 37°С) переходит в «жесткую» форму (при 43°С), характеризующуюся значительными нарушениями и/или повреждениями клеток и тканей растений, многие из которых носят необратимый характер и ведут к гибели растений. Более того, при «жестком» стрессе часть защитных механизмов, судя по всему, может инактивироваться (например, экспрессия гена *IRE1*), что служит сигналом для активации процессов ПКГ. В частности, возрастает экспрессия генов *BAX.2* и *MCAII*, на фоне чего развиваются признаки ПКГ. Таким образом, с повышением интенсивности высокотемпературного воздействия и его продолжительности и, соответственно, с увеличением силы стресса включаются и/или активизируются различные механизмы устойчивости растений, а с достижением критической температуры запускаются процессы ПКГ.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие на проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., с. Московская 39) температур из диапазона 33° – 39°С индуцирует у них повышение теплоустойчивости, при этом по мере увеличения теплоустойчивости усиливается торможение их роста и снижается оводненность листьев. Температуры от 41° до 45°С в начальный момент своего действия также вызывают некоторое повышение теплоустойчивости проростков, однако при более продолжительном воздействии (1 ч и более) происходит её быстрое снижение, а температуры 43°С и выше приводят в дальнейшем к повреждению и гибели проростков.
2. Воздействие на проростки озимой пшеницы температур 37° и 43°С вызывает увеличение активности СОД и накопление МДА. Температуры 33°, 37° и 43°С приводят к усилению образования АФК. С повышением температуры стресс из «мягкой» (при 33°) и «средней» (при 37°) форм переходит в «жесткую» (при 43°С), которая характеризуется значительными и необратимыми структурно-функциональными нарушениями и/или повреждениями.
3. В начальный период действия на проростки озимой пшеницы температур 33°, 37° и 43°С (вызывающих «мягкий», «средний» и «жесткий» стресс, соответственно) в их листьях происходит накопление транскриптов генов *HSP70* и *HSP90*, кодирующих белки шапероны. Воздействие на проростки температур 37° и 43°С также вызывает накопление в их листьях транскриптов генов *BiP*, *HSP16,9*, *HSP19*.
4. Воздействие на проростки озимой пшеницы температуры 33°С («мягкий» стресс) приводит к небольшим изменениям в экспрессии генов *IRE1* и *BI-1*. Температура 37°С («средний» стресс), при которой отмечен максимальный прирост теплоустойчивости проростков, индуцирует наибольшее накопление

транскриптов гена *IRE1*. Температура 43°C («жесткий» стресс) в начальный период действия (до 6 ч) в наибольшей степени влияет на содержание транскриптов гена *BI-1*, вызывая значительное увеличение их содержания.

5. Воздействие на проростки озимой пшеницы температур 37° («средний» стресс) и 43°C («жесткий» стресс) вызывает в их листьях фрагментацию ДНК, что является одним из признаков ПКГ.

6. Воздействие на проростки озимой пшеницы температур 33° («мягкий» стресс) и 37° («средний» стресс) не оказывает существенного влияния на экспрессию гена *ВАХ.2*, однако при 43°C («жесткий» стресс) в их листьях происходит резкое усиление накопления транскриптов этого гена, а также транскриптов гена *МСАII*, что указывает на активацию механизмов ПКГ.

7. Из совокупности полученных данных следует, что при субповреждающих температурах («мягкий» и «средний» стрессы) защитные механизмы растений способны в полном объеме справляться с появляющимися в их клетках структурно-функциональными нарушениями, растения в этом случае успешно адаптируются, а их теплоустойчивость возрастает. При повреждающих температурах («жесткий» стресс) защитные механизмы уже не справляются с возникающими при этом многочисленными нарушениями и/или повреждениями, устойчивость растений резко падает и они в конечном итоге погибают.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акопова О.В. Роль митохондриальной поры в трансмембранном обмене кальция в митохондриях // Укр. біохім. журн. 2008. Т. 80, № 3. С. 40 – 47.
2. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. Л.: Наука, 1985. 317 с.
3. Александров В.Я. Цитофизиологические и цитоэкологические исследования устойчивости растительных клеток к действию высоких температур // Тр. Ботан. ин-та АН СССР, 1963. Т.4. С. 234 – 280.
4. Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л.: Наука, 1975. 330 с.
5. Алексеев А.М. Водный режим клеток растений в связи с обменом веществ и структурированностью цитоплазмы. Тимирязевские чтения XXVIII. 1969. 36 с.
6. Альтергот В.Ф. Действие повышенной температуры на растение в эксперименте и природе. – М.: Наука, 1981. – 56 с.
7. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во МГУ, 1970. 487 с.
8. Бабенко Л.М. Щербатюк Н.Н., Климчук Д.А., Косаковская И.В. Структурно – функциональные особенности клеток мезофилла листьев контрастных по термоустойчивости сортов *Triticum Aestivum* при действии кратковременных температурных стрессов // Цитология. 2018. Т.60, №2. С. 128 – 135.
9. Балагурова Н.И., Обшатко Л.А., Маркова Т.М., Дроздов С.Н. Сравнительная оценка морозостойкости и продуктивности ряда сортов озимой пшеницы // Адаптация, рост и развитие растений. 1994. С. 9 – 22.
10. Бараненко В.В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48, №6. С. 465 – 474.
11. Битюцкий Н.П. Необходимые микроэлементы растений. СПб.: Из-во ДЕАН. 2005. 256 с.
12. Ванюшин Б.Ф. Апоптоз у растений // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 3 – 38.
13. Вересов В.Г. Структурная биология апоптоза. Минск: Белорус. наука. 2008. 398 с.

14. Веселов А.П. Гормональная и антиоксидантная система при ответе растений на тепловой шок: Автореф. дис. ... д-ра. биол. наук. М., 2001. – 39 с.
15. Веселова С.В. Гормональная регуляция водного обмена и роста проростков пшеницы при изменении температуры: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2003. 24 с.
16. Войников В.К. Температурный стресс и митохондрии растений. Новосибирск: Наука, 1987. 132 с.
17. Войников В.К. Энергетическая и информационная системы растительных клеток при гипотермии. Новосибирск: Наука, 2013. – 207 с.
18. Высоцкая Л.Б., Веселов Д. С., Фархутдинов Р. Г., Веселов С. Ю. Гормональная регуляция водного обмена и роста растений на разных фонах минерального питания и при дефиците воды. Уфа: РИЦ БашГУ. 2014. 244 с.
19. Гамалей Ю.В. Транспортная система сосудистых растений. СПб. : Изд-во С.-Петербург. ун-та. 2004. 421 с.
20. Гармаш Е.В. Морфофизиологические реакции растений ячменя в связи с адаптацией к уровню минерального питания и температуре // Вестник института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. – 2004. № 1. С. 16 – 20.
21. Гармаш Е.В., Гармаш Е. В. Митохондриальное дыхание фотосинтезирующей клетки // Физиология растений. 2016. Т. 63, №1. С. 17 – 30.
22. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. М.: Наука, 1982. 280 с.
23. Головкин Т.К. Дыхание растений (физиологические аспекты). СПб: Наука, 1999. 204 с.
24. Гончарова Э.А. Изучение устойчивости и адаптации культурных растений к абиотическим стрессам на базе мировой коллекции генетических ресурсов: Научное наследие профессора Г.В. Удавенко. СПб.: ГНУ ВИР. 2011. 336 с.
25. Горбылева Е.Л., Рихванов Е.Г., Русалева Т.М., Степанов А.В., Боровский Г.Б., Войников В.К. Мягкий тепловой стресс способствует защите клеток *A. thaliana* от летального действия салициловой кислоты // Известия иркутского

- государственного университета. Серия «Биология, Экология». 2013. Т. 6, №2. С. 8 – 13.
26. Горышина Т.К. Фотосинтетический аппарат растений и условия среды Л.: Изво Ленинградского ун-та. 1989. 204 с.
27. Гребинский С.О. Рост растений. Львов: Изд-во ЛГУ. 1961. 296 с.
28. Дедов И.И., Смирнова О.М., Горельшев А.С. Стресс эндоплазматического ретикулума: цитологический сценарий патогенеза заболеваний человека // Проблемы эндокринологии. 2012. Т. 58, № 5. С. 57 – 65.
29. Джеймс В. Дыхание растений. 3VL: Изд. ИЛ, 1956. 439 с.
30. Дроздов С.Н., Курец В.К. Некоторые аспекты экологической физиологии растений / Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ. 2003. 172 с.
31. Дроздов С.Н., Курец В.К., Титов А.Ф. Терморезистентность активно вегетирующих растений. Л.: Наука. 1984. 168 с.
32. Дроздов С.Н., Сычева З.Ф., Будыкина Н.П., Курец В.К. Эколого-физиологические аспекты устойчивости растений к заморозкам. Л.: Наука. 1977. 228 с.
33. Жолкевич В.Н. Гусев Н.А., Капля А.В. Пахомова Г.И., Пильщикова Н.В., Самуилов Ф.Д., Славный П.С., Шматько И.Г. Водный обмен растений. М.: Наука, 1989. – 256 с.
34. Жолкевич В.Н. Транспорт воды в растении и его эндогенная регуляция. LXI Тимирязевское чтение. М.: Наука. 2001. 73 с.
35. Замятнин А.А. Протеолитические ферменты растений, вовлеченные в процессы регулируемой смерти клеток // Успехи биологической химии. 2015. Т. 55. С. 145 – 180.
36. Замятина В.А., Бакеева Л.Е., Александрюшкина Н.И., Ванюшин Б.Ф. Апоптоз у этиолированных проростков пшеницы. 2. влияние антиоксиданта (ВНТ) и перекисей // Физиология растений. 2003. Т. 50, №2. С. 280 – 290.
37. Зверев Я.Ф., Брюханов В. М. Стресс эндоплазматического ретикулума глазами нефролога (сообщение 1) // Нефрология. 2012. Т. 16, №3, вып. 1. С. 54 – 71.

38. Иванов В.Б. Клеточные механизмы роста растений. Тимирязевские чтения LXVIII. М.: Наука, 2011. 104 с.
39. Иванов Е.А. Эколого-физиологические реакции растений пшеницы и ячменя на изменение температурно-влажностного режима: Автореф. дис. ... к-та биол. наук. Уфа, 2006. 23 с.
40. Икконен Е.Н., Шибаета Т.Г., Сысоева М.И., Шерудило Е.Г. Устьичная проводимость в листьях *Cucumis Sativus* при длительном и кратковременном действии низких температур // Физиология растений. – 2012. Т. 59, №5. С. 716. – 720.
41. Кислюк И.М., Буболо Л.С., Быков О.Д., Каменцева И.Е., Шерстанева О.А. Защитное и повреждающее действие видимого света на фотосинтетический аппарат пшеницы при гипертермии // Физиология растений. 2008. Т. 55, №5. С. 681 – 689.
42. Климентова Е.Г. Сатаров Г.А., Зудова Т.А. Приспособление и устойчивость растений: учебное пособие для студентов экологического факультета. Ульяновск: из-во УлГУ, 2006. 53 с.
43. Климов С.В. Адаптация растений к стрессам через изменение донорно-акцепторных отношений на разных уровнях структурной организации // Успехи современной биологии. 2008. Т. 128, № 3. С. 281 – 299.
44. Козеко Л.Е. Белки теплового шока 90 КДа: разнообразие структура и функции // Цитология. 2010. Т. 52, № 11. С. 893 – 910.
45. Колупаев Ю.Е. Карпец Ю.В. Активные формы кислорода при адаптации растений к стрессовым температурам // Физиология и биохимия культ. растений. 2009. Т. 41, № 2. С. 95 – 104.
46. Колупаев Ю.Е. Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессов. Киев: основа, 2010. 350 с.
47. Кормош Н.Г. Физиологическая роль активных форм кислорода (субклеточный уровень) взгляд клинициста // Российский биотерапевтический журнал. 2011. С. 29 – 35.

48. Коровин А.И. Растения и экстремальные температуры. Л.: Гидрометеиздат. 1984. 272 с.
49. Коровин А.И. Роль температуры в минеральном питании растений. Л.: Гидрометеиздат. 1972. 283 с.
50. Коротаева Н.Е. Низкомолекулярные БТШ злаков в период действия высокой температуры и водного дефицита: Автореф. дис. ... кан-та биол. наук. Иркутск, 2007. 23 с.
51. Корсукова А.В., Грабельных О.И., Любушкина И.В., Побежимова Т.П., Королева Н.А., Павловская Н.С., Федосеева И.В., Войников В.К. Роль активных форм кислорода и участие митохондрий в развитии программируемой клеточной гибели в колеоптилях озимой пшеницы // Известия Иркутского государственного университета. 2013. Т. 6, № 2. С. 14 – 26.
52. Косаковская И.В. Стрессовые белки растений. Киев: Фитосоциоцентр, 2008. 152 с.
53. Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. 2012. Т. 59, №2. С. 163 – 178.
54. Креславский В.Д., Зорина А.А., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И. Молекулярные механизмы адаптации фотосинтетического аппарата к стрессу // Современные проблемы фотосинтеза Т. 2. Ижевск: Институт компьютерных исследований. 2014. 544 с.
55. Креславский В.Д., Карпентьер Р., Климов В.В., Мурата Н., Аллахвердиев С.И. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу // Биологические мембраны. 2007. Т. 24, № 3. С. 195 – 217.
56. Критенко С.П. Исследование роли белоксинтезирующей системы в механизмах адаптации активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1987. 19 с.
57. Кудоярова Г.Р., Веселов Д.С., Фаизов Р.Г., Веселова С.В., Иванов Е.А., Фархутдинов Р.Г. Реакция устьиц на изменение температуры и влажности воздуха

- у растений разных сортов пшеницы, районированных в контрастных климатических условиях // Физиология растений. 2007. Т. 54, №1. С. 54 – 58.
58. Кудоярова Г.Р., Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Ахиярова Г.Р., Dodd I.C., Веселова С.Ю. Водный обмен и рост исходных и дефицитных по АБК мутантных растений ячменя при повышении температуры воздуха // Физиология растений. 2014. Т. 61, №2. С. 207 – 213.
59. Кудоярова Г.Р., Дедов А.В., Фархутдинов Р.Г., Веселова С.В. Передача сигналов и быстрая стрессовая реакция растений // Вестник Нижегород. ун-та им. Н.И. Лобачевского. Серия Биология. Материалы выездной сессии ОФР РАН по проблемам биоэлектrogenеза и адаптации у растений 11–12 окт. 2000 г. 2000. С. 83–85.
60. Кудоярова Г.Р., Холодова В.П., Веселов Д.С. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды // Физиология растений. 2013. Т. 60, №2. С. 155 – 165.
61. Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы адаптации и создание стресс-толерантных трансгенных растений. Купревические чтения.; VII. Минск: «Тэхналогія», 2009. 116 с.
62. Курганова Л.Н., Веселов А.П. Влияние высокотемпературного стресса на липопероксидацию и системы ее регуляции в хлоропластах гороха (*Pisum Sativum* L.) // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия: Биология. 1999. № 1. С. 96 – 99.
63. Лайск А.Х. Кинетика фотосинтеза и фотодыхания C_3 -растений. М.: «Наука». 1977. 194 с.
64. Лархер В. Экология растений. М.: Мир. 1978. 384 с. Перевод изд. Larcher, Walter *Okologie pflanzen*.
65. Леопольд А.К. Рост и развитие растений. М.: Мир. 1968. 494 с. Перевод изд. Leopold A. C. *Plant growth and development*.
66. Любушкина И.В. Федяева А.В., Побежимова Т.П., Степанов А.В., Рихванов Е.Г. Активация гибели клеток в суспензионной культуре сахарного тростника под

- действием повышенных температур // Журнал стресс-физиологии и биохимии. 2014. Т.10, №4. С. 13 – 24.
67. Малышев И.Ю. Стресс-белки в биологии и медицине. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012. 176 с.
68. Мартынова Е.А. Регуляция активности каспаз в апоптозе // Биоорганическая химия. 2003. Т. 29, №5. С. 518 – 543.
69. Марченков С.Ю., Марченко Н.Ю., Марченкова С.Ю., Семисотнов Г.В. Молекулярные шапероны прокариотических и эукариотических клеток // Успехи биологической химии. 2006. Т. 46. С. 279 – 302.
70. Мельников Э.Э., Ротанова Т.В. Молекулярные шапероны // Биоорганическая химия. 2010. Т. 36, № 1. С. 5 – 14.
71. Мокронос А.Т., Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М.: Академия, 2006. 448 с.
72. Панасенко О.О., Ким М.В., Гусев Н.Б. Структура и свойства малых белков теплового шока // Успехи биологической химии. 2003. Т. 43. С. 59 – 98.
73. Полевой В.В. Физиология растений: учеб. для биол. спец. Вузов. М.: Высш. шк. –1989. – 464 с.
74. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений: доп. Госком СССР по народному образованию в кач-ве учебного пособия для студ. ун-тов, обучающихся по спец. "Биология". Л.: Изд-во ЛГУ. 1991. 240 с.
75. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода: Учебное пособие для студентов биологов. М.: КДУ, 2007. 137 с.
76. Потехина Е.С., Надеждина Е.С. Митоген-активируемые протеинкиназные каскады и участие в них Ste20-подобных протеинкиназ // Успехи биологической химии. 2002. Т. 42. С. 235 – 256.
77. Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Саляев Р.К. Ферменты антиоксидантной защиты вакуолей клеток корнеплодов столовой свеклы // Физ. раст. 2011. Т. 58. С. 40 – 48.
78. Пьянков В.И. Роль фотосинтетической функции в адаптации растений к условиям среды: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Москва, 1993. 84 с.

79. Пятыгин С.С. Стресс у растений: физиологический подход // Журнал общей биологии. 2008. Т. 69, №4. С. 294 – 298.
80. Рабаданова К.К., Тютерева Е.В., Мацкевич В.С., Демидчик В.В., Войцеховская О.В. Клеточные и молекулярные механизмы контроля автофагии: потенциал для повышения стрессоустойчивости и продуктивности культурных растений // Сельскохозяйственная биология . 2018. Т. 53, №5. С. 881 – 896.
81. Радченко С.И. Температурные градиенты среды и растения. М.: Наука. 1966. 390 с.
82. Рихванов Е.Г., Федосеева И.В., Пятрикас Д.В., Боровский Г.Б., Войников В.К. Механизм функционирования кальциевой сигнальной системы у растений при действии теплового стресса. Роль митохондрий в этом процессе // Физиология Растений. 2014. Т. 61, № 2. С. 155 – 169.
83. Рябовол В.В., Минибаева Ф.В. Молекулярные механизмы аутофагии в растениях: роль белков ATG8 в формировании и функционировании аутофагосом // Биохимия. 2016. Т. 81, вып. 4. С. 487 – 505.
84. Самуилов В.Д. Программируемая клеточная смерть у растений // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7, №10. С. 12 – 17.
85. Семиохин И.А. Физическая химия. М: Изд-во МГУ. 2001. 272 с.
86. Семихатова О.А. Энергетика дыхания растений при повышенной температуре. Л.: Изд-во «Наука». 1974. 112 с.
87. Семихатова О.А. Юдина О.С. 60 лет изучения теплового дыхания растений разных биомов в лаборатории экологической физиологии ботанического Института им. В.Л. Комарова РАН // Ботанический журнал. 2012. Т. 97, №4. С. 538 – 557.
88. Степанов А.В. Роль белков теплового шока в регуляции программированной клеточной гибели у растений и дрожжей: дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2009. 181 с.
89. Табаленкова Г.Н., Головки Т.К. Продукционный процесс культурных растений в условиях холодного климата. СПб: Наука, 2010. 231 с.

90. Таланова В.В. Фитогормоны как регуляторы устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды: дис. ... докт. биол. наук. Петрозаводск, 2009. 377 с.
91. Тарчевский И.А. Метаболизм растений при стрессе. Казань: ФЭН, 2001. 448 с.
92. Тарчевский И.А. Основы фотосинтеза. Казань: из-во. Казанского ун-та. 1971. 296 с.
93. Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука. 2006. 143 с.
94. Титов А.Ф., Таланова В.В. Локальное действие высоких и низких температур на растения. Петрозаводск.: Карельский научный центр РАН. – 2011. 166 с.
95. Титов А.Ф., Таланова В.В. Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск.: Карельский научный центр РАН. 2009. 206 с.
96. Титов А.Ф., Таланова В.В., Акимова Т.В. Изменения теплоустойчивости проростков томата при комбинировании краткосрочных и длительных закалок // Физиология растений. 1988 Т. 35, вып. 1. С. 158 – 164.
97. Титов А.Ф. Устойчивость активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам: Закономерности варьирования и механизмы: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М. 1989. 42 с.
98. Топчиева Л.В. Сравнительное изучение реакции растений на действие высоких закаливающих и повреждающих температур: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 1994. – 19 с.
99. Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. М.: Наука. 1979. 350 с.
100. Удовенко Г.В. Физиологические механизмы адаптации растений к различным экстремальным условиям // Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции. 1979. Т. 64 (3). С. 5 – 22.
101. Удовенко Г.В., Гончарова Э.А. Влияние экстремальных условий среды на структуру урожая сельскохозяйственных растений. Л.: Гидрометеиздат, 1982. 144 с.

102. Фархутдинов Р.Г., Веселова С.В., Веселова С.В., Веселов Д.С., Митриченко А.Н., Дедов А.В., Кудоярова Г.Р. Регуляция скорости роста листьев пшеницы при быстром повышении температур // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 2. С. 275 – 279.
103. Фомичева А.С., Тужиков А.И., Белошистов Р.Е., Трусова С.В., Галиуллина Р.А., Мочалова Л.В., Чичкова Н.В., Вартапетян А.Б. Программированная клеточная смерть у растений // Успехи биологической химии. 2012. Т. 52. С. 97 – 126.
104. Французова В.П., Олюнина Л.Н., Веселов А.П. Изменения водного режима проростков пшеницы при кратковременном гипертермическом воздействии // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2013, № 1 (1). С. 136–139.
105. Хоконова М.Б., Терентьев С.Е. Технологические свойства и урожайность озимого ячменя в зависимости от минерального питания // Хранение и переработка сельхозсырья . 2017. №1. С. 24 – 28.
106. Холодова В.П., Мещеряков А.Б., Александрова С.Н., Кузнецов Вл.В. Исследование неспецифической стрессорной реакции растений на шоковое действие абиотических факторов // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. 2001. №1. С. 151 – 154.
107. Хохлова Л.П., Бабужина Д.И. Физиологические основы формирования продуктивности растений: учебное пособие. 2006. Казань: Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленинаю. 41 с.
108. Хохлова Л.П., Бочкарева М.А. Водный обмен растений: итоги ЯРМ-исследований // Ученые записки казанского государственного университета. 2009. Том. 151, кн. 4. С. 74 – 102.
109. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. 1988. М.: Мир. 568 с.
110. Цехмейструк Н.Г., Шелякин В.А., Магомедов Р.Д. Урожайность сортов сои в зависимости от климатических условий зоны выращивания // Вестник белорусской государственной сельскохозяйственной академии. – 2016. № 3. С. 49 – 52.

111. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений: Учебное пособие студентов биологических факультетов. – СПб.: СПбГУ, 2002. 244 с.
112. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. – 160 с.
113. Шарова Е.И. Антиоксиданты растений: учеб. пособие. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та. 2016. 140 с.
114. Шевелуха В.С. Периодичность роста сельскохозяйственных растений и пути ее регулирования. М.: Колос, 1980. 455 с.
115. Шишова М.Ф., Танкелюн О.В., Емельянов В.В., Полевой В.В. Рецепция и трансдукция сигналов у растений. СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та. 2008. – 263 с.
116. Эдвардс Дж., Уокер Д. Фотосинтез C_3 - и C_4 - растений: механизмы и регуляция. М.: Мир. 1986. 600 с. Перевод изд. Edwards G. C_3 , C_4 : mechanisms, and cellular and environmental regulation of photosynthesis.
117. Agarwal M., Katiyar-Agarwal S., Grover A. Plant Hsp100 proteins: structure, function and regulation // *Plant Science*. 2002. Vol. 163 (3). P. 397 – 405.
118. Agrawal D., Allakhverdiev S.I., Jajoo A. Cyclic electron flow plays an important role in protection of spinach leaves under high temperature stress // *Физиология растений*. 2016. Том 63, № 2. С. 225 – 230.
119. Akashi K., Akashi K., Yoshida K., Kuwano M., Kajikawa M., Yoshimura K., Hoshiyasu S., Inagaki N., Yokota A. Dynamic changes in the leaf proteome of a C_3 xerophyte, *Citrullus lanatus* (wild watermelon), in response to water deficit // *Planta*. 2011. Vol. 233 (5). P. 947 – 960.
120. Akter N., Islam M.R. Heat stress effects and management in wheat. A review // *Agron. Sustain. Dev.* – 2017. P. 37.
121. Al-Khatib K. Paulsen G.M. High-temperature effects on photosynthetic processes in temperate and tropical cereals // *Crop Sci*. 1999. Vol. 39 (1). P. 119 – 125.
122. Allakhverdiev S.L.S., Kreslavski V.D., Klimov V.V., Los D.A., Carpentier R., Mohanty P. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis // *Photosynth Res*. 2008. Vol. 98. P. 541–550.

123. Almeselmani M., Deshmukh P.S., Chinnusamy V. Effects of prolonged high temperature stress on respiration, photosynthesis and gene expression in wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties differing in their thermotolerance // *Plant Stress*. 2012. Vol. 6 (1). P. 25. – 32.
124. Almeselmani M., Deshmukh P.S., Sairam R.K. High temperature stress tolerance in wheat genotypes: role of antioxidant defence enzymes // *Acta Agron Hung*. 2009. Vol. 57 (1). P. 1 – 14.
125. Almeselmani M., Deshmukh P.S., Sairam R.K., Kushwaha S.R., Singh T.P. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress // *Plant Science*. 2006. Vol. 171. P. 382 – 388.
126. Alvim F.C., Carolino S.M., Cascardo J.C., Nunes C.C., Martinez C.A., Otoni W.C., Fontes E.P. Enhanced accumulation of BiP in transgenic plants confers tolerance to water stress // *Plant Physiol*. 2001. Vol. 126 (3). P. 1042 – 1054.
127. Al-Whaibi M.H. Plant heat-shock proteins: A mini review // *JKSUS*. 2011. Vol. 23 (2). P. 139 – 150.
128. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signaling transduction // *Annu rev Plant biol*. 2004. Vol. 55. P. 373 – 399.
129. Appels R., Eversole K., Feuillet C., et al. Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome // *Science*. 2018. Vol. 361 (6403). DOI: 10.1126/science.aar7191.
130. Ara N., Nakkanong K., Lv W., Yang J., Hu Z., Zang M. Zhang Antioxidant enzymatic activities and gene expression associated with heat tolerance in the stems and roots of two cucurbit species («*Cucurbita maxima*» and «*Cucurbita moschata*») and their interspecific inbred line «Maxchata» // *Int. J. Mol. Sci*. 2013. Vol. 14. – P. 24008 – 24028.
131. Asthir B. Mechanisms of heat tolerance in crop plants // *Biol Plant*. 2015. Vol. 59(4). P. 620 – 628.
132. Atkin O. K., Bruhn D., Hurry V.M., Tjoelker M.G. The hot and the cold: Unravelling the variable response of plant respiration to temperature // *Funct Plant Biol*. 2005. Vol. 32 (2). P. 87 – 105.

133. Atkin O.K., Tjoelker M.G. Thermal acclimation and the dynamic response of plant respiration to temperature // *Trends Plant Sci.* 2003. Vol.8 (7). P. 343 – 351.
134. Atkin O.K., Bloomfield K.J., Reich P.B., Tjoelker M.G., Asner G.P., Bonal D., Bönisch G., Bradford M.G., Cernusak L.A., Cosio E.G., Creek D., Crous K.Y., Domingues T.F., Dukes J.S., Egerton J.J.G., Evans J.R., Farquhar G.D., Fyllas N.M., Gauthier P.P.G., Gloor E., Gimeno T.E., Griffin K.L., Guerrieri R., Heskell M.A., Huntingford Ch., Ishida F.Y., Kattge J., Lambers H., Liddell M.J., Lloyd J., Lusk Ch.H., Martin R.E., Maksimov A.P., Maximov T.C., Malhi Y., Medlyn B.E., Meir P., Mercado L.M., Mirotchnick N., Ng D., Niinemets Ü., O'Sullivan O.S., Phillips O.L., Poorter L., Poot P., Prentice I.C., Salinas N., Rowland L.M., Ryan M.G., Sitch S., Slot M., Smith N.G., Turnbull M.H., VanderWel M.C., Valladares F., Veneklaas E.J., Weerasinghe L.K., Wirth Ch., Wright I.J., Wythers K.R., Xiang J., Xiang Sh., Zaragoza-Castells J. Global variability in leaf respiration in relation to climate, plant functional types and leaf traits // *New Phytol.* 2015. Vol. 206. P. 614–636.
135. Atkin O.K., Bruhn D., Tjoelker M.G. Response of plant respiration to changes in temperature: mechanisms and consequences of variations in Q_{10} values and acclimation // *Advances in photosynthesis and respiration.* 2004. Vol. 18. P. 95 – 135.
136. Atkin O.K., Scheurwater I., Pons T.L. Respiration as a percentage of daily photosynthesis in whole plants is homeostatic at moderate, but not high, growth temperatures // *New Phytol.* 2007. Vol. 174(2). P. 367–380.
137. Badawi G.H., Tahir I.S.A., Nakata N., Tanaka K. Induction of some antioxidant enzymes in selected wheat genotypes // *African Crop Science Conference Proceedings.* 2007. Vol. 8. P. 841 – 848.
138. Baek K.H., Skinner D.Z. Production of reactive oxygen species by freezing stress and the protective roles of antioxidant enzymes in plants // *JACEN.* 2012. Vol.1 (1). P. 34 – 40.
139. Bahuguna R.N., Jagadish K.S.V. Temperature regulation of plant phenological development // *Environ Exp Bot.* 2015. Vol. 111. P. 83 – 90.

140. Bai T., Li C., Ma F., Shu H., Han M. Exogenous salicylic acid alleviates growth inhibition and oxidative stress induced by hypoxia stress in *Malus robusta* Rehd // J Plant Growth regul. 2009. Vol. 28. P. 358 – 366.
141. Balla K., Karsai I., Bencze S.Z., Kiss T., Veisz O. Effect of heat stress on the physiological processes of wheat // Acta Agron Hung. 2013. Vol. 61(1). DOI: 10.1556/AAgr.61.2013.1.
142. Balogh G., Peter M., Glatz A., Gombos I., Török Z., Horváth I., Harwood J.L., Víg L. Key role of lipids in heat stress management // FEBS Lett. 2013. Vol. 587 (13). P. 1970 – 1980.
143. Baniwal S.K., Bharti K., Chan K.Y., Fautn M., Ganguli A., Kotak S., Mishra S.K., Nover L., Port M., Scharf K.D., Tripp J., Weber Ch., Zielinski D., Koskull-Doring P. Heat stress response in plants: a complex game with chaperones and more than twenty heat stress transcription factors // J. Biosci. 2004. Vol. 29 (4). P. 471 – 487.
144. Bao Y., Howell S.H. The unfolded protein response supports plant development and defense as well as responses to abiotic stress // Front. Plant Sci. 2017. DOI: /10.3389/fpls.2017.00344
145. Barlow K.M., Christy B.P., O’Leary G.J., Riffkin P.A., Nuttall J.G. Simulating the impact of extreme heat and frost events on wheat crop production: a review // Field Crops Res. 2015. Vol. 171 (1). P. 109 – 119.
146. Basha E., Lee G.J., Demeler B., Vierling E. Chaperone activity of cytosolic small heat shock proteins from wheat // Eur J Biochem. 2004. Vol. 271 (8). P. 1426 – 1436.
147. Bassham D.C., Crespo J.L. Autophagy in plants and algae // Front. Plant Sci. 2014. Vol. 5. Ar. 679. DOI: 10.3389/fpls.2014.00679.
148. Bassirirad H. Kinetics of nutrient uptake by roots: Responses to global change // New Phytol. 2000. 147(1). P. 155 – 169.
149. Beauchamp, Ch., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem. 1971. Vol. 44 (1). P. 276–287.
150. Beers E.P., Woffenden B.J., Zhao C. Plant proteolytic enzymes: possible roles during programmed cell death // Plant Mol Biol. 2000. Vol. 44. P. 399–415.

151. Begum F., Nessa A. Effects of temperature on some physiological traits of wheat // JBAS. 2014. Vol. 38 (2). P. 103 – 110.
152. Bella K., Karsai I., Bencze Sz., Kiss T., Veisv O. Effect of heat stress on the physiological processes of wheat // Acta Agron Hung. 2013. Vol. 61 (1). DOI: 10.1556/AAgr.61.2013.1.
153. Berridge M.J. The endoplasmic reticulum: a multifunctional signaling organelle // Cell Calcium. 2002. Vol. 32(5-6). P. 235 – 249.
154. Berry J., Bjorkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants // Ann. Rev. Plant Physiol. 1980. Vol. 31. P. 491 – 543.
155. Bhattacharjee S. The language of reactive oxygen species signaling in plants // Journal of Botany. 2012. Vol. 2012. P. 22. DOI: 10.1155/2012/985298.
156. Bitá C.E., Gerats T. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops // Front Plant Sci. 2013. DOI:10.3389/fpls.2013.00273.
157. Bolat I., Dikilitas M., Ercisli S., İkinci A., Tonkaz T. The effect of water stress on some morphological, physiological, and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks // ScientificWorld Journal. 2014. doi: 10.1155/2014/769732
158. Bolwell G. P., Butt V.S., Davies D.R., Zimmerlin A. The origin of the oxidative burst in plants // Free Radic Res. 1995. Vol. 89 (№ 6). P. 517 – 532.
159. Boorstein W.R., Ziegelhoffer Th., Craig E.A. Molecular evolution of the HSP70 multigene family // J Mol Evol. 1994. Vol. 38. P. 1 – 17.
160. Borrás O., Collazo C., Chacón O. Programmed cell death in plants resembles apoptosis of animals // Biotecnol Apl. 2006. Vol.23 (1). <https://www.researchgate.net/publication/255617619>.
161. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
162. Brenchley R, Spannagl M, Pfeifer M., Barker G.L.A., D'Amore R, Allen A.M. McKenzie N., Kramer M. , Kerhornou A., Bolser D., Kay S., Waite D., Trick M., Bancroft I., Gu Y., Huo N., Luo M.Ch., Sehgal S., Gill B., Kianian Sh., Anderson O.,

- Kersey P., Dvorak J., McCombie W.R., Hall A., Mayer K.F.X., Edwards K.J., Bevan M.W., Hall N. Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing // *Nature*. 2012. Vol. 491. P. 705–71.
163. Brisson N., Gate Ph., Gouache D., Charmet G., Oury F.X., Huard F. Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France // *Field Crop Res.* 2010. Vol. 119. P. 201 – 212.
164. Bukhov N.G., Wiese Ch., Neimanis S., Heber U. Heat sensitivity of chloroplasts and leaves: Leakage of protons from thylakoids and reversible activation of cyclic electron transport // *Photosynth Res.* 1999. Vol. 59 (1). P. 81 – 93.
165. Cai Y., Arikath J., Yang L., Guo M.L., Periyasamy P., Buch Sh. Interplay of endoplasmic reticulum stress and autophagy in neurodegenerative disorders // *Autophagy*. 2016. Vol. 12, № 2. P. 225 – 244.
166. Cai Y.M., Yu J., Gallois P. Endoplasmic reticulum stress-induced PCD and caspase-like activities involved // *Front Plant Sci.* 2014. Vol. 5. Ar. 41. DOI: 10.3389/fpls.2014.00041.
167. Carolino S.M.B. Vaez J.R., Irsigler A.S.T., Valente M.A.S., Rodrigues L.A.Z., Fontes E.P.B. Plant BiP gene family: differential expression, stress induction and protective role against physiological stresses // *Braz. J. Plant Physiol.* 2003, Vol. 15 (2). P. 59 – 66.
168. Caverzan A., Casassola A., Brammer S.P. Antioxidant responses of wheat plants under stress // *Genet. Mol. Biol.* 2016. Vol. 39, № 1. P. 1 – 6.
169. Centomani I., Sgobba A., D'Addabbo P., Dipierro N., Paradiso A., Gara L. De, Dipierro S., Viggiano L., de Pinto M.C. Involvement of DNA methylation in the control of cell growth during heat stress in tobacco BY-2 cells // *Protoplasma*. 2015. Vol. 525, Is. 6. P. 1451 – 1459.
170. Cha J. Y., Kim J.Y., Kang S.B., Kim M.R., Su'udi M., Kim W.Y., Son D. Structural and functional differences of cytosolic 90-kDa heat-shock proteins (Hsp90s) in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol Biochem.* 2013. Vol. 70. P. 368 – 373.

171. Chakraborty U., Pradhan D. High temperature-induced oxidative stress in *Lens culinaris*, role of antioxidants and amelioration of stress by chemical pre-treatments // *J PLANT INTERACT*. 2011. Vol. 6 (1). P. 43 – 52.
172. Chandel C., Meena R.K., Dudey M. Differential expression of heat shock proteins and heat stress transcription factor genes in rice exposed to different levels of heat stress // *Plant Physiol Biochem*. 2013. Vol. 22 (3). P. 277 – 285.
173. Charles S.A., Halliwell B. Light activation of fructose biphosphatase in isolated spinach chloroplasts and deactivation by hydrogen peroxide: A physiological role for the thioredoxin system // *Planta*. 1981. Vol. 151. P. 242 – 246.
174. Chen Q., Lauzon L. M., DeRocher A.E., Vierling E. Accumulation, stability, and localization of a major chloroplast heat-shock protein // *J. Cell Biol*. 1990. Vol. 110 (6). P. 1873–1883.
175. Chen X., Lin Sh., Liu Q., Huang J., Zhang W., Lin J., Wang Y., Ke Y., He H. Expression and interaction of small heat shock proteins (sHsps) in rice in response to heat stress // *BBA*. 2014. Vol. 1844. P. 818 – 828.
176. Chen Y., Brandizzi F. IRE1: ER stress sensor and cell fate executor // *Trend Cell Biol*. 2013. P. 547 – 555.
177. Chen Y., Duan Zh., Chen P., Shang Y., Wang Ch. The Bax inhibitor MrBI-1 regulates heat tolerance, apoptotic-like cell death, and virulence in *Metarhizium robertsii* // *Sci Rep*. 2015. Vol. 5:10625. DOI: 10.1038/srep10625.
178. Chmielowska-Bąk J.J., Izbiańska K., Deckert J. Products of lipid, protein and RNA oxidation as signals and regulators of gene expression in plants // *Front Plant Sci*. 2015. Vol. 6. Ar 405. DOI: 10.3389/fpls.2015.00405.
179. Cho Y., Kanehara K. Endoplasmic Reticulum Stress Response in *Arabidopsis* Roots // *Front Plant Sci*. 2017. 8: 144. DOI :10.3389/fpls.2017.00144.
180. Chou T.Sh., Chao Y.Y., Kao Ch. H. Involvement of hydrogen peroxide in heat shock- and cadmium-induced expression of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in leaves of rice seedling // *Plant Physiol*. 2012. Vol. 169. P. 478 – 486.

181. Coll N. S., Vercammen D., Smidler A., Clover C., van Breusegem F., J. Dangel L., Epple P. Arabidopsis type I metacaspases control cell death // *Science* 2010. Vol. 330(6009). P. 1393 – 1397.
182. Crafts-Brandner S.J., Salvucci M.E. Sensitivity of Photosynthesis in a C4 Plant, Maize, to Heat Stress // *Plant Physiol.* 2002. Vol. 129(4). P. 1773 – 80.
183. Cronjé M., Bornman L., Weir I.E. Salicylic acid-mediated proteolysis of Hsp70 induction correlates with reduced apoptosis in tobacco protoplasts // *Cytometry Part A*. 2004. Vol. 61, № 1. P. 76 – 87.
184. Cybulski L.E., De Mendoza D. Playing with transmembrane signals // *Commun. Integr. Biol.* 2011. Vol. 4. P. 69–71.
185. D'Angeli S., Altamura M.M. Osmotin induces cold protection in olive trees by affecting programmed cell death and cytoskeleton organization // *Planta*. 2007. Vol. 225. P. 1147 – 1163.
186. Dat J., Vandenabeele S., Vranová E., van Montagu M., Inzé D., van Breusegem F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses // *Cell Mol Life Sci.* 2000. Vol. 57(5). P. 779 – 795.
187. Davidson J.F., Schiestl R.H. Mitochondrial respiratory electron carriers are involved in oxidative stress during heat stress in *Saccharomyces cerevisiae* // *Mol Cell Biol.* 2001. Vol. 21(24). P. 8483 – 8489.
188. Davletova S., Schlauch K., Coutu J., Mittler R. The zinc-finger protein Zat12 plays a central role in reactive oxygen and abiotic stress signaling in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2005. Vol. 139. P. 847 – 856.
189. De Giorgi F., Lartigue L., Bauer M.K., Schubert A., Grimm S., Hanson G. T., Remington S. J., Youle R.J., Ichas F. The permeability transition pore signals apoptosis by directing Bax translocation and multimerization // *FASEB J.* 2002. Vol. 16(6). P. 607 – 609.
190. De Giorgi F., Lartigue L., Beuer M.K., Schubert A., Grimm S., Hanson G.T., S. Remington J., Youle R.J., Ichas F. The permeability transition pore signals apoptosis by directing Bax translocation and multimerization // *FASEB J.* 2002. Vol. 16(6). P. 607 – 609.

191. Demidchik V. Reactive oxygen species and oxidative stress in plants // Plant stress physiology. 2012. P. 24 – 58.
192. Deng Y., Srivastava R., Howell S.H. Endoplasmic reticulum (ER) stress response and its physiological roles in plants // Int. J. Mol. Sci. 2013. Vol. 14. P. 8188 – 8212.
193. Deocaris C.C., Kaul S.C., Wadhwa R. On the brotherhood of the mitochondrial chaperones mortalin and heat shock protein 60 // Cell stress chaperon. 2006. Vol. 11.(2). P. 116 – 128.
194. DeRocher A.E., Helm K.W., Lauzon L.M., Vierling E. Expression of a conserved family of cytoplasmic low molecular weight heat stress proteins during heat stress and recovery // Plant Physiol. 1991. Vol. 96 (4). P. 1038 – 1047
195. Digel I. Primary thermosensory events in cells // Adv. Exp. Med. Biol. 2011. Vol. 704. P. 451–468.
196. Distéfano A.M., Martin M.V., Córdoba J.P., Bellido A.M., D'ippólito S., Colman S.L., Soto D., Roldán J.A., Bartoli C.G., Pagnussat G.C. Heat stress induces ferroptosis-like cell death in plants // J Cell Biol. 2017. Vol. 216. P. 463 476.
197. Dixon S. J., Lemberg K.M., Lamprecht M.R., Skouta R., Zaitsev E.M., Gleason C.E., Patel D.N., Bauer A.J., Cantley Al.M., Yang W.S., Morrison III B., Stockwell B.R. Ferroptosis: An irin-dependent form of non-apoptotic cell death, // Cell . 2012. – Vol. 149(5). P. – 1060 – 1072.
198. Dolferus R., Ji X., Richards R.A. Abiotic stress and control of grain number in cereals // Plant Sci . 2011. Vol. 181. P. 331 – 341.
199. Duan Y.H., Guo J.G., Ding K., Wang Sh.J., Zhang H., Dai X.W., Chen Y.Y., Govers F., Huang L.L., Kang Zh.Sh. Characterization of a wheat HSP70 gene and its expression in response to stripe rust infection and abiotic stresses // Mol Biol Rep. 2011. Vol. 38. P. 301 – 307.
200. Dudkiewicz M.Z., Piszczek E. Bacterial putative metacaspase structure from *Geobacter sulfureducens* as a template for homology modeling of type II *Triticum aestivum* metacaspase (TaeMCAII) // Acta Biochim Pol. 2012. Vol.59(3). P. 401 – 406.
201. Egorova V.P.,Lo Y.Sh., Dai H. Programmed cell death induced by heat shock in mung bean seedlings // Bot Stud. 2011. Vol. 52. P. 73 – 78.

202. El-Beltagi H., Ahmed O.K., Hegazy A.E. Protective effect of nitric oxide on high temperature induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*) callus culture // Not Sci Biol. 2016. Vol. 8(2). P. 192 – 198.
203. Fahad Sh. Hussain S., Saud S., Tanveer M., Bajwa A.A., Hassan S., Shah A.N., Ullah A., Wu Ch., Khan F.Ah., Shah F. A biochar application protects rice pollen from high-temperature stress // Plant Physiol. Biochem. 2015. Vol. 96 P. 281–287.
204. Fahad Sh., Bajwa A.A. Nazir U., Anjum Sh.A., Farooq A., Zohaib A., Sadia S., Nasim W., Adkins S., Saud Sh., Ihsan M.Z., Alharby H., Wu Ch., Wang D., Huang J. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management // Front Plant Sci. 2017. Vol. 8. P. 1147.
205. Fahad Sh., Hussain S., Saud S., Khan, Hassan F. S., Amanullah, Nasim W., Arif Wang M., F., Huang J. Exogenously applied plant growth regulators affect heat-stressed rice pollens // J. Agron. Crop Sci. 2016. P. 139–150.
206. Falcone D. L., Ogas J. P., Somerville Ch. R. Regulation of membrane fatty acid composition by temperature in mutants of Arabidopsis with alterations in membrane lipid composition // BMC Plant Biology. 2004. 4:17. DOI: 10.1186/1471-2229-4-17.
207. Fan T., Xing T. Heat shock induces programmed cell death in wheat leaves // Biol Plantarum. 2004. Vol. 48(3). P. 389 – 394.
208. Ferris R., Ellis R.H., Wheeler T.R., Hadley P. Effect of high temperature stress at anthesis on grain yield and biomass of field-grown crops of wheat // Annals of Botany. 1998. Vol. 82. P. 631–639.
209. Finka A., Cuendet A.F.H., Maathuis F.J.M., Saidi Y., Gloubinoff P. Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance // The Plant Cell. 2012. Vol. 24. P. 3333 – 3348.
210. Galluzzi L., Vitale I., Abrams J.M., Alnemri E.S., Baehrecke E.H., Blagosklonny M.V., Dawson T.M., Dawson V.L., El-Deiry W.S., Fulda S., Gottlieb E., Green D.R., Hengartner M.O., Kepp O., Knight R. A, Kumar S., Lipton S.A., Lu X., Madeo F., Malorni W. Mehlen, P., Nuñez G., Peter M.E., Piacentini M., Rubinsztein D.C., Shi Y., Simon H.U., Vandenabeele P., White E., Yuan J., Zhivotovsky B., Melino G., Kroemer G. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the

- Nomenclature Committee on Cell Death 2012 // Cell Death Diff. 2012. Vol. 19. P. 107 – 120.
211. Gao F., Han X., Wu J., Zheng S., Sun D., Zhou R., Li B. A heat-activated calcium-permeable channel – Arabidopsis cyclic nucleotide-gated ion channel 6 – involved in heat shock responses // Plant J. 2012. P. 1056 – 1069.
212. Gill S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // Plant Physiol Biochem. 2010. Vol. 48. P. 909 – 930.
213. Giri A. Effect of acute heat stress on nutrient uptake by plant roots: Master of Science Degree in Biology. Toledo. 2013. 43 p.
214. Giri A., Heckathorn S., Mishra S., Krause Ch. Heat stress decreases levels of nutrient-uptake and –assimilation proteins in tomato roots // Plants (Basel). 2017. Vol. 6 (1): 6. DOI: 10.3390/plants6010006.
215. Goes F.S., Martin J. Hsp chaperone complex are required for the activity and stability of yeast protein kinases Mik1, Wee1 and Swe1 // Eur. J. Biochem. 2001. Vol. 268. no. 8. P. 2281 – 2289.
216. Gouache D., Le Bris X., Bogard M., Deudon O., Page Ch., Gate Ph. Evaluating agronomic adaptation options to increasing heat stress under climate change during wheat grain filling in France // Europ.J.Agronomy. 2012. Vol. 39. P. 62 – 70.
217. Green D.R., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis // Science. 1998. Vol. 28;281(5381). P. 1309 – 1312.
218. Grover A., Mittal Dh., Negi M., Lavania D. Generating high temperature tolerant transgenic plants: achievements and challenges // Plant Sci 2013. Vol. 205-206. P. 38 – 47. DOI: 10.1016/j.plantsci.2013.01.005.
219. Grun G., Berger S., Matthes D., Mueller M.J. Early accumulation of non-enzymatically synthesized oxylipins in *Arabidopsis thaliana* after infection with *Pseudomonas syringae* // Funct. Plant Biol. 2007. Vol. 34. P. 65–71.
220. Guan Q., Liao X., He M., Li X., Wang Zh., Ma H. , Yu S. , Liu Sh. Tolerance analysis of chloroplasts Is Cu/Zn-SOD overexpression rice under NaCL and NaHCO₃ stress // PLOS One. 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0186052.

221. Guo M., Zhai Y.F., Lu J.P., Chai L., Chai W.G., Gong Zh.H., Lu M.H. Characterization of CaHsp70-1, a Pepper heat-shock protein gene in response to heat stress and some regulation exogenous substances in *Capsicum annuum* L // *Int J Mol Sci*. 2014. Vol. 15. P. 19741 – 19759.
222. Gupta N.K., Agarwa Sh., Agarwal V.P., Nathawat N.S., Gupta S., Singh G. Effect of short-term heat stress on growth, physiology and antioxidative defence system in wheat seedlings // *Acta Physiologiae Plantarum*. 2013. Vol. 35, Is. 6. P. 1837–1842.
223. Hahn A., Bublak D., Schleiff E., Scharf K.D. Crosstalk between Hsp90 and Hsp70 chaperones and heat stress transcription factors in tomato // *Plant Cell*. 2011. Vol. 23 (2). P. 741 – 755.
224. Harding S.A., Guikema J.A., Paulsen G.M. Photosynthetic decline from high temperature stress during maturation of wheat // *Plant Physiol*. 1990. Vol. 92. P. 648 – 653.
225. Hasanuzzaman M., Nahar K., Alam Md. M., Roychowdhury R., Fujita M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants // *Int. J. Mol. Sci*. 2013. Vol. 4 (5). P. 9643 – 9684.
226. Haslbeck M., Vierling E. A first line of stress defense: small heat shock proteins and their function in protein homeostasis // *J Mol Biol*. 2015. Vol. 427(7) P. 1537 – 1548.
227. Hatfield J.L., Boote K.J., Kimball B.A., Ziska L.H., Izaurralde R.C. Climate impacts on agriculture: implications for crop production // *Agron. J*. 2011. Vol. 103, Is. 2. P. 351 – 370.
228. Hatfield J.L., Prueger J.H. Temperature extremes: Effect on plant growth and development // *Weather and climate extremes*. 2015. Vol. 10. P. 4 – 10.
229. Hatsugai N., Yamada K., Sh.Goto-Yamada, Hara-Nishimura I. Vacuolar processing enzyme in plant programmed cell death // *Front Plant Sci*. 2015. 6: 234. DOI: 10.3389/fpls.2015.00234
230. Havaux M. Characterization of thermal damage to the photosynthetic electron transport system in potato leaves // *Plant Science*. 1993. Vol. 94. P. 19. – 33.

231. Heath M.C. Hypersensitive response-related death // *Plant Mol Biol.* 2000. Vol. 44 (3). P. 321 – 334.
232. Hoeberichts F.A., Woltering E.J. Multiple mediators of plant programmed cell death: interplay of conserved cell death mechanisms and plant-specific regulators // *Bioessays.* 2003. Vol. 25(1). P. 47 – 57.
233. Hollien J., Lin J.H., Li H., Stevens N., Walter P., Weissman J.S. Regulated *Irel*-dependent decay of messenger RNA in mammalian cells // *J. Cell Biol.* 2009. Vol. 186 (3). P. 323 – 331.
234. Hong S.W., Vierling E. Mutants of *Arabidopsis thaliana* defective in the acquisition of tolerance to high temperature stress // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2000. Vol. 97. P. 4392 – 4397.
235. Horváth I., Glatz A., Nakamoto H., Mishkind M.L., Munnik T., Saidi Y., Gloubinoff P., Harwood J.L., Vigh L. Heat shock response in photosynthetic organisms: Membrane and lipid connections // *Prog Lipid Res.* 2012. Vol. 51. P. 208 – 220.
236. Horváth I., Glatz A., Varvasovszki V., Török Z., Pali T., Balogh G., Kovacs E., Nádasdi L., Benkő S., Joó F., Vigh L. Membrane physical state controls the signaling mechanism of the heat shock response in *Synechocystis* PCC 6803: Identification of *hsp17* as a «fluidity gene» // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. Vol. 95. P. 3513 – 3518.
237. Huerta C., Freire M., Cardemil L. Expression of HSP70, hsp100 and ubiquitin in *Aloe barbadensis* Miller under direct heat stress and under temperature acclimation conditions // *Plant Cell Rep.* 2013. Vol. 32. P. 293 – 307.
238. Hüve K., Bichele I., Rasulov B., Niinemets Ü. When it is too hot for photosynthesis: heat-induced instability of photosynthesis in relation to respiratory burst, cell permeability changes and H₂O₂ formation // *Plant Cell Environ.* 2011. Vol. 34. P. 113–126.
239. Ibrahim M.M., Alsahli A.A., Al-Ghamdi A.A. Cumulative abiotic stresses and their effect on the antioxidant defense system in two species of wheat, *Triticum durum* desf and *Triticum aestivum* L. // *Arch Biol Sci.* 2013. Vol. 65. P. 1423–1433.
240. Impa S. M., Sunoj V.S.J., Krassovskaya I., Bheemanahalli R., Obata T., Jagadish S.V.K. Carbon balance and source-sink metabolic changes in winter wheat

- exposed to high night-time temperature // *Plant Cell Environ.* 2018. DOI: 10.1111/pce.13488.
241. Iqbal M., Raja N.I., Mashwani Z.U.R., Hussain M., Ejaz M., Yasmeen F. Effect of silver nanoparticles on growth of wheat under heat stress // *Iran J Sci Technol Trans Sci.* 2017. DOI.org/10.1007/s40995-017-0417-4
242. Irigoyen J.J., Goicoechea N., Antolin M.C., Pascual I., Sánchez-Díaz M., Aguirreolea J., Morales F. Growth, photosynthetic acclimation and yield quality in legumes under climate change simulations: An updated survey // *Plant Science.* 2014. Vol. 226. P. 22 – 29.
243. Iwata Y., Koizumi N. Plant transducer of the endoplasmic reticulum unfolded protein response // *Trends Plant Sci* 2012. Vol. 17 (12). P. 720 – 727.
244. Iwata Y., Koizumi N. An Arabidopsis transcription factor, AtbZIP60, regulates the endoplasmic reticulum stress response in a manner unique to plants // *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* 2005. Vol. 102(14). P. 5280 – 5285.
245. Jäättelä M., Wissing D., Kokholm K., Kallunki T., Egeblad M. Hsp70 exerts its anti-apoptotic function downstream of caspase-3-like proteases // *EMBO.* 1998. Vol. 17, № 21. P. 6124 – 6134.
246. Jabs T., Dietrich R.A., Dangl J.L. Initiation of runaway cell death in an Arabidopsis mutant by extracellular superoxide. 1996. *Science.* Vol. 273. P. 1853–1856.
247. Jajic I., Sarna T., Strzalka K. Senescence, stress, and reactive oxygen // *Plants.* 2015. Vol. 4. P. 393 – 411.
248. Janda T., Szalai G., Rios-Gonzalea K., Veisz O., Páldi E. Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals // *Plant Sci.* 2003. Vol. 164. P. 301 – 306.
249. Johnson A.E., Haigh N.G. The ER Translocon and Retrotranslocation: Is the Shift into Reverse Manual or Automatic? // *Cell.* 2000. Vol. 102. P. 709–712.
250. Jones H.G. Stomatal control of Photosynthesis and Transpiration // *J. Exp. Bot.* 1998. Vol. 49. P. 387–398.
251. Kadota Y., Shirasu K. The HSP90 complex of plants // *Biochimica et Biophysica Acta.* 2012. P. 689 – 697.

252. Kawai-Yamada M., Jin L., Yoshinaga K., Hirata A., Uchimiya H. Mammalian Bax-induced plant cell death can be down-regulated by overexpression of *Arabidopsis Bax Inhibitor-1 (AtBI-1)* // PNAS. 2001. Vol. 98 (21). P. 12295 – 12300.
253. Kawai-Yamada M., Ohori Y., Uchimiya H. Dissection of *Arabidopsis Bax Inhibitor-1* suppressing Bax-, hydrogen peroxide-, and salicylic acid-induced cell death // The plant cell. 2004. Vol. 16. P. 21 – 32.
254. Kawai-Yamada M., Saito Y., Jin L., Ogawa T., Kim K.M., Yu L.H., Tone Y., Hirata A., Umeda M., Uchimiya H. Novel *Arabidopsis* gene causes bax-like lethality in *Saccharomyces cerevisiae* // J Biol Chem. 2005. Vol. 280 (47). P. 39468 – 39473.
255. Kemp D.R., Blacklow W.M. The responsiveness to temperature of the extension rates of leaves of wheat growing in the field under different levels of nitrogen fertilize / D. // J Exp Bot. 1982. Vol. 33 (1). P. 29–36.
256. Khan N.A., Khan S., Naz N., Shah M., Irfanullah, Ahmad S., Sher H., Khan A. Effect of heat stress on growth, physiological and biochemical activities of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Int. J. Biosci. 2017. Vol. 11 (4). P. 173 – 183.
257. Kim Ch., Meskauskiene R., Aple K., Laloi Ch. No signal way to understand singlet oxygen signaling in plants // EMBO reports. 2008. Vol. 9 (5). P. 435 – 439.
258. Kim D. H., Xu Z.-Y., Na Y. J., Yoo Y.-J., Lee J., Sohn E.-J., Hwang I. Small heat shock protein Hsp17.8 functions as an AKR2A cofactor in the targeting of chloroplast outer membrane proteins in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2011. Vol. 157. P. 132 – 146.
259. Kim S. M., Bae C. , Oh S. K., Choi D. A pepper (*Capsicum annuum* L.) metacaspase 9 (*Camc9*) plays a role in pathogen-induced cell death in plants // Mol Plant Pathol. 2013. Vol. 14 (6). P. 557 – 566.
260. Kim S. R., An G. Rice chloroplast-localized heat shock protein 70, OsHsp, is essential for chloroplast development under high-temperature conditions // Plant Physiol. 2013 Vol. 70 (9). P. 854 – 863.
261. Kirschner M., Winkelhaus S., Thierfelder J.M., Nover L. Transient expression and heat-stress-induced co-aggregation of endogenous and heterologous small heat-stress proteins in tobacco protoplasts // Plant J. 2000. Vol. 24. P. 397 – 411.

262. Kobza J., Edwards G. E. Influences of leaf temperature on photosynthetic carbon metabolism in wheat // *Plant Physiol.* 1987. Vol. 83. P. 69 – 74.
263. Kohila S., Gomathi R. Adaptive physiological and biochemical response of sugarcane genotypes to high-temperature stress // *Ind J Plant Physiol.* 2018. Vol. 23 (2). P. 245 – 260.
264. Koizumi N. Isolation and responses to stress of a gene that encodes a luminal binding protein in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Physiol.* 1996. Vol. 37. P. 862 – 865.
265. Komayama K., Khatoon M., Takenaka D., Horie J., Yamashita A., Yoshioka M., Nakayama Y., Yoshida M., Ohira S., Morita N., Velitchkova M., Enami I., Yamamoto Y. Quality control of photosystem II: Cleavage and aggregation of heat-damage D1 protein in spinach thylakoids // *BBA.* 2007. P. 838 – 846.
266. Kong W., Liu F., Zhang Ch., Zhang J., Feng H. Non-destructive determination of malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging // *Sci Rep.* 2016. Vol. 6:35393. DOI: 10.1039/srep35393.
267. Königshofer H., Tromballa H.-W., Löppert H-G. Early events in signalling high-temperature stress in tobacco BY2 cells involve alteration in membrane fluidity and enhanced hydrogen peroxide production // *Plant Cell Environ.* 2008. Vol. 31. P. 1771 – 1780.
268. Kørner C.J., Du X., Vollmer M.E., Pajerowska-Mukhtar K.M. Endoplasmic reticulum stress signaling in plant immunity - at the crossroad of life and death // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 16 (11). P. 26582 – 26598.
269. Kotak S., Larkindale J., Lee U., Koskull-Doring P., Vierling E., Scharf K.D. Complexity of the heat stress response in plants // *Curr Opin Plant Biol* 2007. Vol. 10. P. 310 – 316.
270. Kozutsumi N. Isolation and responses to stress of a gene that encodes a luminal binding protein in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Physiol.* 1996. Vol. 37(6). P. 862 – 865.

271. Kranner I, Minibayeva F.V., Beckett R.P., Seal Ch.E. What is stress? Concepts, definitions, and applications in seed science // *New Phytol.* 2010. Vol. 188 (3). P. 655 – 673.
272. Kroemer G., Galluzzi L., Vandenabeele P., Abrams J., Alnemri E.S., Baehrecke E.H., Blagosklonny M.V., El-Deiry W.S., Glostein P., Green D.R., Hengartner M., Knight R.A., Kumar S., Lipton S.A., Malorni W., Nuñez G., Peter M.E., Tschopp J., Yuan J., Piacentini M., Zhivotovsky B., Melino G. Classification of cell death: recommendations of Nomenclature committee on cell death 2009 // *Cell Death Differ.* 2009. Vol. 16(1). P. 3 – 11.
273. Kruse J., Rennenberg H., Adams M. A. Steps towards a mechanistic understanding of respiratory temperature responses // *New Phytol.* 2011. Vol. 189. P. 659 – 677.
274. Kumar R.R., Goswami S., Sharma S.K., K. Singh, Gadpayle K.A., Kumar N., Rai G. Singh K.,M., Rai R.D. Protection against heat stress in wheat involves change in cell membrane stability, antioxidant enzymes, osmolyte, H₂O₂ and transcript of heat shock protein // *IJPPB.* 2012. Vol. 4 (4). P. 83 – 91.
275. Kumar R.R., Sharma S.K., Goswami S., Singh Kh., Gadpayle K.A., Singh G.P., Pathak H., Rai R.D. Transcript profiling and biochemical characterization of mitochondrial superoxide dismutase (mtSOD) in wheat (*Triticum aestivum*) under differential exogenous stresses // *Aust J Crop Sci.* 2013. Vol. 7 (3). P. 414 – 424.
276. Kurimoto K., Day D.A., Lambers H., Noguchi K. Effect of respiratory homeostasis on plant growth in cultivars of wheat and rice // *Plant Cell Environ.* 2004. Vol. 27. P. 853 – 862.
277. Kwon S.I., Park O.K. Autophagy in Plants // *J Plant Biol.* 2008. Vol. 51(5). P. 313 – 320.
278. Lacomme Ch., Cruz S.S. Bax-induced cell death in tobacco is similar to the hypersensitive response // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 7956 – 7961.
279. Laloi Ch., Havaux M. Key players of singlet oxygen-induced cell death in plants // *Front Plant Sci.* 2015. Vol. 6. Ar. 39. DOI: 10.3389/fpls.2015.00039.
280. Lambers H., Pons T.L, Chapin III F.S. *Plant physiological ecology.* New York: Springer Science+Business Media, LLC, 1998. 604 p.

281. Larcher W. Physiological plant ecology: Ecophysiology and stress physiology of functional groups. Translated by E. Huber-Sannwald. Berlin; New York. Springer. 2003. 426 p.
282. Law R.D., Crafts-Brandner S.J. Inhibition and acclimation of photosynthesis to heat stress is closely correlated with activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase // *Plant Physiol.* 1999. Vol. 120 (1). – P. 173–182.
283. Leborgne-Castel, N., Jelitto-Van Dooren, E.P.W.M., Crofts, A.J., Denecke, J. Overexpression of BiP in tobacco alleviates endoplasmic reticulum stress // *Plant Cell.* 1999. Vol. 11. P. 459 – 470.
284. Lee J.-Y., Lee H.S., Song J.Y., Jung Y.J., Reinbothe S, Park Y.I., S. Lee Y., Pai H.S. Cell growth defect factor1/CHAPERONE-LIKE PROTEIN OF POR1 plays a role in stabilization of light-dependent protochlorophyllide oxidoreductase in *Nicotiana benthamiana* and *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2013. P. 3944–3960.
285. Levitt J. Responses of plants to environmental stresses Vol.1. Chilling, freezing and high temperatures stresses. N. Y. etc.: Acad. press, 1980. 497 p.
286. Lewicka S., Pietruzka M. Theoretical search for the growth-temperature relationship in plants // *Gen. Physiol. Biophys.* 2006. Vol. 25. P. 125 – 136.
287. Li J.Y., Jiang A.L., Zhang W. Salt stress-induced programmed cell death in rice root tip cells // *J. Integr. Plant Biol.* 2007. Vol. 49 (4). P. 481 – 486.
288. Li Z., Yue H., Xing D. MAP Kinase 6-mediated activation of vacuolar processing enzyme modulates heat shock-induced programmed cell death in *Arabidopsis* // *New Phytol.* 2012. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2012.04131.x.
289. Lichtenthaler H. K. The stress concept in plants: an introduction // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1998. Vol. 851. P. 187 – 198.
290. Lichtenthaler H.K. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants // *Plant Physiol.* 1996. Vol. 148. P. 4 – 14.
291. Lin F., Qu Y., Zhang Q. Molecules regulating cytoskeletal organization in plant abiotic stress tolerance // *Plant signaling and behavior.* 2014. Vol. 9. DOI:10.4161/psb.28337.

292. Lin J. H., Li H., Yasumura D., Cohen H.R., Zhang Ch., Panning B., Shokat K.M., M. LaVail M., Waiter P. IRE1 signaling affects cell fate during the unfolded protein response // *Science*. 2007. Vol. 318(5852). P. 944 – 949.
293. Link V., Sinha K., Vashista P., Hofmann M.G., Proels R.K., Ehness R., Roitsch T. A heat-activated MAP kinase in tomato: a possible regulator of the heat stress response // *FEBS Letters*. 2002. Vol. 531. P. 179 – 183.
294. Liu H. Ch., Liao H.T., Charng Y.Y. The role A1 heat shock factors (HSFA1s) in response to heat and other stresses in *Arabidopsis* // *Plant Cell Environ*. 2011. Vol. 34. P. 738 – 751.
295. Liu J.X. Srivastava R., Che P., Howell S.H. Salt stress responses in *Arabidopsis* utilize a signal transduction pathway related to endoplasmic reticulum stress signaling // *Plant J*. 2007a. Vol. 51. P. 897 – 909.
296. Liu J.X., Howell S.H. Endoplasmic reticulum protein quality control and its relationship to environmental stress responses in plants // *The Plant Cell*. 2010. Vol. 22. P. 2930 – 2942.
297. Liu J.X., Srivastava R., Che P., Howell S.H. An endoplasmic reticulum stress response in *Arabidopsis* is mediated by proteolytic processing and nuclear relocation of a membrane-associated transcription factor, bZIP28 // *Plant Cell*. 2007b. Vol. 19 (12). P. 4111 – 4119.
298. Liu P., Guo W., Pu H., Feng Ch., Zhu X., Peng Y. Effects of high temperature on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in flag leaves of wheat during grain filling period // *Agr Sci China*. 2006. Vol. 5 (6). P. 452 – 430.
299. Liu Zh., Xin M., Qin J., Peng H., Ni Zh., Yao Y., Sun Q. Temporal transcriptome profiling reveals expression partitioning of homeologous genes contributing to heat and drought acclimation in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *BMC Plant Biol*. 2015. DOI: 10.1186/s12870-015-0511-8.
300. Livak K.J., Schmittgen Th.D. Analysis of relative gene expression data using real-time PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method // *Methods*. 2001. Vol. 25. P. 402 – 408.

301. Locato V., Gadaleta C., de Gara L, de Pinto M.C. Production of reactive species and modulation of antioxidant network in response to heat shock: a critical balance for cell fate // *Plant Cell Environ.* 2008. Vol. 31. P. 1606 – 1619.
302. Loeffler C., Berger S., Guy A., Durand T., Bringmann G., Dreyer M., von Rad U., Durner J., Mueller M.J. B1- phytoprostanes trigger plant defense and detoxification responses // *Plant Physiol.* 2005. Vol. 137. P. 328 – 340.
303. Los D.A, Murata N. Membrane fluidity and roles in the perception of environmental signaling // *BBA.* 2004. Vol. 1666. P. 142 – 157.
304. Lu C.M., Zhang J.H. Heat-induced multiple effects on PSII in wheat plants // *Plant Physiol.* 2000. Vol. 5 (2). P. 259 – 265.
305. Lund A. A., Blum P. H., Bhatramakki D ., Elthon T. E. Heat-Stress response of maize mitochondria // *Plant Physiol.* 1998. Vol. 116. P. 1097–1110.
306. Luo Y., Wang W., Fan Y.Z., Gao Y.M., Wang D. Exogenously-supplied trehalose provides better protection for d1 protein in winter wheat under heat stress // *Russ. J. Plant Physiol.* 2018. Vol. 65 (1). P. 115–122.
307. Lyubushkina I.V., Grabelnych O.I., Pobezhimova T.P., Stepanov A.V., Fedyaeva A.V., Fedoseeva I.V., Voinikov V.K. Winter wheat cells subjected to freezing temperature undergo death process with features of programmed cell death // *Protoplasma.* 2014. Vol. 251. P. 615 – 623.
308. Ma W., Xu W., Xu H., Chen Y., He Zh., Ma M. Nitric oxide modulates cadmium influx during cadmium-induced programmed cell death in tobacco BY-2 cells // *Planta.* 2010. Vol. 232. P. 325 – 335.
309. Ma X., Zheng J., Zhang X., Hu Q., Qian R. Salicylic acid alleviates the adverse effects of salt stress on *Diantus superbus* (Caryophyllaceae) by activating photosynthesis, protecting morphological structure, and enhancing the antioxidant system // *Front Plant Sci.* 2017. Vol. 8. Ar. 600. DOI: 10.3389/fpls.2017.00600
310. Mainali K.P., Heckathorna S.A., Wanga D., Weintrauba M.N., Frantz J.M., Hamilton III E.W. Impact of a short-term heat event on C and N relations in shoots vs. roots of the stress-tolerant C4 grass, *Andropogon gerardii* // *Plant physiol.* 2014. Vol. 171. P. 977 – 985.

311. Mansoor S., Naqvi F.N. Effect of heat stress on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mung bean (*Vigna radiata* L) seedlings // *AJB*. 2013. Vol. 12 (21). P. 3196 – 3203.
312. Marsoni M., Cantara C., de Pinto M.C., Cadaleta C., de Gara L., Bracale M. Vannini, C. Exploring the soluble proteome of Tobacco Bright Yellow-2 cells at the switch towards different cell fates in response to heat shocks // *Plant Cell Environ.* 2010. Vol. 33. P. 1161 – 1175.
313. Mathur S., Agrawal D., Jajoo A. Photosynthesis: response to high temperature stress // *J Photochem Photobiol B*. 2014. Vol. 137. P. 116 – 126.
314. Mathur S., Jajoo A.A., Mehta P., Bharti S. Analysis of elevated temperature-induced inhibition of photosystem II using chlorophyll a fluorescence induction kinetics in wheat leaves (*Triticum aestivum*) // *Plant Biol (Stuttg)*. 2011. Vol. 13 (1). P. 1 – 6.
315. Maulana F., Ayalew H., Anderson J. D., Kumssa T. T., Huang W., Ma X. F. Genome-wide association mapping of seedling heat tolerance in winter wheat // *Front. Plant Sci*. 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01272.
316. Mayer M., Bukau B. Hsp70 chaperones: Cellular functions and molecular mechanism // *Cell. Mol. Life Sci*. 2005. Vol. 62. P. 670 – 684.
317. McCabe P. F., Levine A., Meijer P. J., Tapon N. A., Pennell R. I. A programmed cell death pathway activated in carrot cells cultured at low cell density // *The Plant Journal*. 1997. Vol. 12. P. 267 – 280.
318. McClung C. R., Davis S. J. Ambient thermometers in plants: from physiological outputs towards mechanisms of thermal sensing // *Curr. Biol*. 2010. 20:R1086–R1092.
319. Mei Y., Song S. Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination // *J. Zhejiang Univ. Sci*. 2010. Vol. 11, №12. P. 965 – 972.
320. Michaeli S., Galili G., Genschik P., Fenie A.R., Avin-Wittenberg T. Autophagy in plants – what’s new on the menu? // *Trends Plant Sci*. 2016. Vol. 21 (2). P. 134 – 144.
321. Miller G., Mittler R. Could heat shock transcription factors function as hydrogen peroxide sensors in plants? // *Ann Bot* 2006. Vol. 98. P. 279 – 288.

322. Miller G., Suzuki N., Rizhsky L., Hegie A., Koussevitzky Sh., Mittler R. Double mutants deficient in cytosolic and thylakoid ascorbate peroxidase reveal a complex made of interaction between reactive oxygen species, plant development, and response to abiotic stresses // *Plant Physiol.* 2007. Vol. 144. P. 1777 – 1785.
323. Mine A., Hyodo K., Tajima Y., Kusumanegara K., Taniguchi T., Kaido M., Mise K., Taniguchi H., Okuno T. Differential role of Hsp70 and Hsp90 in the assembly of the replicase complex of a positive-strand RNA plant virus // *J Virol.* 2012. Vol. 86 (22). P. 12091 – 12104.
324. Mir M. A., Sirhindi G., Alyemeni M., Alam P. Jasmonic acid improves growth performance of soybean under nickel toxicity by regulating nickel uptake, redox balance. And oxidative stress metabolism // *J Plant Growth Regul.* 2018. DOI: 10.1007/s00344-018-9814-y.
325. Miraglia M., Marvin H.J.P., Kleter G.A., Battilani P., Brera C., Coni E., Cubadda F., Croci L., De Santis B., Dekkers S., Filippi L., Hutjes R.W.A., Noordam M.Y., Pisante M., Piva G., Prandini A., Toti L., van den Born G.J., Vespermann A. Climate change and food safety: An emerging issue with special focus on Europe // *Food Chem Toxicol* 2009. Vol. 47. P. 1009 – 1021.
326. Mishiba K., Nagashima Y., Suzuki E., Hayashi N., Ogata Y., Shimada Y., Koizumi N. Defects in IRE1 enhance cell death and fail to degrade mRNAs encoding secretory pathway proteins in the Arabidopsis unfolded protein response // *PNAS.* 2013. Vol. 110 (14). P. 5713 – 5718.
327. Mittler R., Finka An., Goloubinoff P. How do plants feel the heat? // *Trends Biochem Sci.* 2012. Vol.37 (3). P. 118 – 125.
328. Mittler R., Zilinskas B.A. Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase // *J Biol Chem.* 1992. Vol. 267. P. 21802 – 21807.
329. Møller I. M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species / *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 2001. Vol. 52. P. 561 – 591.

330. Møller I.M., Jensen P.E., Hansoon A. Oxidative modifications to cellular components in plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2007. Vol. 58. P. 459 – 481.
331. Montero-Barrientos M. Hermosa R., Cardoza R.E., Gutierrez S. Transgenic expression of the *Trichoderma harzianum* hsp70 gene increases *Arabidopsis* resistance to heat and other abiotic stresses // *Plant Physiol.* 2010. Vol. 167. P. 659 – 665.
332. Morel J.B., Dangl J.L. The hypersensitive response and the induction of cell death in plants // *Cell Death Differ.* 1997. Vol. 4. P. 671 – 683.
333. Morgounov A., Sonder K., Abugalieva A., Bhadauria V., Cuthbert R.D., Shamanin V., Zelenskiy Y., DePauw R.M. Effect of climate change on spring wheat yields in North America and Eurasia in 1981- 2015 and implications for breeding // *PLOS ONE.* 2018. DOI:10.1371/journal.pone.0204932.
334. Mori I.C., Schroeder J.I. Reactive oxygen species activation of plant Ca^{2+} channels. A signaling mechanism in polar growth, hormone transduction, stress signaling, and hypothetically mechanotransduction // *Plant Physiol.* 2004. Vol. 135 (2). P. 702–708.
335. Mosa K. A., Ismail A., Helmy M. *Plant Stress Tolerance: An Integrated omics approach.* Springer, 2017. 73 p.
336. Moustaka J., Ouzounidou G., Sperdouli I., Moustakas M. Photosystem II is more sensitive than photosystem I to Al^{3+} induced phytotoxicity // *Materials (Basel).* 2018. Vol. 11(9): 1772. DOI: 10.3390/ma11091772.
337. Mu Ch., Zhang Sh., Yu G., Ni Ch., Li X., Liu H. Overexpression of small heat shock protein *LimHSP16.45* in *Arabidopsis* enhances tolerance to abiotic stresses // *PLOS ONE.* 2013. Vol. 8. 8(12): e82264. DOI: 10.1371/journal.pone.0082264.
338. Mullineaux Ph., Baker N.R. Oxidative stress: antagonistic signaling for acclimation or cell death? // *Plant Physiol.* 2010. Vol. 154 (2). P. 521 – 525.
339. Mullineaux Ph., Ball L., Escobar C., Karpinska B., Creissen G., Karpinski S. Are diverse signaling pathways integrated in the regulation of *Arabidopsis* antioxidant defence gene expression in response to excess excitation energy? // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 2000. Vol. 355. P. 1531 – 1540.

340. Mullineaux Ph., Karpinski S., Baker N.R. Spatial dependence for hydrogen peroxide – directed signaling in light-stressed plants // *Plant Physiol.* 2006. Vol. 141. P. 346 – 350.
341. Muthusamy S.K., Dalal M., Chinnusamy V., Bansal K.C. Genome-wide identification and analysis of biotic and abiotic stress regulation of small heat protein (HSP20) family gene in bread wheat // *Plant Physiol.* 2017. Vol. 211. P. 100 – 113.
342. Nagai T., Makino A. Differences between rice and wheat in temperature responses of photosynthesis and plant growth // *Plant Cell Physiol.* 2009. Vol. 50(4). P. 744 – 55.
343. Nahar K., Hasanuzzaman M., Alam Md. M., Rahman A., Mahmud J.Al, Suzuki T., Fujita M. Insights into spermine-induced combined high temperature and drought tolerance in mung bean: osmoregulation and roles of antioxidant and glyoxalase system // *Protoplasma.* 2017. Vol. 254. P.445 – 460.
344. Nahar K., Hasanuzzaman Md M., Alam M., Rahman A., Mahmud J.Al, Suzuki T., Fujita M. Insights into spermine-induced combined high temperature and drought tolerance in mung bean: osmoregulation and roles of antioxidant and glyoxalase system // *Protoplasma.* 2017. Vol. 254. P. 445–460.
345. Nakamoto H., Vigh L. The small heat shock proteins and their clients // *Cell Mol Life Sci.* 2007. Vol. 64(3). P. 294 – 306.
346. Nautiyal P.C., Shono M. Analysis of the role of mitochondrial and endoplasmic reticulum localized small heat shock proteins in tomato // *Biologia plantarum.* 2010. Vol. 54(4). P. 715 – 719.
347. Necchi A., Pogna N. E., Mapelli S. Early and late heat shock proteins in wheat and other cereal species // *Plant physiology.* 1987. Vol. 84. P. 1378 – 1384.
348. Neill S. J. , Desikan R., Clarke A.,Hurst R.D., Hancock J.T. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants // *Exp Bot.* 2002. Vol. 53(372). P. 1237 – 1247.
349. Nguyen A.N., Matsui A., Tanaka M., Mizunashi K., Nakaminami K., Hayashi M., Iida K., Toyoda T., Van Nguyen D., Seki M. Loss of arabidopsis 5'–3' exoribonuclease atxrn4 function enhances heat stress tolerance of plants subjected to severe heat stress // *Plant Cell Physiol.* 2015. Vol. 56 (9). P. 1762 – 1772.

350. Nguyen H.T., Joshi C.P., Klueva N., Weng J., Hendershot K.L., Blum A. The heat-shock response and expression of heat-shock proteins in wheat under diurnal heat stress and field conditions // *Aust J Plant Physiol.* 1994. Vol. 21 (6). P. 857 – 867.
351. Niemann B., Rohrbach S. Metabolically relevant cell biology – role of intracellular organelles for cardiac metabolism // *The scientist's guide to cardiac metabolism.* 2016. P. 19 – 38.
352. Niu Y., Xiang Y. An overview of biomembrane functions in plant responses to high-temperature stress // *Front Plant Sci.* 2018. Vol. 9. Article 915. DOI: 10.3389/fpls.2018.00915.
353. Noctor G., Fover C.H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control // *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 1998. Vol. 49. P. 249 – 279.
354. Olesen J.E., Trnka M., Kersebaum K.C. Skjelvag A.O., Seguin B., Peltonen-Sainio P., Rossi F., Kozyra J., Micale F. Impacts and adaptation of European crop production systems to climate change // *Europ.J.Agronomy.* 2011. Vol. 34. P. 96 – 112.
355. Olson M.L. Chalmers S., McCarron J.G. Mitochondrial organization and Ca²⁺ uptake // *Biochem. Soc. Trans.* 2012. Vol. 40. P. 158 – 167.
356. Ortiz R., Sayre K.D., Govaerts B., Gupta R., Subbarao G.V., Ban T., Hodson D., Dixon J.M., Ortiz-Monasterio J.I., Reynolds M. Climate change: Can wheat beat the heat? // *Agric Ecosyst Environ.* 2008. Vol. 126. P. 46 – 58.
357. Parra-Rojas J., Moreno A.A., Mitina I., Orellana A. The dynamic of the splicing of bZIP60 and the proteins encoded by the spliced and unspliced mRNAs reveals some unique features during the activation of UPR in Arabidopsis // *PLOS one.* 2015. Apr 10;10(4):e0122936. DOI: 10.1371/journal.pone.0122936.
358. Pastenes C., Horton R. Effect of High Temperature on Photosynthesis in Beans (I. Oxygen Evolution and Chlorophyll Fluorescence) // *Plant Physiol.* 1996. Vol. 112. P. 1245 – 1251.
359. Pavli O.I., Chikas D.V., Katsiotis A., Skaracis G.N. Differential expression of heat shock protein genes in sorghum (*Sorghum bicolor* L.) genotypes under heat stress // *AJCS.* 2011. Vol. 5, № 5. P. 511 – 515.

360. Pawlowski J., Kraft A.S. Bax-induced apoptotic cell death // PNAS. 2000. Vol. 97 (2). P. 529. – 531.
361. Petrov V., HilleJ., Mueller-Roeber B., Gechev T.S. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants // Front Plant Sci. 2015. 6:69. DOI: 10.3389/fpls.2015.00069.
362. Picard D. Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation // CMLS. 2002. Vol. 59. P. 1640 – 1648.
363. Pietruzka M., Lewicka S. Effect of temperature on plant elongation and cell wall extensibility // Gen. Physiol. Biophys. 2007. Vol. 26. P. 40 – 47.
364. Piszczek E., Dudkiewicz M., Sobczak M. Molecular cloning and phylogenetic analysis of cereal type II metacaspase cDNA from wheat // Biol Plantarum. 2011. Vol. 55 (4). P. 614 – 624.
365. Porter J.R., Gawith M. Temperatures and the growth and development of wheat: a review // Eur J Agron. 1999. Vol. 10. P. 23 – 36.
366. Prasad A., Kumar A., Matsuoka R., Takahashi A., Fujii R., Sugiura Y., Kikuchi H., Aoyagi Sh., Aikawa T., Kondo T., Yuasa M., Pospíšil P., Kasai Sh. Real-time monitoring of superoxide anion radical generation in response to wounding: electrochemical study // PeerJ. 2017. 5(1):e3050. DOI: 10.7717/peerj.3050.
367. Prasad P.V.V. Boote K.J., Jr L.H.A. Adverse high temperature effects on pollen viability, seed-set, seed yield and harvest index of grain-sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] are more severe at elevated carbon dioxide due to higher tissue temperatures // Agric For Meteorol. 2006. Vol. 139. P. 237 – 251.
368. Prasad P.V.V., Staggenbord S.A., Ristic Z. Impacts of drought and/or heat stress on physiological, developmental, growth, and yield processes of crop plants // Response of Crops to Limited Water: Understanding and Modeling Water Stress Effects on Plant Growth Processes. 2008. P. 301 – 355.
369. Pratt W. B., Morishima Y. , Peng H. M., Osawa Y. Role of the Hsp90/Hsp70-based chaperone machinery in making triage decisions when proteins undergo oxidative and toxic damage // Exp Biol Med (Maywood). 2010. Vol. 235 (3). P. 278 – 289.

370. Pratt W.B., Toft D.O. Regulation of signaling protein function and trafficking by the hsp90/hsp70-based chaperone machinery // *Exp Biol Med.* 2003. Vol. 228 (2). P. 111 – 133.
371. Qi Y., Wang H., Zou Y., Liu Ch., Liu Y., Wang Y., Zhang W. Over-expression of mitochondrial heat shock protein 70 suppresses programmed cell death in rice // *FEBS Letters.* 2011. Vol. 585. P. 231 – 239.
372. Qin D., Wu H., Peng H., Yao Y., Ni Zh., Li Zh., Zhou Ch., Sun Q. Heat stress-responsive transcriptome analysis in heat susceptible and tolerant wheat (*Triticum aestivum* L.) by using wheat genome array // *BMC Genomics.* 2008. 9:432. DOI: 10.1186/1471-2164-9-432.
373. Qu A.L., Ding Y.F., Jiang Q., Zhu Ch. Molecular mechanisms of the plant heat stress response // *Biochem Biophys Res Commun.* 2013. Vol. 432 P. 203 – 207.
374. Qu G.Q., Liu X., Zhang Y.L., Yao D., Ma Q.M., Yang M.Y., Zhu W.H., Yu Sh., Luo Y-B. Evidence for programmed cell death and activation of specific caspase-like enzymes in the tomato fruit heat stress response // *Planta.* 2009. Vol. 229. P. 1269 – 1279.
375. Quan L.G., Zhang B., Shi W. W., Li H. Y. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network // *J Integr Plant Biol.* 2008. Vol. 50 (1). P. 2 – 18.
376. Queitsch C., Hong S.W., Vierling E., Lindquist S. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2000. Vol. 12. P. 479 – 492.
377. Ramiro D. A., Melotto-Passarini D.M., de Almeida Barbosa M., dos Santos F., Gomez S.G.P., Júnior N.S.M., Lam E., Carrer H. Expression of *Arabidopsis Bax Inhibitor-1* in transgenic sugarcane confers drought tolerance // *Plant Biotechnol J.* 2016. Vol. 14 (9). P. 1826 – 1837.
378. Ranty B., Albon D., Galaud J.-Ph. Plant calmodulin and calmodulin-related proteins // *Plant Signal Behav.* 2006. P. 96 – 104.
379. Ray D., Ghosh A., Mustafi S.B., Raha S. Plant Stress Response: Hsp70 in the Spotlight // *Heat Shock Proteins and Plants.* 2016. Vol. 10. P. 123 – 147.

380. Reape Th.J., Brogan N.P., McCabe P.F. Mitochondrion and chloroplast regulation of plant programmed cell death // *Plant Programmed Cell Death*. 2015. P. 33 – 53.
381. Reape Th.J., Molony E.M., McCabe P.F. Programmed cell death in plants: distinguishing between different modes // *JXB*. 2008. Vol. 59, no 3. P. 435 – 444.
382. Reddy A.S.N., Ali G.S., Celesnik H., Day I.S. Coping with stresses: role of calcium – and calcium/calmodulin-regulated gene expression // *The Plant Cell*. 2011. Vol. 32. P. 2010 – 2032.
383. Reinbothe S. Gray J., Rustgi S. , von Wettstein D. ,Reinbothe Ch. Cell growth defect factor 1 is crucial for the plastid import of NADPH:protochlorophyllide oxidoreductase A in *Arabidopsis thaliana* // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015. Vol. 112 (18). P. 5838–5843.
384. Rérole A.L., Jegou G., Carrido C. Hsp70: anti-apoptotic and tumorigenic protein // *Molecular Chaperones*. 2011. P. 205 – 230.
385. Restivo F.M., Tassi F., Maestri E., Lorenzoni C., Puglisi P.P., Marmioli N. Identification of chloroplast associated heat-shock proteins in *Nicotiana plumbaginifolia* protoplasts // *Curr Genet*. 1986. Vol. 11. P. 145 – 149.
386. Reynolds M., Dreccer F., Trethowan R. Drought-adaptive traits derived from wheat wild relatives and landraces // *J. Exp. Bot*. 2007. Vol. 58. P. 177 – 186.
387. Richter K., Haslbeck M., Buchner J. The heat shock response: life on the verge of death // *Molecular Cell*. 2010. Vol. 40 (2). P. 253 – 266.
388. Rizhsky L., Liang H., Mittler, R. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco // *Plant Physiol*. 2002. Vol. 130. P. 1143 – 1151.
389. Robinson K.S. Clements A., A. Williams C., Berger N.C., Frankel G. Bax Inhibitor 1 in apoptosis and disease // *Oncogene*. 2011. Vol. 30 (21). P. 2391 – 2400.
390. Rothman J., Schekman R. Molecular mechanism of protein folding in the cell // *Cell*. 2011. Vol. 146. P. 851 – 854.
391. Ruelland E., Zachowski A. How plants sense temperature? // *Environ. Exp. Bot*. 2010. Vol. 69. P. 225 – 232.
392. Saidi Y., Finka An., Muriset M., Bromberg Z., Weiss Y.G., Maathuis F.J.M., Goloubinoff P. The heat shock response in moss plants is regulated by specific calcium-

- permeable channels in the plasma membrane // *The Plant Cell*. 2009. Vol. 21. P. 2829 – 2843.
393. Saidi Y., Peter M., Finka A. Cicekli C., Vigh L., Goloubinoff P. Membrane lipid composition affects plant heat sensing and modulates Ca²⁺-dependent heat shock response // *Plant Signal Behav.* 2010. Vol. 5 (12). P. 1530 – 1533.
394. Sakai A, Larcher W. Frost survival of plants: responses and adaptation to freezing stress. Vol. 62. Y.: Springer Verlag. 1987. 321 p.
395. Samakovli D., Thanou A., Valmas Ch., Hatzopoulos P. Hsp90 canalizes developmental perturbation // *JXB*. 2007. Vol. 58 (13). P. 3513 – 3524.
396. Sanchechez P., De Torres Zabala M., Grant M. AtBI-1, a plant homologue of Bax Inhibitor-1, suppresses Bax-induced cell death in yeas and is rapidly upregulated during wounding and pathogen challenge // *The Plant Journal*. 2000. Vol. 21 (4). P. 393 – 399.
397. Sanchez P., de Torres-Zabala M., Grant M. AtBI-1, a plant homologue of Bax inhibitor-1, suppresses Bax-induced cell death in yeast and is rapidly upregulated during wounding and pathogen challenge. 2000. *Plant J*. Vol. 21. P. 393 – 399.
398. Sanghera A.K, Thind. S.K. Evaluation of seedling growth and mda content of wheat genotypes in relation to heat tolerance // *Indian J Sci Technol* 2016. Vol. 9 (31). DOI: 10.17485/ijst/2016/v9i31/50284.
399. Sangwan V., Örvar B.L., Beyerly J., Hirt H., Dhindsa R.S. Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP kinase pathways // *Plant J*. 2002. Vol. 31. P. 629 – 638.
400. Satbhai R.D., Kale A.A., Naik R.M. Protective role of osmolytes and antioxidants during high temperature stress in wheat // *JBSM*. 2015. Vol. 6 (2). P. 220 – 229.
401. Savicka M., Škute N. Effect of high temperature on malondialdehyde content, superoxide production and growth changes in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) // *Ecologiya*. 2010. Vol. 56 (1) – 2. P. 26 – 33.
402. Savicka M., Škute N. Some morphological, physiological and biochemical characteristics of wheat seedling *Triticum aestivum* L. organs after high-temperature treatment // *EKOLOGIJA*. 2012. Vol. 58 (1). P. 9 – 21.

403. Scarpeci E. T., Zanol M.I., Valle E.M. Investigation the role of plant heat shock proteins during oxidative stress // *Plant Signal Behav.* 2008. Vol. 3. P. 856 – 857.
404. Schipp A., Wilkins J. Vegetative growth // *Wheat growth and development.* 2008. –. 27 p.
405. Schöffl B.F., Aumann G.B., Aschke E.R., Bevan M. The expression of heat-shock in higher plants // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1986.B 314. P. 453 – 468.
406. Schreiber L. Effect of temperature on cuticular transpiration of isolated cuticular membranes and leaf discs // *JXB.* 2001. Vol. 52 (362). P. 1893–1900.
407. Schulze E.D., Beck E., Müller-Hohenstein K. *Plant ecology.* Springer, 2002. 702 p.
408. Sharkey T.D. Effects of moderate heat stress on photosynthesis: importance of thylakoid reactions, rubisco deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene // *Plant Cell Environ.* 2005. Vol. 28. P. 269 – 277.
409. Sharma P., Jha A.B. , Dubey R.Sh. , Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions // *Journal of Botany.* 2012. Vol. 2012. Article ID 217037. DOI: 10.1155/2012/217037.
410. Sicher R.C. Temperature shift experiments suggest that metabolic impairment and enhanced rates of photorespiration decrease organic acid levels in soybean leaflets exposed to supra-optimal growth temperatures // *J Exp Bot.* 2015. 66 (20). – P. 6385–6397.
411. Siddique M., Gernhard S., von Koskull-Döring P., Vierling E., Scharf K.D. The plant sHSP superfamily: five new members in *Arabidopsis thaliana* with unexpected properties // *Cell Stress Chaperones.* 2008. Vol. 13 (2). P. 183 – 197.
412. Siddique M.R.B., Hamid A., Islam M.S. Drought stress effects on water relations // *Bot. Bull. Acad. Sin.* 2000. Vol. 41. P. 35 – 39.
413. Simões-Araújo J.L Rumjanek. N.G., Margis-Pinheiro M. Small heat shock proteins genes are differentially expressed in distinct varieties of common bean // *Braz. J. Plant Physiol.* 2003. Vol. 15 (1). P. 33 – 41.

414. Sinsawat V., Leipner J., Stamp P., Frecheboud Y. Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L.) grown at control or temperature // *Environ Exp Bot.* 2004. Vol. 52 (2). P. 123 – 129.
415. Ślesak I., Libik M., Karpinska B., Karpinski S., Miszalski Z. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses // *Acta Biochim Pol.* 2007. Vol. 54 (1). P. 39 – 50.
416. Smertenko A., Dràber P., Viklický V., Opatrný Z. Heat stress affects the organisation of microtubules and cell division in *Nicotiana tabacum* // *Plant Cell Environ* 1997. Vol. 20. P. 1534 – 1542.
417. Smillie R.M., Critchley Ch., Bain J.M., Nott R. Effect of growth temperature on chloroplast structure and activity in Barley // *Plant Physiol.* 1978. Vol. 62 (2). P. 191–196.
418. Snowden C.J., Leborgne-Castel N., Wootton L.J., Hadlington J.L., Denecke J. In vivo analysis of the luminal binding protein (*BiP*) reveals multiple functions of its ATPase domain // *Plant J.* 2007. Vol. 52 (6). P. 987 – 1000.
419. Srivastava R., Li Zh., Russo G., Tang J., Bi R., Muppirala U., Chudalayandi S., Severin A., He M., Vaitkevicius S.I., Lawrence-Dill C.J., Liu P., Stapleton A.E., Bassham D.C., Brandizzi F., Howella S.H. Response to persistent er stress in plants: a multiphasic process that transitions cells from prosurvival activities to cell death // *Plant Cell.* 2018. Vol. 30. P. 1220 – 1242.
420. Stewart, R.R.C., Bewley J.D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes // *Plant Physiol.* 1980. Vol. 65. P. 245 – 248.
421. Storozhenko S., Pauw P.De, Van Montagu M., Kushnir I.D. The heat-shock element is a functional component of the *Arabidopsis* APX1 gene promoter // *Plant Physiology.* 1998. Vol. 118. P. 1005 – 1014.
422. Sueldo D.J., van der Hoorn R.A.L. Plant life need cell death, but does plant cell death need Cys proteases? // *The FEBS Journal.* 2017. Vol. 284. P. 1577 – 1585.
423. Sung J.M., Jeng T.L. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging of peanut seed // *Physiol Plant.* 1994. Vol. 91 (1). P. 51 – 55.

424. Suriyasak Ch. Harano K., Tanamachi K., Matsuo K., Tamada A., Iwaya-Inoue M., Ishibashi Y. Reactive oxygen species induced by heat stress during grain filling of rice (*Oryza sativa* L.) are involved in occurrence of grain chalkiness // *Plant Physiol.* 2017. Vol. 216. P. 52 – 57.
425. Suzuki N., Miller G., Morales J., Shulaev V., Torres M.A., Mittler R. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling // *Curr Opin in Plant Biol.* 2011. Vol. 14 (6). P. 691 – 699.
426. Tahir I.S.A., Nakata N., Yamaguchi T., Nakano J., Ali A.M. Physiological response of three wheat cultivars to high shoot and root temperatures during early growth stages // *Plant Prod. Sci.* 2009. Vol. 12 (4). P. 409 – 419.
427. Takahashi M.A., Asada K. Superoxide anion permeability of phospholipid membranes and chloroplast thylakoids // *Arch Biochem Biophys.* 1983. Vol. 15;226(2). P. 558 – 566.
428. Takeda T. Yokota A., Shigeoka S. Resistance of photosynthesis to hydrogen peroxide in algae // *Plant Cell Physiol.* 1995. Vol. 36. P. 1089 – 1095.
429. Talanova V.V., Titov A.F., Drozdov S.N., Akimova T.V. Effect of Temperature on the Thermoresistance and Respiration of Tomato Leaves (*Lycopersicon esculentum* MILL.) // *Biochem. Physiol. Pflanzen.* 1983. Vol. 178. P. 601 – 605.
430. Tao F., Rötter R., Palosuo T., Díaz-Ambrona C.G.H., Mínguez M.I., Semenov M.A., Kersebaum K.Ch., Nenbel C., Cammarano D., Hoffmann H., Ewert F., Damberevill A., Martre P., Rodríguez L., Ruiz-Ramos M., Gaiser Th., Höhn J.G., Salo T., Ferrise R., Bindi M., Schulman A.H. Designing future barley ideotypes using a crop model ensemble // *Europ.J.Agronomy.* 2017. Vol. 82. P. 144 – 162.
431. Teixeira E. I., Fischer G., van Velthuizen H., Walter Ch., Ewert F. Global hot-spots of heat stress on agricultural crops due to climate change // *Agric For Meteorol.* 2013. Vol. 170. P. 206 – 215.
432. Tewari A.K., Tripathy B.Ch. Temperature-stress-induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat // *Plant Physiol.* 1998. Vol. 117 (3). P. 851 – 858.

433. Thebud R., Santarius K.A. Effects of High-Temperature Stress on Various Biomembranes of Leaf Cells *In Situ* and *In Vitro* // *Plant Physiol.* 1982. Vol. 70 (1). P. 200 – 205.
434. Thoma I., Loeffler C., Sinha A.K., Gupta M., Krischke M., Steffan B., Roitsch T., Mueller M.J. Cyclopentenone isoprostanes induced by reactive oxygen species trigger defense gene activation and phytoalexin accumulation in plants // *Plant J.* 2003. Vol. 34 (3). P. 363 – 375.
435. Thordal-Christensen H., Zhang Z., Wei Y., Collinge D. B. Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. 1997. *Plant J.* Vol. 11. P. 1187 – 1194.
436. Tjoelker M.G., Oleksyn J., Reich P.B. Acclimation of respiration to temperature and CO₂ in seedlings of boreal tree species in relation to plant size and relative growth rate // *Glob Chang Biol.* 1999. Vol. 49. P. 679 – 691.
437. Tsiatsiani L., van Breusegem F., Gallois P., Zaviyalov A., Lam E., Bozhkov P.V. Metacaspases // *Cell Death and Diff.* 2011. Vol. 18. P. 1279 – 1288.
438. Tsukaguchi T., Kawamitsu Y., Takeda H., Suzuki K., Egawa Y. Water status of flower buds and leaves as affected by high temperature in heat-tolerant and heat-sensitive cultivars of snap bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) // *Crop physiology and Ecology.* 2003. Vol. 6, Is. 1. P. 24 – 27.
439. Tuteja N., Sopory S. K. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants // *Plant Signal Behav.* 2008. P. 525 – 536.
440. Ueno N., Nihei S., Miyakawa N., Hirasawa T., Kanekatsu M., Marubashi W., van Doorn W. G., Yamada T. Time course of programmed cell death, which included autophagic features, in hybrid tobacco cells expressing hybrid lethality // *Plant Cell Rep.* 2016. Vol. 35. P. 2475 – 2488.
441. Ugarte C., Calderini D.F., Slafer G.A. Grain weight and grain number responsiveness to pre-anthesis temperature in wheat, barley and triticale // *Field Crops Res.* 2007. Vol. 100. P. 240 – 248.

442. Usman M.G., Rafii M.Y., Ismail M.R., Malek M.A., Latif M.A. Expression of target gene Hsp70 and membrane stability determine heat tolerance in *Chili Pepper* // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 2015. Vol. 142 (2). P. 144 – 150.
443. Usman M.G., Rafii M.Y., Ismail M.R., Malek M.A., M. Ab. Latif, Oladosu Y. Heat shock proteins: functions and response against heat stress in plants // IJSTR. 2014. Vol. 3. P. 204 – 218.
444. Vacca R.A., Valenti D., Bobba A., Merafina R.S., Passarella S., Marra E. Cytochrome *c* released in a reactive oxygen species-dependent manner and is degraded via caspase-like proteases in tobacco bright-yellow 2 cell en route to heat shock-induced cell death // Plant Physiology. 2006. Vol. 141. P. 208 – 219.
445. van Doorn W. G. Classes of programmed cell death in plants, compared to those in animals // J Exp Bot. 2011. Vol. 62 (14). P. 4749 – 4761.
446. van Doorn W.G., Beers E.P., Dangl J.L., Gallois P., Hara-Npshimura I., Jones A.M., Kawai-Yamada M., Lam E., Mundy J., Mur L.A.J., Petersen M., Smertenko A., Taliensky M., Van Breusegem F., Wolpert T., Woltering E., Zhivotovsky B., Bozhkov P.V. Morphological classification of plant cell deaths // Cell Deatg and Diff. 2011. Vol. 18. P. 1241 – 1246.
447. van Montfort R.L.M., Basha E., Friedrich K.L., Slingsby Ch., Vierling E. Crystal structure and assembly of a eukaryotic small heat shock protein // Nat. Struct. Mol. Biol. 2001. Vol. 8. P. 1025 – 1030.
448. Vasaikar S.V., Ghosh S., Narain P., Basu A., Gomes J. HSP70 mediates survival in apoptotic cells–Boolean network prediction and experimental validation // Front Cell Neurosci. 2015. Vol. 9. P. 319.
449. Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants // Annu. Rev. Plant physiology Plant Mol. Biol. 1991. Vol. 42. P. 579 – 620.
450. Volkov R.A., Panchuk I.I., Mullineaux Ph.M., Schoffl F. Heat stress-induced H₂O₂ is require for effective expression of heat gene in Arabidopsis // Plant Mol Biol. 2006. Vol. 61. P. 733 – 746.
451. Volkov R.A., Panchuk I.I., Schoffl F. Heat-stress-dependency and developmental modulation of gene expression: the potential of house-keeping genes as internal

- standards in mRNA expression profiling using real-time RT-PCR // *JXB*. 2003. Vol.54 (391). P. 2343 – 2349.
452. von Koskull-Döring F., Scharf K.D., Nover L. The diversity of plants heat stress transcription factors // *Trends Plant. Sci.* 2007. Vol. 12 (10). P. 452 – 457.
453. Wahid A., Close T.J. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves // *Biologia Plantarum*. 2007. Vol. 51 (1). P. 104 – 109.
454. Wallis J. G, Browse J. Mutants of *Arabidopsis* reveal many roles for membrane lipids. // *Prog. Lipid Res.* 2002. Vol. 41 (3), P. 254 – 278
455. Wan Sh., Jiang L. Endoplasmic reticulum (ER) stress and the unfolded protein response (UPR) in plants // *Protoplasma*. 2016. Vol. 253. P 753 – 764.
456. Wang G.F., Li W.Q., Li W.Y., Wu G.L., Zhou C.Y., Chen K.M. Characterization of rice NADPH oxidase gene and their expression under various environmental condition // *IJMS*. 2013. Vol. 14. P. 9440 – 9458.
457. Wang R., Zhang Yi., Kiffer M., Yu H., Kepinski S., Estelle M. HSP90 regulates temperature-dependent seedling growth in *Arabidopsis* by stabilizing the auxin co-receptor F-box protein TIR1 // *Nat. Commun.* 2016. Vol. 7:10269. DOI: 10.1038/ncomms 10269.
458. Wang X., Cai J., Liu F., Dai T., Cao W., Wollenweber B., Jiang D. Multiple heat priming enhances thermo-tolerance to a later high temperature stress via improving subcellular antioxidant activities in wheat seedlings // *Plant Physiol Biochem*. 2014. Vol. 74. P.185 – 192.
459. Wang X., Chen M., Zhou J., Zhang X. HSP27, 70 and 90, anti-apoptotic proteins, in clinical cancer therapy // *Int J Oncol*. 2014. Vol. 45 (1). P. 18 – 30.
460. Wang X., Tang Ch., Huang X., Li F., Chen X., Zhang G., Sun Y., Han D., Kang Zh. Wheat BAX inhibitor-1 contributes to wheat resistance to *Puccinia striiformis* // *JXB*. 2012. Vol. 63 (12). P. 4571 – 4584.
461. Wang Y.Ch., G Wang., Qu Zh., Li H.Y., Wu Y.J., Wang Ch., Liu G.F., Ya Ch.P. Enhanced salt tolerance of transgenic poplar plants expressing a manganese superoxide dismutase from *Tamarix androssowii* // *Mol. Biol Rep*. 2010. Vol. 37. P. 1119 – 1124.

462. Watanabe N., Lam E. Arabidopsis Bax inhibitor-1 Function as an attenuator of biotic and abiotic types of cell death // *Plant J.* 2006. Vol. 45. P. 884 – 894.
463. Watanabe N., Lam E. BAX inhibitor-1 modulates endoplasmic reticulum stress-mediated programmed cell death in Arabidopsis // *J Biol Chem.* 2008. Vol. 283 (6). P. 3200 – 3210.
464. Waters E. R., Lee G. J., Vierling E. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants // *JXB.* 1996. Vol. 47 (296). P. 325 – 338.
465. Williams B., Verchot J., Dickman M. B. When supply does not meet demand-ER stress and plant programmed cell death // *Front Plant Sci.* 2014. Vol. 5: 211. DOI: 10.3389/fpls.2014.00211.
466. Wrzaczek M., Brosché M., Kangasjärvi J. ROS signaling loops – production, perception, regulation // *Curr Opin Plant Biol.* 2013. Vol. 16. P. 575 – 582.
467. Wu H.Ch., Jinn T.L Oscillation regulation of Ca²⁺/calmodulin and heat-stress related genes in response to heat stress in rice (*Oryza sativa* L.) // *Plant Signal Behav* 2012. Vol.7 (9). P. 1056 – 1057.
468. Xiong T.C., Bourque S., Lecourieux D., Amelot N., Grat S., Brière C., Mazars C., Pugin A., Ranjeva R. Calcium signaling in plant cell organelles delimited by a double membrane // *Biochim Biophys Acta.* 2006. Vol. 1763 (11). P. 1209 – 1215.
469. Xu G., Wang Sh., Han Sh., Xie K., Wang Y., Li J., Liu Y. Plant Bax Inhibitor-1 interacts with ATG6 to regulate autophagy and programmed cell death // *Autophagy.* 2017. Vol. 13 (7). P. 1161 – 1175.
470. Xu Q. Plant caspase-like proteases in plant programmed cell death / Q. Xu, L. Zhang // *Plant Signal Behav.* 2009. Vol. 4 (9). P. 902 – 904.
471. Xu Q., Reed J.C. Bax inhibitor-1, a mammalian apoptosis suppressor identified by functional screening in yeast // *Mol Cell.* 1998. Vol. 1 (3). P. 337 – 346.
472. Xu Y., Lindquist S. Heat-shock protein hsp90 governs the activity of pp60v-src kinase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. Vol. 90. P. 7074 – 7078.
473. Xu Y., Zhan Ch., Huang B. Heat shock protein in association with heat tolerance in grasses // *International Journal of Proteomics.* 2011. Article ID 529648. DOI:10.1155/2011/529648.

474. Xue G.P., Drenth J., McIntyre C.L. TaHsfA6f is a transcriptional activator that regulates a suite of heat stress protection genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) including previously unknown Hsf targets // JXP. 2014 b. Vol 66. P. 1025 – 1039.
475. Xue G.P., Sadat Sh., Drenth J., McIntyre C.L. The heat shock factor family from *Triticum aestivum* in response to heat and other major abiotic stresses and their role in regulation of heat shock protein genes // J Exp Bot. 2014a. Vol. 65 (2). P. 539 – 557.
476. Yamada K., Fukao Y., Hayashi M., Fukazawa M., Suzuki I., Nishimura M. Cytosolic HSP90 regulates the heat shock response that is responsible for heat acclimation in *Arabidopsis thaliana* // J Biol Chem. 2007. Vol. 282 (52). P. 37794 – 37804.
477. Yamamoto Y., Aminaka R., Yoshioka M., Khatoon M., Komayama K., Takenaka D., Yamashita A., Nijio N., Inagawa K., Morita N., Sasaki T., Yamamoto Y. Quality control of photosystem II: impact of light and heat stresses // Photosynth Res. 2008. Vol. 98. P. 589 – 608.
478. Yamane Y., Kashino Y., Koike H., Satoh K. Effects of high temperature on the photosynthetic systems in spinach: oxygen-evolving activities, fluorescence characteristics and the denaturation process // Photosynth Res. 1998. Vol. 57. P. 51 – 59.
479. Yamasaki T., Yamakawa T., Yamane Y., Koike H., Satoh K., Katoh S. Temperature acclimation of photosynthesis and related changes in photosystem II electron transport in winter wheat // Plant Physiol. 2002. Vol. 128 (3). P. 1087 – 97.
480. Yamori W., Hikosaka K., Way D.A. Temperature response of photosynthesis in C₃, C₄ and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation // Photosynth Res. 2014. Vol. 119. P. 101 – 117.
481. Yang T., Poovaiah B.W. Hydrogen peroxide homeostasis: activation of plant catalase by calcium/calmodulin // Proc Natl Acad Sci U S A. 2002. Vol. 99 (6). P. 4097 – 40102.
482. Yang X., Chen X., Ge Q., Li B., Tong Y. Zhang, A., Li Zh., Kuang T., Lu C. Tolerance of photosynthesis to photoinhibition, high temperature and drought stress in

- flag leaves of wheat: A comparison between a hybridization line and its parents grown under field conditions // *Plant Science*. 2006. Vol. 171. P. 389–397.
483. Yao N., Eisfelder B.J., Marvin J., Greenberg J.T. The mitochondria – an organelle commonly involved in programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J*. 2004. Vol. 40. P. 596 – 610.
484. Yeh Ch.H., Chang P.F., Yeh K.W., Lin W.Ch., Chen Y.M., Lin Ch.Y. Expression of a gene encoding a 16.9-kDa heat-shock protein, Oshsp16,9, in *Escherichia coli* enhances thermotolerance // *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997. Vol. 94 (20). P. 10967 – 10972.
485. Yeh Ch.H., Chen Y.M., Lin Ch.Y. Functional regions of rice heat shock protein, Oshsp16.9, required for conferring thermotolerance in *Escherichia coli* // *Plant Physiol*. 2002. Vol. 128. P. 661 – 668.
486. Yen Ch.H., Yang Ch.H. Evidence for programmed cell death during leaf senescence in plants // *Plant Cell Physiol*. 1998. Vol. 39 (9). P. 922 – 927.
487. Yoshioka M. Quality control of photosystem ii: the mechanisms for avoidance and tolerance of light and heat stresses are closely linked to membrane fluidity of the thylakoids // *Front Plant Sci*. 2016. Vol. 7: 1136. DOI: 10.3389/fpls.2016.01136.
488. Yue. H., Nie Sh., Xing D. Over-expression of Arabidopsis BAX inhibitor-1 delays methyl jasmonate-induced leaf senescence by suppressing the activation of MAP kinase 6 // *JXB*. 2012. Vol. 63 (12). P. 4463 – 4474.
489. Zhang D. The high temperature affect on mitosis activity and chromosome banding of the young cotyledon in *Vicia faba* // *Journal of Yunnan University (Natural Sciences)*. 1997. Vol. 19 (4). P. 409 – 413.
490. Zhang K., Kaufman R. J. Indefication and characterization of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis In Vivo // *Methods Enzymol*. 2008. Vol. 442. P. 395 – 419.
491. Zhang L., Zhao H.K., Dong Q.L., Zhang Y.Y., Wang Y.M., Li H.Y., Xing G.J., Li Q.Y., Dong Y.S. Genome-wide analysis and expression profiling under heat and drought treatments of *HSP70* gene family in soybean (*Glycine max* L.) // *Front Plant Sci*. 2015. Vol. 6. P. 773. DOI: 10.3389/fpls.2015.00773.

492. Zhang Y., Mian M.A., Chekhovskiy K., So S., Kupfer D., Lai H., Roe B.A. Differential gene expression in *Festuca* under heat stress conditions // *J. Exp. Bot.* 2005. Vol. 413. P. 897 – 907.
493. Zhang Zh., Lv Y., Zhou Zh., Mei F., Wang L. Type II metacaspase protein localization and gene transcription during programmed cell semi-death of sieve elements in developing caryopsis of *Tritium aestivum* // *Biologia.* 2017 Vol. 72. IS. 4. P. 398 – 406.
494. Zhao J., Newcomb W., Simmonds D. Heat-shock proteins 70 kDa and 19 kDa are not required for induction of embryogenesis of *Brassica napus* L. cv. Topas microspores // *Plant Cell Physiol.* 2003. Vol. 44 (12). P. 1417 – 1421.
495. Zhao Q., Zhou L., Liu J. Cao Zh., Du X., Huang F., Pan G., Cheng F. Involvement of CAT in the detoxification of HT-induced ROS burst in rice anther and its relation to pollen fertility // *Plant Cell Reports.* 2018. Vol. 37. P. 741–757.
496. Zholkevich, V.N., *Transport vody v rastenii i ego endogennaya regulyatsiya*, 61-e Timiryazevskoe chtenie (Water Transport in Plants and Its Endogenous Regulation, the 61st Timiryazev Lecture), Moscow: Nauka. 2001 p.
497. Zhou R., Yu X., Ottosen C.O., Rosenqvist E., Zhao L., Wang Y., Yu W., Zhao T., Wu Zh. Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress // *BMC Plant Biol.* 2017.Vol. 17:24. DOI: 10.1186/s12870-017-0974-x.
498. Zuppini A., Navazio L., Mariani P. Endoplasmic reticulum stress-induced programmed cell death in soybean cel // *J. Cell Sci.* 2004. Vol. 117 (12). P. 2591 – 2598.
499. Zyalalov A. A. Water flows in higher plants: physiology, evolution, and system analysis // *Russian Journal of Plant Physiology.* 2004. Vol. 51, No. 4. P. 547–555.
500. NCBI: [site]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/225193977> (*дана обращения: 28.09.2018*).