

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ РАСТЕНИЙ *INULA BRITANNICA* L. СЕМЕЙСТВА *COMPOSITAE* И *LIMONIUM GMELINII* СЕМЕЙСТВА *PLUMBAGINACEAE* НА АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТАТУС ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ, ПОДВЕРГНУТЫХ ДЕЙСТВИЮ НЕСИММЕТРИЧНОГО ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА

*Колумбаева С.Ж., Кайрат Б.К., Оразова С.Б., Ловинская А.В., Шалахметова Т.М., Бияшева З.М.

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Республика Казахстан, г. Алматы

*E-mail: S_kolumb@mail.ru

Изучено функционирование ферментов антиоксидантной системы проростков ячменя при действии несимметричного диметилгидразина и биологически активных веществ, содержащихся в экстрактах *Inula britannica* и *Limonium gmelinii*. Антиокислительный статус определяли по содержанию малонового диальдегида (МДА), активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Установлено, что несимметричный диметилгидразин в концентрации 5,0 мг/л индуцировал окислительный стресс в 2-дневных проростков ячменя, т.к. в клетках корня увеличивалось содержание МДА и активность каталазы по сравнению с контролем. При сочетанном воздействии НДМГ и БАВ из экстрактов надземной и подземной частей кермека и девясила на семена ячменя способствовало снижению интенсивности перекисного окисления липидов и активности каталазы.

Ключевые слова: биологически активные вещества, антиоксидантная система, *Inula britannica*, *Limonium gmelinii*.

В растении под действием одного или нескольких стресс-факторов происходит индукция защитного ответа, который позволяет ему выживать и адаптироваться к изменившимся внешним условиям. Выживание растений предполагает протекание двух качественно различных этапов: быстрого стрессорного ответа (стресс-реакции) и долговременной (специализированной) адаптации. Эти два этапа выполняют различные биологические функции. Стадия стресс-реакции обеспечивает лишь кратковременную защиту за счет мобилизации или индукции систем быстрого ответа. Эти системы энергоемки и не специфичны. На стадии адаптации обычно формируются эффективные долговременные защитные механизмы [1].

Известен целый ряд специализированных механизмов, индуцируемых растением при действии определенного стрессора. Однако в последнее время накоплены многочисленные данные о том, что общим интегральным процессом, характеризующим негативное действие стрессоров различной природы, является усиление генерации активных форм кислорода (АФК) [2-8].

Повышенное образование АФК происходит в хлоропластах и митохондриях в том случае, когда акцептором электронов выступает кислород из-за истощенности пула других акцепторов электронов (например, НАДФ) [3, 9, 10]. Кроме того, источником АФК является фотодыхание, скорость которого контролируется соотношением CO_2/O_2 и температурой. Взаимодействие АФК с белками, липидами, нуклеиновыми кислотами приводит к нарушению структуры и функции мембран, активности ферментов, мутагенезу и, в итоге, к остановке клеточного цикла и апоптозу [11-13].

В ответ на усиление генерации АФК, как правило, наблюдается активация элементов антиоксидантной защитной системы. Появление и развитие у организмов антиоксидантной системы, позволяющей контролировать уровень АФК, происходило одновременно с появлением и развитием фотосинтезирующих организмов [5, 12, 14-16].

Антиоксидантная защитная система клетки растения - множество взаимосвязанных окислительно-восстановительных реакций, в которых участвуют антиоксидантные ферменты и низкомолекулярные метаболиты. В нормальных условиях и при окислительном стрессе антиоксидантные ферменты, в числе которых супероксиддисмутазы, различные пероксидазы, каталаза и ферменты аскорбат-глутатионового цикла, играют важную роль в поддержании определенного безопасного уровня АФК. В последнее время активно

обсуждается вопрос о способности АФК выступать в качестве сигнальных молекул и регуляторов экспрессии генов, детерминирующих защитный ответ растения [17, 18]. Такой уровень необходим для протекания ряда метаболических реакций в клетке и не вызывает повреждения биомолекул [3, 5, 19]. Альтернативным защитным механизмом у растений является стресс-зависимое накопление низкомолекулярных органических антиоксидантов: аскорбиновой кислоты, α -токоферола, глутатиона, пролина, полиаминов (ПА), каротиноидов, антоцианов и других соединений.

Таким образом, образование повышенного количества АФК опасно в том случае, когда происходит нарушение баланса между образованием АФК и их разрушением [4-7]. Именно это нарушение и является негативным интегральным процессом, получившим название окислительного стресса.

Цель данного исследования заключалась в изучении функционирования ферментов антиоксидантной системы проростков ячменя при действии НДМГ и БАВ, содержащихся в экстракте *Limonium gmelinii* и *Inula britannica*.

Материалы и методы

В качестве объектов исследований использовали корни семян ярового ячменя сорта Байшешек, районированного в Алматинской области. Отобранные семена промывали мыльным раствором, а затем стерилизовали слабым раствором $KMnO_4$ 10-15 мин и замачивали в различных вариантах при комнатной температуре на 24 часа:

- 1) контроль (дистиллированная вода);
- 2) 50 мг/л экстракта подземной части лекарственного растения;
- 3) 100 мг/л экстракта подземной части лекарственного растения;
- 4) 50 мг/л экстракта надземной части лекарственного растения;
- 5) 100 мг/л экстракта надземной части лекарственного растения.

Затем семена проращивали в чашках Петри по 50 штук при тех же условиях в различных вариантах в течение 2 дней:

- 1) контроль (дистиллированная вода);
- 2) 5 мг/л несимметричного диметилгидразина (НДМГ).

Определение содержания белка. Концентрацию белка в вытяжках определяли колориметрическим методом по Лоури. Метод основан на реакции белков с реактивом Фолина, дающей синее окрашивание [20]. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре Jenway 6405 UV/Vis (Великобритания) при длине волны 750 нм против холостой пробы с дистиллированной водой. Расчет вели по калибровочному графику, в качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин (РАА Laboratories, Австрия).

Определение малонового диальдегида. При высокой температуре в кислой среде малоновый диальдегид (МДА) реагирует с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного триметинового комплекса, имеющего максимум поглощения при 532 нм [21].

250 мг навески листьев или корней растирали с 10 мл 0,1М Трис-НСl pH 7,5, далее центрифугировали при 6000 об/мин в течение 5 минут, отделяли надосадочную часть. К 2,5 мл вытяжки добавляли 2,5 мл 0,5% тиобарбитуровой кислоты в 20% трихлоруксусной кислоты, затем реакционную смесь инкубировали в течение 30 минут при 95°C, после чего ее быстро охлаждали на ледяной бане и центрифугировали при 8000 об/мин в течение 15 мин. В контрольные пробы вносили 2,5 мл дистиллированной воды. Оптическую плотность опытных проб измеряли на спектрофотометре против контрольной при длине волны 532 нм.

Расчет содержания малонового диальдегида (продуктов перекисления) проводили по формуле (1):

$$C = \frac{E \times 10^6 \times 3}{1,56 \cdot 10^5 \times C_6}, \quad (1)$$

где C – концентрация МДА, мкМ/мг белка; E – оптическая плотность пробы; 10^6 – коэффициент пересчета в мкмоль/л; 3 – фактор разведения; $1,56 \cdot 10^5$ – коэффициент молярной экстинкции триметинового комплекса МДА с 2-ТБК; C_6 – содержание белка в 1 г сырой биомассы, мг.

Определение активности супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1). Метод основан на торможении супероксиддисмутазой (СОД) восстановления бесцветных тетразолиевых солей супероксидными анионрадикалами, при котором происходит их превращение в окрашенные соединения формазаны [22].

100 мг навески листьев или корней растирали с 5 мл 0,1 М фосфатного буфера pH 7,8, далее центрифугировали при 6000 об/мин в течение 15 минут, отделяли надосадочную часть.

Реакционная смесь состояла из 0,1 М фосфатного буфера pH 7,8; 0,05 М тетраметилендиамина; 0,85 М п-нитратетразоля; 0,034 мМ рибофлавина. Для остановки реакции добавляли 1 % раствор калия йодида. Измеряли оптическую плотность каждой пробы при 560 нм в кюветах против дистиллированной воды. Для инактивации фермента половину пробы помещали в кипящую водяную баню на 10 минут.

Процент торможения СОД образования фармазана п-НТХ определяли по формуле (2):

$$T = \frac{E_k - E_{оп}}{E_k - E_{кр}} \times 100, \quad (2)$$

где T – процент торможения реакции; E_k – оптическая плотность контрольной пробы; $E_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы; $E_{кр}$ – оптическая плотность пробы контроля на реактивы; 100 – коэффициент для перевода в проценты.

Принято считать, что 50 % ингибирования реакции соответствует одной относительной единице (1 отн. ед.) активности фермента.

Количество отн. ед. активности фермента, внесенного в пробу, рассчитывали по формуле (3):

$$M = 10^{(0,026 \times T - 1,3)}, \quad (3)$$

где M – количество отн. ед. активности в пробе; T – процент торможения реакции.

Определение активности каталазы (КФ 1.11.1.6). Метод основан на способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс с максимумом поглощения при 410 нм [23].

250 мг навески листьев или корней растирали с 10 мл 0,1 М Трис-НСl, далее центрифугировали при 6000 об/мин в течение 5 минут, отделяли надосадочную часть. В опытную пробирку с 0,1 мл вытяжки добавляли 2 мл буферно-субстратной смеси (0,1 М трис-НСl буфера pH 7,4 и 0,04412 н. раствора H_2O_2) и выдерживали при 37°C в течение 10 минут. Реакцию останавливали добавлением 2 мл 4% молибдата аммония. Измеряли оптическую плотность опытной и контрольной проб (дистиллированная вода) при 410 нм. В качестве раствора сравнения использовали смесь, состоящую из буфера, дистиллированной воды и вытяжки, добавленной после инкубирования.

Активность каталазы рассчитывали по формуле (4):

$$A = \frac{(E_k - E_{оп}) \times 4,1 \times 16 \times 10^5 \times 10^6}{22,2 \times 10^6 \times 3 \times C_6}, \quad (4)$$

где A – активность фермента, ME ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2 / \text{л} \cdot \text{мин}$); E_k – оптическая плотность контрольной пробы; $E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность опытной пробы; 4,1 – конечный объем пробы; $16 \cdot 10^5$ – фактор разведения; 10^6 – коэффициент пересчета в $\mu\text{моль/л}$; $22,2 \cdot 10^6$ – коэффициент малярной экстинкции H_2O_2 ; 3 – время инкубации, мин; C_6 – концентрация белка в 0,1 мл вытяжки, мг.

Результаты и их обсуждение

Для доказательства развития окислительного стресса при действии выбранного стрессора в корнях опытных растений был измерен уровень содержания малонового диальдегида (МДА) - показателя развития перекисного окисления липидов (ПОЛ).

На рисунках 1 и 2 представлены результаты эксперимента по определению количества МДА в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием НДМГ и БАВ, экстрагированных из надземной и подземной части кермека и девясила.

Анализ результатов показал, что экстракты подземной и надземной частей кермека снижают содержание МДА в корнях ячменя, так если в контрольных образцах концентрация составила $122,44 \pm 17,51$, то при 100,0 мг/л экстракта подземной части (минимальный эффект) данный показатель снизился до $87,54 \pm 19,85$ $\mu\text{M/мг}$ белка. Максимальный эффект наблюдался при действии экстрактов кермека из подземной части в концентрации 50,0 мг/л. В этом варианте содержание МДА по сравнению с контролем снизилось в 1,67 раза ($p < 0,05$). Аналогичные результаты были получены и при изучении экстрактов из надземной части. При этом сравнительный анализ действия БАВ на содержание МДА в корнях ячменя показал, что статистически значимого различия между концентрациями и БАВ из подземной и надземной частями растений не наблюдалось. Несимметричный диметилгидразин (НДМГ) в концентрации 5,0 мг/л вызывал статистически значимое увеличение ($p < 0,05$) содержания МДА в корнях ячменя по сравнению с контролем. Экстракты из подземной и надземной частей кермека Гмелина проявили протекторное действие при стресс-воздействии НДМГ в использованной концентрации. Во всех вариантах эксперимента не наблюдалось статистически значимого превышения контрольного значения. Предобработка семян экстрактами БАВ снижала действие НДМГ. Так, предобработка семян ячменя БАВ из подземной части кермека в концентрации 50,0 и 100,0 мг/л снижала негативное действие НДМГ в 2,10 ($p < 0,01$) и 2,73 ($p < 0,01$) раза, соответственно. Предобработка семян ячменя БАВ из надземной части кермека в концентрации 50,0 и 100,0 мг/л снижала действие НДМГ в 1,18 и 2,71 раза ($p < 0,01$), соответственно (рисунок 1).

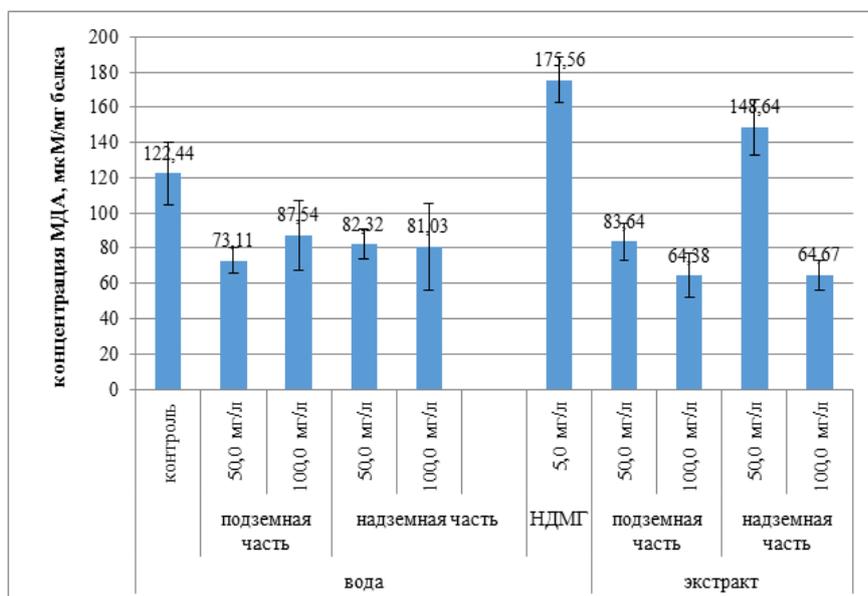


Рисунок 1 – Концентрация МДА в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием НДМГ и БАВ кермека

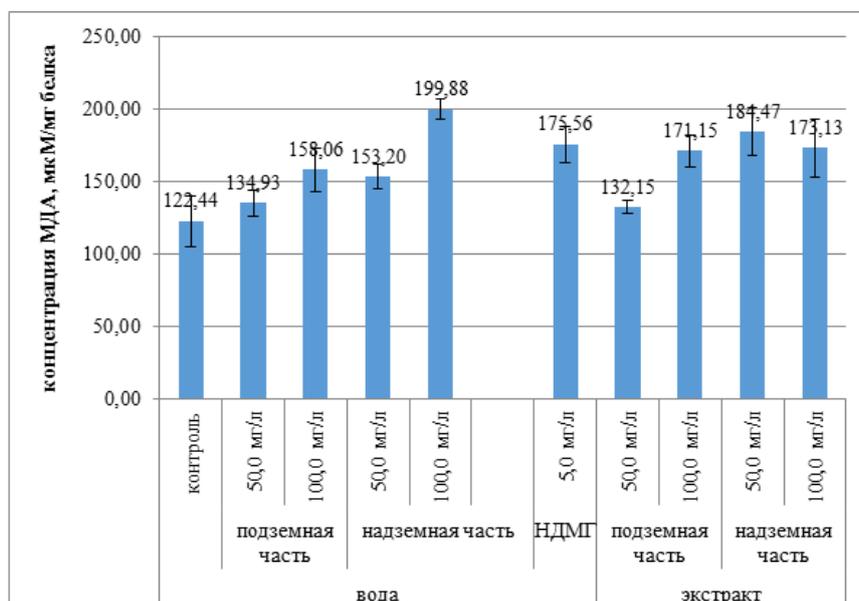


Рисунок 2 – Концентрация МДА в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием НДМГ и БАВ девясила

Анализ результатов показал, что экстракты надземной и подземной частей девясила увеличивали содержание МДА в корнях ячменя, однако, данное увеличение статистически не значимо, за исключением действия БАВ из надземной части девясила в концентрации 100,0 мг/л ($p < 0,05$). При предобработке семян экстрактами БАВ девясила не наблюдалось снижения действия НДМГ, за исключением предобработки БАВ из подземной части девясила в концентрации 50,0 мг/л ($p < 0,01$) (рисунок 2).

СОД является уникальным ключевым антиоксидантным ферментом. Результаты исследований по влиянию НДМГ и БАВ, экстрагированных из подземной и надземной частей кермека и девясила, на ферментную активность СОД в корнях ячменя представлены на рисунках 3 и 4. При проращивании семян на БАВ из подземной и надземной частей кермека наблюдалось увеличение активности СОД по сравнению с контролем. При этом статистически значимое увеличение по сравнению с контролем наблюдалось при действии БАВ из надземной части в концентрации 50,0 мг/л (в 6,2 раза; $p < 0,01$). Установлено, что НДМГ в использованной концентрации не вызывал окислительного стресса, на что указывает активность фермента, составившая $0,06 \pm 0,01$ о.е.а./ мг, а в контроле этот показатель составил $0,05 \pm 0,01$ о.е.а./ мг белка, соответственно. При предобработке семян БАВ из кермека Гмелина с последующим проращиванием на растворе НДМГ не наблюдалось статистически значимого увеличения по сравнению с вариантом без предобработки, во всех вариантах активность СОД была на уровне контроля (рисунок 3).

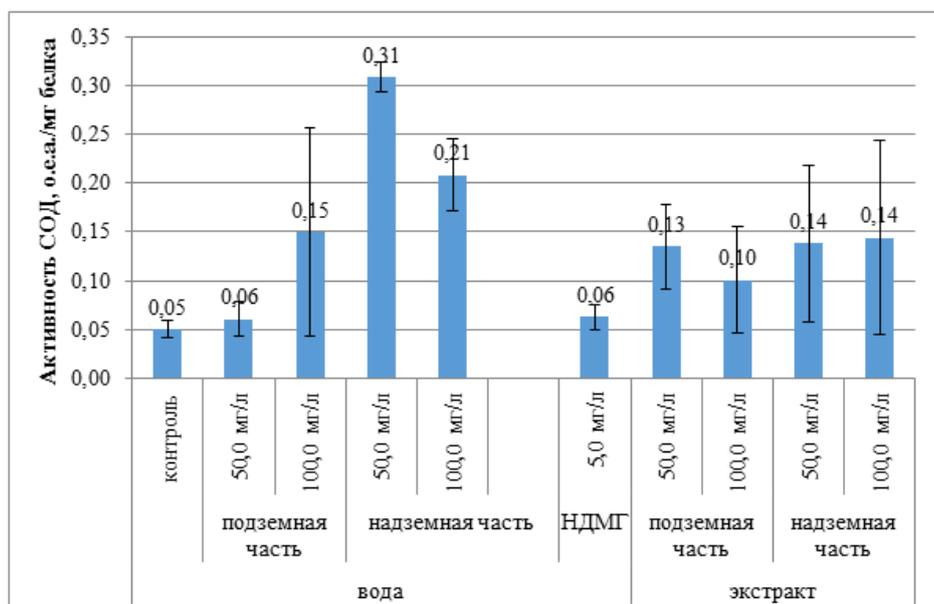


Рисунок 3 – Влияние НДМГ и БАВ кермека на активность СОД в корнях 2-дневных проростков ячменя

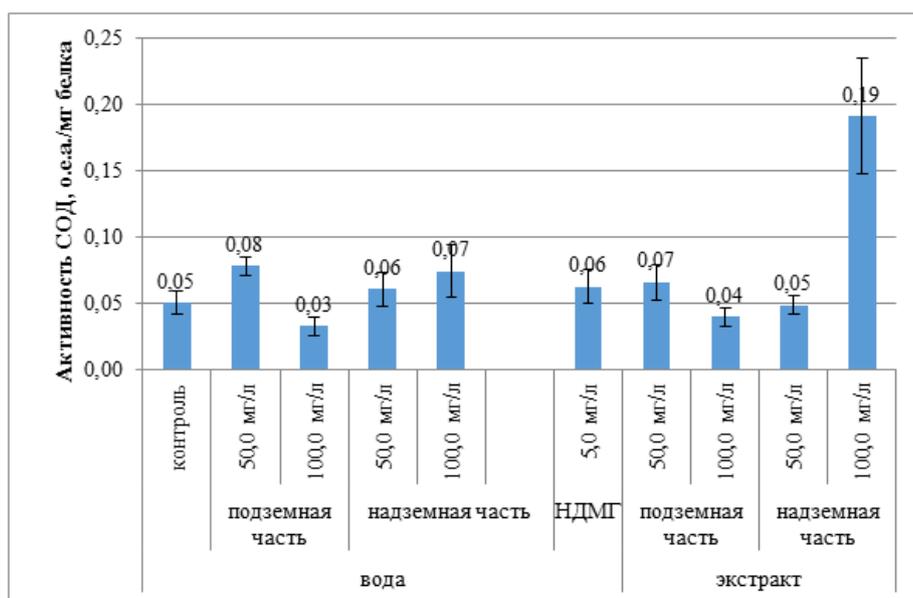


Рисунок 4 – Влияние НДМГ и БАВ девясила на активность СОД в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием

При проращивании семян на БАВ из подземной и надземной частей девясила активность СОД была на уровне контрольных значений. При предобработке семян ячменя БАВ из девясила британского с последующим проращиванием на НДМГ не наблюдалось статистически значимого увеличения по сравнению с вариантом без предобработки. Активность СОД была на уровне контроля, за исключением предобработки БАВ из надземной части девясила в концентрации 100,0 мг/л, хотя данное увеличение было не статистически значимо (рисунок 4).

В обычных условиях существования организма поддерживается баланс между продукцией радикалов $O_2^{\cdot-}$ и их своевременным удалением. При действии неблагоприятных факторов увеличивается образование активных форм кислорода, в том числе и радикалов супероксида.

Активность СОД при этом изменяется разнонаправленно: в одних случаях отмечено ее увеличение, в других – снижение, что зависит от напряженности действия стрессового фактора (интенсивности и длительности воздействия), а также от восприимчивости организма, стадии развития растений и др. [15]. Так при достижении определенного уровня окислительного стресса происходит снижение активности СОД. Например, в листьях пшеницы в условиях засухи вначале отмечалась активация фермента, затем с увеличением длительности воздействия происходило снижение активности. Такая же тенденция отмечена при увеличении не только длительности воздействия, но и его интенсивности: при водном дефиците, переувлажнении, солевом стрессе, обработке абсцизовой кислотой и тяжелыми металлами, фумигации HF и др. [15, 24, 25].

Снижение активности фермента может происходить и без его предварительной активации в случае довольно интенсивного воздействия, что отмечено при обработке растений тяжелыми металлами, UV-C-облучения, солевом стрессе, охлаждении, тепловом стрессе, затоплении, инокуляции патогенами и др. [15, 25-29]. Постепенное снижение активности СОД отмечено в клетках и тканях растений при их старении. Причины снижения активности СОД могут быть разнообразными, например, истощение пула ферментов усиленным его расходом на гашение радикалов $O_2^{\cdot-}$. Кроме того, поскольку активность СОД является результатом как ее синтеза, так и деградации, уменьшение активности может быть следствием снижения синтеза и/или повышения деградации СОД. В инактивации и деградации СОД могут принимать участие АФК – гидроксильные радикалы и пероксид водорода. В частности, H_2O_2 может восстанавливать Cu_2^+ в активном центре фермента до Cu^+ , который, взаимодействуя с новой молекулой пероксида водорода, образует $Cu_2^+OH\cdot$. Этот связанный *in situ* радикал $OH\cdot$ вызывает окислительную модификацию аминокислотных последовательностей в активном центре фермента, что приводит к его инактивации. Не только связанные, но и свободные радикалы $OH\cdot$ повреждают молекулы СОД, вызывая их фрагментацию [15, 30]. Снижение активности фермента при неблагоприятных воздействиях способствует дальнейшему увеличению продукции АФК и развитию окислительных повреждений клеток и тканей растений [15, 24].

Несимметричный диметилгидразин легко восстанавливает кислород. При одноэлектронном восстановлении O_2 образуется супероксид-ион, который может превращаться в другие формы кислорода (H_2O_2 , $HO^{\cdot-}$, $O_2^{\cdot-}$). Современные данные однозначно говорят о том, что НДМГ вызывает резкое увеличение уровня активных форм кислорода и накопление продуктов ПОЛ в тканях организма [30-34]. С помощью *lux*-биосенсоров рядом авторов были проведены исследования по изучению механизмов токсического действия НДМГ. Горянин И.И. с соавторами показал, что активация промоторов, специфически детектирующих окислительный стресс, повреждения белков и ДНК, происходила за счет образования в растворе НДМГ перекиси водорода. При этом если происходит более глубокое окисление НДМГ, то образуются продукты окисления, в том числе нитрозодиметиламин, который обладает высокой алкилирующей способностью [34]. В другом исследовании с помощью *lux*-биосенсоров был показан четкий ответ на НДМГ у *E. coli*, несущей промоторы *katG* и *soxS*, реагирующих на окислительное повреждение, а также *gesA*, реагирующего на повреждения ДНК. Авторы также делают вывод, что действие НДМГ на бактериальные клетки может быть связано с образованием перекиси водорода [31].

Таким образом, не выявленный окислительный стресс при воздействии НДМГ, связанный с активностью СОД, может быть обусловлен истощением пула ферментов усиленным его расходом на гашение радикалов $O_2^{\cdot-}$. Увеличение активности СОД при предобработке БАВ с последующим проращиванием НДМГ может быть связано с восстановлением пула ферментов за счет действия флавоноидов [35], дубильных веществ [36], витамина С [37-39], которые проявляют высокую биологическую активность и содержатся в экстрактах девясила британского и кермека Гмелина.

В следующей серии экспериментов нами исследовано влияние БАВ лекарственных растений и НДМГ на активность каталазы в корнях 2-дневных проростков ячменя. Каталаза

является гемсодержащим тетрамерным ферментом, осуществляющим реакцию разложения перекиси водорода с образованием молекулярного кислорода и воды. Причем этот процесс, с одной стороны, не требует других соединений со свойствами восстановителя, а с другой стороны, работает только в условиях высокой концентрации перекиси водорода [4, 40].

При проращивании семян на экстрактах девясила как из подземной, так и надземной частей активность каталазы была неоднозначной. Экстракты из подземной в концентрации 50,0 мг/л и надземной частей в концентрации 100,0 мг/л кермека достоверно увеличивали активность каталазы в корнях проростков. При проращивании семян на растворе экстрактов БАВ из подземной части в концентрации 50,0 мг/л наблюдалось повышение активности каталазы до $3,41 \pm 0,14$ мкМ H_2O_2 /л·мин·мг белка. При проращивании семян на растворе экстрактов из надземной части кермека активность каталазы увеличилась только при концентрации 100,0 мг/л и составила $2,76 \pm 0,11$. Сравнительный анализ с контрольными значениями показал увеличение активности каталазы соответственно 2,18 ($p < 0,01$) и 1,77 ($p < 0,01$) раза. НДМГ в концентрации 5,0 мг/л повысил активность фермента до $2,58 \pm 0,30$, что в 1,65 раза ($p < 0,05$) выше контрольного уровня. БАВ из подземной и надземной частей кермека Гмелина снижали каталазную активность при воздействии данного стресс-фактора (рисунок 5).

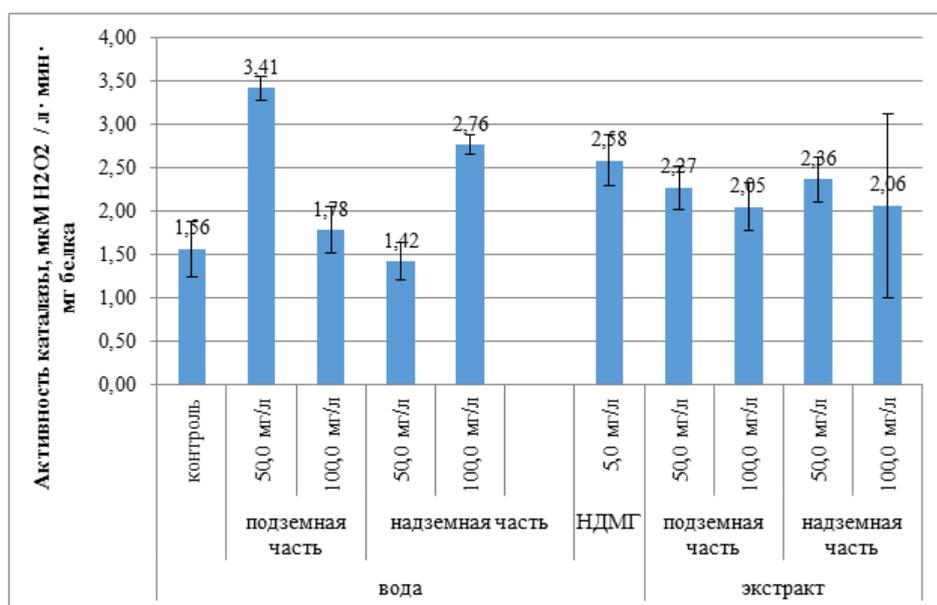


Рисунок 5 – Влияние НДМГ и БАВ кермека на активность каталазы в корнях 2-дневных проростков ячменя (убрать 50 мг/л подземной)

Неоднозначные результаты были получены и при изучении каталазной активности в корнях 2-дневных проростков ячменя, проращиваемых на экстрактах из надземной и подземной частей девясила британского (рисунок 6). Из представленного рисунка видно, что БАВ из надземной части в концентрации 100,0 мг/л повысил активность каталазы в 1,60 раза ($p < 0,05$), что указывает на индукцию окислительного стресса под воздействием экстракта. Во всех остальных вариантах опыта активность каталазы была на уровне контроля. При предобработке семян ячменя БАВ с последующим проращиванием на растворе НДМГ в концентрации 5,0 мг/л отмечено снижение активности каталазы, указывающее на антиоксидантное действие экстрактов девясила. При замачивании семян ячменя в экстрактах БАВ из подземной части в концентрации 50,0 и 100,0 мг/л с последующим проращиванием на НДМГ активность каталазы снизилась по сравнению с вариантом без предобработки БАВ в 3,00 и 1,80 раза, соответственно. При замачивании

семян ячменя в экстрактах БАВ из надземной части в концентрации 50,0 и 100,0 мг/л с последующим проращиванием на НДМГ активность каталазы снизилась по сравнению с вариантом без предобработки БАВ в 1,41 и 9,02 раза, соответственно (рисунок 6).

Повышение каталазной активности под воздействием изучаемых БАВ требует дополнительного исследования, поскольку в данной серии экспериментов они проявили оксидантную активность, в противоположность ожидаемым результатам и результатам, полученным на микробиологических и растительных тест-системах.

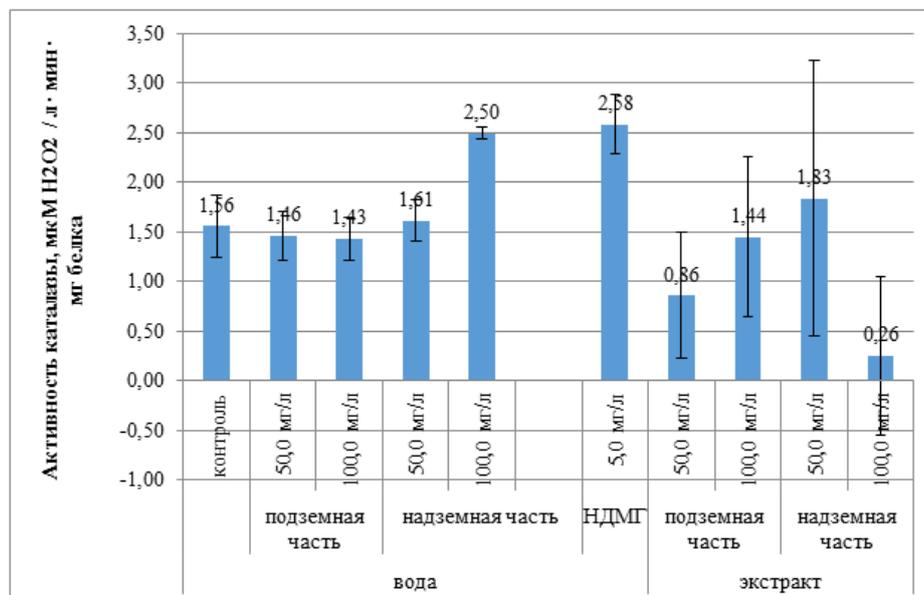


Рисунок 6 – Влияние НДМГ и БАВ девясила на активность каталазы в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием

Таким образом, НДМГ в концентрации 5,0 мг/л индуцировал окислительный стресс в 2-дневных проростков ячменя, т.к. в клетках корня увеличивалось содержание МДА и активность каталазы по сравнению с контролем. При сочетанном воздействии НДМГ и БАВ из экстрактов надземной и подземной частей кермека и девясила на семена ячменя способствовало снижению интенсивности ПОЛ и активности каталазы. Возможно, для проявления более выраженного протекторного действия БАВ кермека и девясила на фоне НДМГ необходимо использовать другие концентрации. Механизмы столь различного действия БАВ лекарственных растений на фоне НДМГ должны явиться предметом дальнейшего исследования.

Литература

- 1 Кузнецов В.В. Физиологические механизмы адаптации и создание стресс-толерантных растений. Проблемы экспериментальной биологии / Под ред. Ламана Н. А. – Минск: Тэхналогія, 2009. – 116 с.
- 2 Foyer C.H., Noctor G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a reevaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context // *Plant Cell Environ.* – 2005. – Vol.29. - P 1056–1071.
- 3 Gechev T.S., Van Breusegem F., Stone J.M., Denev Il., Laloi C. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death // *BioEssays.* - 2006. – Vol. 28. – P.1091–1101.
- 4 Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода./ Под ред. И.П.Ермакова. – М.: КДУ, 2007. – 140с.
- 5 Abogadallah G.M. Antioxidative defense under salt stress // *Plant Signal Behav.* – 2010. – Vol. 5. – P. 369-374.
- 6 Poljsak B. Strategies for reducing or preventing the generation of oxidative stress // *Oxidative medicine and cellular longevity* // *Hindawi Pub. Corp.* - 2011. – Vol. 2011. – P. 1-15.
- 7 Poljsak B., Milisav I. The Neglected Significance of “Antioxidative Stress” // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2012. - Vol. 2012. - P. 1-12. - DOI:10.1155/2012/480895.

- 8 Miura K., Tada Ya. Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid // *Frontiers in plant science*. – 2014. – Vol. 5. – P. 1-12.
- 9 Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiol. And Biochem.* - 2010. – Vol. 48. – P. 909-930.
- 10 Foyer Ch.H., Noctor G. Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub1 // *Plant Physiology*. - 2011. - Vol. 155. – P. 2–18.
- 11 Bieza K., Lois R. An *Arabidopsis* mutant tolerant to lethal ultraviolet-B levels shows constitutively elevated accumulation of flavonoids and other phenolics // *Plant Physiol.* - 2001. – Vol. 126. – P. 1105-1115.
- 12 Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends in Plant Science*. – 2002. – Vol. 7. – P. 405–410.
- 13 Hong S.-Y., Roze L V., Linz J. E. Oxidative stress-related transcription factors in the regulation of secondary metabolism // *Toxins*. – 2013. – Vol. 5. – P. 683-702.
- 14 Zhu J.K. Salt and drought stress signal transduction plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* - 2002. – Vol. 53. – P. 247-273.;
- 15 Бараненко В.В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // *Цитология*. – 2006. – Т. 48. – С. 465-473.
- 16 Foyer C.H., Noctor G. Defining robust redox signalling within the context of the plant cell // *Plant, Cell and Environment*. - 2015. – Vol. 38. – P. 239-239.
- 17 Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2004. – Vol. 55. – P. 373-399.
- 18 Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants // *Trends in Plant Science*. – 2004. – Vol. 9. – P. 490-498.
- 19 Kliebenstein D.J., Monde R.A., Last R.L. Superoxide dismutase in *Arabidopsis*. An eclectic enzyme family with disparate regulation and protein localization // *Plant Physiology*. - 1998. - V.118. – P. 637-650.
- 20 Lowry O.H., Rosebrough N.J, Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *The Journal of Biological Chemistry*. - 1951. - Vol 193, №1. - P. 265-275.
- 21 Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // *Archives of Biochem. and Biophys.* -1968. - Vol.125. - P. 189-198.
- 22 Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide Dismutase Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels // *Anal. Biochem.* – 1971. – Vol. 44. – P. 276-287.
- 23 Практикум по биохимии /Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – 2 изд. – М.: Изд.МГУ, 1989. – 509 с.
- 24 Jiang Y., Huang B. Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool-season grasses // *J. Exp. Bot.* - 2001. - Vol. 52. - P. 341-349.
- 25 Santos C., Campos A., Azevedo H., Caldeira G. *In situ* and *in vitro* senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism // *J. Exp. Bot.* - 2001. - Vol. 52. - P. 351-360.
- 26 Sandalio L., Dalurzo H., Gomez M., Romero-Puertas M., Del Rio L. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants // *J. Exp. Bot.* - 2001. - Vol. 52. - P. 2115-2126.
- 27 Barka E.A. Protective enzymes against reactive oxygen species during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits in response to low amounts of UV-C // *Austr. J. Plant Physiol.* - 2001. - Vol. 28. - P. 785-791.
- 28 Muthukumarasamy M., Dutta Gupta S., Panneerselvam R. Enhancement of peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase activities by triadimefon in NaCl stressed *Raphanus sativus* L. // *Biol. Plant.* - 2000. - Vol. 43. - P. 317-320.
- 29 Hernandez J., Rubio M., Olmos E., Ros-Barcelo A., Martinez-Gomez P. Oxidative stress induced by long-term plum rox virus infection in peach (*Prunus persica*) // *Physiol. Plant.* - 2004. - Vol. 122. - P. 486-495.
- 30 Колумбаева С.Ж., Бегимбетова Д.А. Мутагенные эффекты химических загрязнителей окружающей среды. - Алматы: Казак университети, 2013. – 196 с.
- 31 Zavilgelsky G.B., Kotova V.Y., Manukhov I.V. Action of 1,1-dimethylhydrazine on bacterial cells is determined by hydrogen peroxide // *Mutat Res.* –2007. –Vol. 634, № 1-2. –P. 172-176.
- 32 О токсичности гептила / под ред. Ягужинского Л.С. – М.: Редакционно-издательский отдел ИПХФ РАН, 2014. – 128 с.
- 33 Кулмагамбетов И.Р., Муравлева Л.Е., Койков В.В., Абдрахманова Ю.Э. Состояние окислительного метаболизма и кристаллообразующие свойства крови экспериментальных животных при интоксикации несимметричным диметилгидразином // *Биомедицинская химия*. –2007. –Т. 53, № 3. - С. 276-283.
- 34 Горянин И.И., Котова В.Ю., Краснопева Е.Д., Чубуков П.А., Балабанов В.П., Чалкин С.Ф., Шатров Т.Я., Завильгельский Г.Б., Манухов И.В. Определение генотоксического действия 1,1-диметилгидразина алкилирующими соединениями, возникающими при его окислении, и перекисью водорода // *Труды МФТИ*. - 2013. – Т.5, № 1. – С. 103-111.
- 35 Havsteen V.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. // *Pharmacol. Ther.* – 2002. - Vol. 96. - P.67–202.
- 36 Струсовская О.Г. Определение веществ полифенольной структуры в некоторых растениях соловецкого архипелага // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. - 2012. - Т. 19, № 16 (135). - С. 128-131.
- 37 Manjula S.H.D., Benjamin S., Bairy K.L. Modulatory effect of vitamin C on genotoxic effect of endosulfan in developing albino rats // *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics (IJPT)*. – 2006. – № 5. – P. 113-116.

- 38 Farghalaly A.A., Abo-Zeid M.A.M. Evaluation of the antimutagenic effect of vitamin C against DNA damage and cytotoxicity induced by trimethyltin in mice // Nature and science. – 2009. – Vol. 7, № 12. – P. 1-7.
- 39 Sram R.J., Binkova B., Rossner P.Jr. Vitamin C for DNA damage prevention // Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. – 2012. - Vol. 733. - P.39– 49.
- 40 Jithesh M.N., Prashanth S.R., Sivaprakash K.R., Parida A.K. Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defense // J. of Genetics. – 2006. - V. 85. - P. 237-254.