

СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗА И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МИТОХОНДРИЯХ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОКСИИ И CO₂-СРЕДЫ

А. Н. Ершова, О. С. Бердникова, Л. В. Чеботова

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный педагогический университет»

Поступила в редакцию 15.08.2018 г.

Аннотация. Изучено влияние кратковременной (3-24ч) гипоксии и CO₂- среды на активность фермента цикла Кребса сукцинатдегидрогеназы и скорость свободнорадикальных процессов в митохондриях проростков кукурузы, которые выделяли методом дифференциального центрифугирования. Скорость свободнорадикального окисления в митохондриях проростков кукурузы, которую определяли методом железо- индуцированной хемилуминесценции, увеличивалась в первые три часа действия гипоксии и CO₂-среды на 50-60% по отношению к аэрируемым растениям. С увеличением сроков экспозиции проростков в газовых средах она снижалась, но оставалась выше контроля. Содержание пероксида водорода, который определяли энзиматическим методом, в митохондриях проростков в условиях дефицита кислорода, после увеличения на 30-40%, резко, почти в два раза, снижалось. В тоже время отмечалось ускорение продуцирования супероксид-аниона, наиболее реакционной формы АФК, в митохондриях к 24 часам экспозиции растений в условиях гипоксического стресса. Было установлено такое же эффективное действие CO₂ – среды, как и условий обычной гипоксии, на процессы образования АФК в митохондриях. В наших опытах было показано, что при действии даже кратковременной гипоксии значительно блокировалась активность митохондриальной СДГ (на 40-50%), что способствовало накоплению янтарной кислоты. Именно этой кислоте отводится большая роль в клетках растений, так как ее окисление проходит через флавопротеиды, которые больше удерживаются при дефиците кислорода в окисленном состоянии. С увеличением сроков экспозиции проростков до 24 часов активность СДГ продолжала падать и в митохондриях растений, находившихся в условиях гипоксии, составила 43%, а в среде CO₂ - 48% от аэрируемого контроля. Предполагается, что накопившейся сукцинат способен защитить белковые и липидные компоненты мембран митохондрий от окислительного повреждения образовавшимися АФК, когда растения попадают в условия гипоксического стресса. При этом повышение содержания янтарной кислоты за счет снижения активности митохондриальной СДГ в проростках кукурузы при гипоксии и CO₂-среды могло способствовать уменьшению содержания отдельных представителей АФК в их митохондриях, в отличие от тканей млекопитающих.

Полученные нами данные впервые показали тесную взаимосвязь ферментативных реакций цикла Кребса на уровне СДГ и процессов образования АФК в митохондриях растений при действии гипоксии и высоких концентраций CO₂.

Ключевые слова: митохондрии, свободнорадикальное окисление, сукцинатдегидрогеназа, гипоксия, проростки кукурузы

Растения на отдельных этапах своего развития подвергаются воздействию различных неблагоприятных факторов внешней среды. Одним из стрессоров, оказывающих влияние на развитие растений, является дефицит кислорода (гипоксия), вызванный избыточным переувлажнением или затоплением почв.[1]. Уменьшение содержания кислорода в тканях растений обычно сопровождается накоплением диоксида углерода [2], кото-

рый может активно влиять на обменные процессы растений как на уровне мембран, так и на уровне ферментов [3]. Отмечено, что при дефиците кислорода в клетках растений усиливаются процессы перекисного окисления липидов в результате активации свободно-радикальных процессов [4,5]. Митохондрии являются наиболее чувствительной частью растительной клетки, которые участвуют в энергетическом обмене. Из-за сбоя работы дыхательной цепи митохондрий возможно неполное восстановление молекулярного кислорода с об-

разованием различных типов АФК, избыточное накопление которых может привести к гибели клеток [6]. При этом одним из первых образуется супероксидный анион-радикал, являющийся источником других типов активных форм кислорода. В митохондриях продуцируется меньше АФК, по сравнению с хлоропластами и пероксисомами, но в темноте или в незеленых частях растений данные органониды являются одним из основных источников образования активных кислородных радикалов [7]. Митохондриальные АФК могут выступать в качестве важных сигнальных молекул в растениях, передавая информацию в другие клеточные компартменты, например, в хлоропласты, и данный процесс может рассматриваться как митохондриальная обратная регуляция [8]. Образование АФК может быть одним из ранних клеточных ответов растений на действие стрессовых факторов [9], включая гипоксию [3,10]. Однако вопрос о процессах образования АФК в условиях гипоксического стресса остается до сих пор дискуссионным.

Сукцинатдегидрогеназа митохондрий (СДГ) включена в работу цикла Кребса, активность ферментов которого так же определяется присутствием кислорода. При этом было обнаружено, что увеличение содержания сукцината за счет блокирования работы СДГ может усиливать процессы перекисного окисления липидов и накопление гидропероксидов в митохондриях животных [11]. Исследовали влияние кратковременной (до суток) гипоксии и CO_2 -среды на активность сукцинатдегидрогеназы и скорость свободнорадикального окисления, включая образование разных типов АФК, в митохондриях проростков кукурузы.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Проростки кукурузы (Воронежская 76) в возрасте 7-10 дней без корней и семядолей помещали в стаканчики с 0.05 М трис-НСl-буфером (рН 7.2), ставили на 3-24 часа в затемненные вакуум-экзикаторы, через которые пропускали разные газовые среды (воздух, азот и углекислый газ).

Интенсивность свободнорадикального окисления определяли методом железо-индуцированной хемилюминесценции [3]. Навеску растительного материала (1.5г) растирали в ступке с 0.05М К-фосфатным буфером (рН 7.0) в соотношении 1:4, фильтровали и центрифугировали (15 мин, 8000 об/мин). В кювету вносили: 0.4мл 0.02М К-фосфатного буфера (рН 7.5), 0.4мл 0.01мМ FeSO_4 , 0.1мл исследуемой клеточной фракции,

0.2мл 2% раствора H_2O_2 и через 30с регистрировали интенсивность максимальной вспышки (I_{\max}) и светосумму медленной вспышки (S) на биохемилюминометре БХЛ-07 ("Медозонс", Россия).

Содержание супероксидного анион-радикала оценивали по накоплению адренохрома, продукта взаимодействия супероксида с эпинефрином (адреналином) по методике [12]. Для этого в кювету вносили 0.6мл 1мМ адреналина, 0.1мл исследуемой фракции и через 15мин экспозиции в темноте реакцию останавливали внесением 50мкл 0.05М НСl. Оптическую плотность растворов измеряли при 480нм на спектрофотометре СФ-56 ("ЛОМО", Россия). Содержание супероксидного анион-радикала рассчитывали с использованием коэффициента экстинкции $\varepsilon = 4020\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. В предварительных опытах было показано, что при внесении в пробу 70 единиц фермента СОД («Sigma», США), содержащую адреналин и 0.1мл растительной фракции, продукция супероксидного анион-радикала блокировалась на 80-95%.

Содержания пероксида водорода в митохондриях определяли энзиматическим методом с использованием пероксидазы и о-дианизидина [13]. Реакционная среда содержала: 1мкМ раствор пероксидазы хрена в 0.12М Na-ацетатном буфере (рН 5.2), 0.5% водный раствор о-дианизидина и 0.1-0.2мл соответствующей клеточной фракции. Оптическую плотность измеряли при 460нм. Для расчета содержания пероксида водорода использовали коэффициент экстинкции $\varepsilon = 11.3\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) определяли методом, основанным на восстановлении дихлорфенолиндофенола в присутствии ФМС при ферментативном окислении сукцината [14]. Среда определения активности СДГ содержала: 30мМ К-фосфатный буфер рН 7.8; 0.033% ФМС, 0.002% дихлорфенолиндофенол; 2мМ азид натрия, сукцинат натрия и 0.1мл фракции митохондрий. Измеряли снижение оптической плотности при 600нм. Активность СДГ рассчитывали с использованием соответствующего коэффициента экстинкции $\varepsilon = 20\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Удельную активность (ФЕ) фермента рассчитывали на мг белка. Содержание белка во всех пробах определяли по методу Lowry.

Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования [2]. Растительную навеску гомогенизировали с пятикратным объемом 0.4 М раствора сахарозы в трис-НСl буфере, рН 7.8, содержащим 2мМ ЭТДА и 0.1% альбумина. Гомогенат фильтровали и центрифугировали при 1000 об/мин 10мин. Осадок клеточных

стенок отбрасывали и супернатант далее центрифугировали при 8000 об/мин 7 мин. Полученный осадок был обогащен хлоропластами. Для получения митохондриальной фракции надосадочную жидкость далее центрифугировали при скорости – 14500 об/мин в течение 15 минут. Полученный осадок митохондрий промывался буфером с сахарозой и повторно центрифугировался при 14500 об/мин. Для определения прекрестного загрязнения хлоропластами во фракции митохондрий определяли содержание пигментов.

Все определения проводили в двух биологических и двух аналитических повторностях. В таблицах и на графиках представлены данные одного из типичных опытов в виде средних арифметических значение и их стандартных отклонений.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В таблице 1 приведены данные по влиянию условий гипоксии и CO₂-среды на скорость свободнорадикальных процессов в митохондриях проростков кукурузы. Как видно из приведенных данных, действие CO₂-среды вызывала увеличение скорости свободнорадикальных процессов в митохондриях уже с первых часов экспозиции растений на 50-60% и далее она несколько снижалась, но оставалась выше уровня аэрированных растений. В тоже время в условиях обычной гипоксии скорость свободнорадикальных процессов практически не менялась, что могло быть результатом определенной сбалансированности работы про- и антиоксидантной систем в клетках растений кукурузы, которые обладают определенной устойчивостью к дефициту кислорода, в отличие от менее устойчивых растений, например проростков гороха [2,16].

Наиболее опасным типом АФК для клеточных структур является супероксидный анион-радикал.

В отличие от молекулярного кислорода, который свободно перемещается через клеточные мембраны, супероксид не способен преодолевать гидрофобный барьер [8]. Образовавшийся супероксид при этом еще является источником других активных форм кислорода и способен индуцировать дальнейшие процессы перекисного окисления липидов [9,15]. Как показали наши исследования (рис.1), содержание супероксид в митохондриях в первые часы действия на проростки кукурузы как условий гипоксии, так и CO₂- среды несколько снижалось (на 15-20%), но к концу экспозиции начинало возрастать. При этом как гипоксия, так и высокие концентрации диоксида углерода вызывали усиление образования супероксид в митохондриях до 120-130% от уровня аэрируемых проростков.

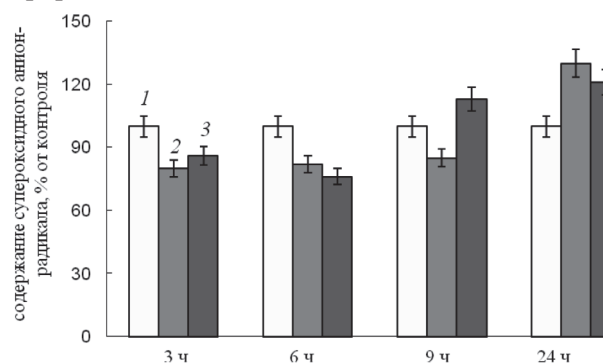


Рис. 1. Влияние гипоксии и среды высоких концентраций углекислого газа на продукцию супероксид в митохондриях растений кукурузы: 1- воздух, 2- гипоксия 3- CO₂-среда (% от аэрируемого контроля)

Предполагают [16], что в митохондриях растений возможно образование и пероксида водорода в условиях гипоксического стресса. В связи с этим нами было проведено определение содержания данного типа АФК в митохондриях растений при действии кратковременной до суток гипоксии

Таблица 1

Определение интенсивности свободнорадикального окисления в митохондриях растений кукурузы при разных сроках экспозиции в газовых средах

3 часа						
условия	I _{max} , мВ	%	S, мВ·с	%	tg α _s	%
воздух	291.5 ± 27.5	100	1604.0 ± 24.0	100	102.5 ± 9.5	100
гипоксия	292.0 ± 15.0	100	1756.0 ± 37.0	109	105.0 ± 7.5	102
CO ₂	456.8 ± 35.3	157	2748.5 ± 167.5	171	166.5 ± 16.5	162
6 часов						
воздух	147.8 ± 2.8	100	1143.5 ± 18.5	100	40.9 ± 2.4	100
гипоксия	135.0 ± 6.0	91	1271.3 ± 154.8	111	33.8 ± 6.0	83
CO ₂	239.5 ± 16.5	162	1730.3 ± 89.8	151	78.0 ± 9.5	191
24 часа						
воздух	135.6 ± 17.5	100	1036.1 ± 104.5	100	54.0 ± 3.5	100
гипоксия	137.0 ± 16.0	101	1191.5 ± 148.0	115	56.2 ± 7.4	104
CO ₂	160.0 ± 12.3	118	1108.6 ± 137.0	107	64.8 ± 5.6	120

и CO_2 -среды. Как видно из данных, представленных в таблице 2, в митохондриях среднеустойчивых растений кукурузы наблюдали небольшое (до 30-37 %) накопление пероксида водорода, но в первые 3 часа действия газовых сред. Затем его содержание начинало падать и становилось более чем в 2 раза ниже, чем в митохондриях аэрируемых растений.

Было показано (табл. 3), что в митохондриях проростков кукурузы активность фермента сукцинатдегидрогеназы, участвующего в метаболизации сукцината, в первые часы действия газовых сред значительно снижалась. С увеличением сроков экспозиции проростков до 24 часов активность СДГ продолжала падать и в митохондриях растений, находившихся в условиях гипоксии, составила 43%, а в среде CO_2 -48% от аэрируемого контроля. Значительное снижение активности СДГ способствовало накоплению сукцината в митохондриях. Увеличение содержания сукцината в клетках в условиях дефицита кислорода ранее наблюдали не только в клетках проростков кукурузы [17], но и других растений [18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях дефицита кислорода в растениях происходят значительные изменения метаболических процессов, включая реакции пероксидации липидов, связанных с окислением полиненасыщенных жирных кислот. При действии гипоксии в клетках растений создаются условия для процессов образования различных типов АФК, таких как супероксидный анион-радикал, пероксидный радикал, пероксид водорода, гидроксильный радикал и ряд других. Известна как положительная, так и отрицательная роль АФК. С одной стороны,

избыточная концентрация АФК может привести к нарушению различных клеточных структур и повреждению их мембран. С другой стороны, АФК могут выполнять сигнальную роль в клетках, участвуя в управлении процессами роста и развития. Воспринимая сигналы об изменении концентрации кислорода в окружающей среде, различные АФК могут играть роль вторичных мессенджеров, что позволяет организмам включать механизмы адаптации к действию различных стрессовых факторов, включая дефицит кислорода [10].

В наших опытах было показано, что скорость образования разных типов АФК, таких как супероксидного анион-радикала и пероксида водорода в митохондриях среднеустойчивых растений кукурузы, зависела от сроков действия условий дефицита кислорода. Было отмечено такое же эффективное действие CO_2 - среды, как и условий обычной гипоксии, на процессы образования АФК в митохондриях. Установлено, что уже в первые 3 часа действия гипоксии на проростки происходило усиление скорости свободно-радикальных процессов, которое характеризует интенсивность реакций пероксидации липидов. При этом образование супероксид-аниона в митохондриях проростков кукурузы увеличивалось лишь к концу экспозиции в газовых средах.

Как известно [2,10,18] метаболическая адаптация у растений включает также альтернативные пути окисления восстановленных коферментов с последующим накоплением малата, аспартата, аланина, сукцината. Такие альтернативные пути окисления в большей степени характерные для устойчивых растений, они не заменяют гликолиз, но дополняют его, обеспечивая не только окисление коферментов, но и образование нетоксичных интермедиатов.

Таблица 2

Влияние гипоксии и среды высоких концентраций углекислого газа на продукцию пероксида водорода в митохондриях растений кукурузы (мкМоль mg^{-1} белка, % от контроля)

Вариант	3 часа		6 часов		9 часов		24 часа	
		%		%		%		%
воздух	0.056 ± 0.009	100	0.117 ± 0.01	100	0.135 ± 0.009	100	0.302 ± 0.02	100
гипоксия	0.077 ± 0.006	137	0.040 ± 0.003	34	0.127 ± 0.01	94	0.141 ± 0.010	47
CO_2 - среда	0.073 ± 0.008	130	0.095 ± 0.008	81	0.103 ± 0.011	76	0.120 ± 0.015	40

Таблица 3

Влияние гипоксии и CO_2 - среды на активность митохондриальной СДГ растений кукурузы при разных экспозициях (ФЕ- мкМоль/ мг белка)

Вариант	3 ч		6 ч		24 ч	
	ФЕ	%	ФЕ	%	ФЕ	%
воздух	21.8 ±	100	25.5 ±	100	21.6 ±	100
гипоксия	10.7 ±	50	10.7 ±	43	9.3 ±	43
CO_2 - среда	16.8 ±	77	12.2 ±	48	10.4 ±	48

В растительных митохондриях в отличие от митохондрий млекопитающих, имеется уникальная по вариабельности окружающая среда. В клетках зеленых листьев растительные митохондрии окружены обильным дыхательным субстратом. В запасающих же органах и корнях при этом отмечается и низкий уровень кислорода, в отличие от клеток листьев. Поэтому большое количество специфичных комплексов ферментов митохондриальной ЭТЦ-дыхания контролируют образование АФК. Кроме антиоксидантов, продукция АФК в растительных митохондриях контролируется и НАД(Ф)-зависимыми оксидазами и альтернативными оксидазами. [19] В наших опытах было показано, что при действии даже кратковременной гипоксии значительно блокировалась активность митохондриальной СДГ (на 40-50%), что способствовало накоплению янтарной кислоты. Именно этой кислоте отводится большая роль в клетках растений, так как ее окисление проходит через флавопротеиды, которые дольше удерживаются при дефиците кислорода в окисленном состоянии. Ранее было показано [20], что блокирование СДГ митохондрий запасающих тканей высокими концентрациями солей способствовало снижению содержания пероксида водорода в них и таким образом защищало митохондрии от окислительного стресса. Нами было показано, что повышение содержания янтарной кислоты за счет снижения активности митохондриальной СДГ в проростках кукурузы при гипоксии и CO_2 -среды могло способствовать уменьшению содержания отдельных представителей АФК, в отличие от тканей млекопитающих [11]. Однако в разные сроки действия газовых сред это могло происходить как за счет торможения образования супероксид-аниона или пероксида водорода, как это происходила в первые часы действия гипоксического стресса. Полученные нами данные впервые показали тесную взаимосвязь ферментативных процессов цикла Кребса на уровне СДГ и процессов образования АФК в митохондриях среднеустойчивых проростков кукурузы в условиях гипоксии и высоких концентраций CO_2 , которые способны защитить митохондрии от повреждения в данных стрессовых условиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Subbaian C., Sachs M. // *Ann. Bot.* 2003. Vol. 90. No. 1. pp.119-127
2. Spicer R., Holbrook M. // *J. Exp. Botany.* 2007. Vol. 58. No. 6. pp.1313-1320
3. Ершова А.Н., Попова Н.В., Бердникова О.С. // *Физиология растений.* 2011. Т. 58, № 6. С. 834–843
4. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K. // *Ann. Bot.* 2003. Vol. 91. pp. 179-194
5. Ershova A.N., Popova N.V. // *Acta Physiol. Plantarum.* 2004. Vol. 26. No. 3. pp. 224-225
6. Karappanapandian T., Moon J-C., Kin C., Manoharan K., Kim W. // *Austr. J. Crop Sci.* 2011. Vol. 5. pp. 709-725
7. Рахманкулова З.Ф. // *Физиология растений.* 2014. Т.61. № 6. С.765-766
8. Vranova E., Inze D., Van Breusegem F. // *J. Exp. Bot.* 2002. Vol. 53, Vol. 372. pp. 1227-1236
9. Андреев А.Ю., Кушнарера Ю.Е., Старков А.А. // *Биохимия.* – 2005. Т. 70, №. 2. С. 246-264
10. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. // *Физиология и биохимия культ. растений.* 2009. Т. 41, № 2. С. 95-108
11. Ершова А.Н., Бердникова О.С. // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2017. Т. 17, № 5. С. 812-817
12. Eto Y., Kang D., Hasevaga E., Takeshige K., Minakami S. *Archives of Biochem. and Biophys.* 1992. Vol. 295. № 1. pp. 101-106
13. Часов А.В., Гордон Л.Х., Колесников О.П., Минабаева Ф.В. // *Цитология.* 2002. Т. 44. № 5. С. 691-696
14. Васильева Г.Г., Глянько А.К., Миронова Н.В., Путилина Т.Е., Лузова Г.Б. // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2007. Т. 45. № 2. С. 240-245
15. Cooper T.G., Beevers H. // *J. Biol. Chem.* 1969. Vol. 244, № 13. pp. 3507-3513
16. Avery S.V. // *Biochem. J.* 2011. Vol. 434. pp. 201-210.
17. Ершова А.Н. *Метаболическая адаптация растений к гипоксии и повышенному содержанию диоксида углерода.* Воронеж, Из-во Воронеж. Гос. ун-та, 2007, 264с.
18. Rosha M., Licausi F., Araujo W., Nunes-nesi A., Sodec L., Fernie A.R., van Dongen J.T. // *Plant physiol.* 2010, Vol. 152, No. 3. pp. 1501-1513
19. Blokhina O., Fagerstedt K. // *Physiol. Plant.* 2010. Vol. 138. pp. 447-462
20. Шугаев А.Г., Лаштабега Д.А., Выскребенцева Э.И. // *Физиология растений.* 2011. Т. 58. №3. С. 323-329

Воронежский государственный педагогический университет

*Ершова А. Н., докт. биол. наук, профессор,
зав. кафедрой биологии растений и животных

Тел.: +7 (473) 253-29-86

Email: aershova@vspu.ac.ru

Voronezh State Pedagogical University

*Ershova A. N., PhD., DSci., Full Professor,
Head of Plant and Animal Biology Department

Ph.: +7 (473) 253-29-86

Email: aershova@vspu.ac.ru

Бердникова О. С., ассистент кафедры биологии растений и животных

Berdnikova O. S., Assistant Professor, Department of Plant and Animal Biology

Чеботова Л. В., магистрант кафедры биологии растений и животных

Chebotova L. V., master student, Department of Plant and Animal Biology

SUCCINATE DEHYDROGENASE AND FREE RADICAL PROCESSES IN MITOCHONDRIA OF MAIZE UNDER HYPOXIA AND CO₂-MEDIA

A. N. Ershova, O. S. Berdnikova, L. V. Chebotova

Voronezh State Pedagogical University

Abstract. Effect of short-term (3-24h) hypoxia and CO₂-media on free radical processes rate and on activity of succinate dehydrogenase – a Krebs cycle enzyme in mitochondria of maize seedlings extracted by differential centrifugation method was studied. Free radical oxidation rate in mitochondria of maize seedlings determined by iron-induced chemiluminescence was increasing for first three hours of hypoxia and CO₂-media for 50-60% compare to aerated plants. Under ongoing increase of seedlings exposition in gas media this rate was decreasing but was higher than control. Content of hydrogen peroxide determined by enzymatic method in mitochondria of seedlings under oxygen deficit after increase for 30-40% was twofold sharply dropping. At the same time an intensified production of superoxide anion – the most reactive form of ROS in mitochondria by 24h of plant exposition under hypoxic stress was noted. The same effective impact of CO₂-media as of usual hypoxic conditions on ROS formation processes in mitochondria was discovered. Our experiments showed that under even short-term hypoxia an activity of mitochondrial SDH was blocked (for 40-50%) that contributed to succinic acid accumulation. This acid plays an important role in plant cells since its oxidation goes through flavoproteins that are kept longer in oxidized state under oxygen deficit. With increase of seedlings exposition terms up to 24h the activity of SDH continued to fall and in plant mitochondria under hypoxia reached 43% and in CO₂-media – 48% of aerated control. We assume that accumulated succinate can protect protein and lipid components of mitochondrial membrane from oxidative damage by ROS when plants experience hypoxic stress. We showed that increase of succinic acid content due to activity decrease of mitochondrial SDH in maize seedlings under hypoxia and CO₂-media could promote a reduction of content of certain ROS representatives in mitochondria in contrast to mammalian tissues.

Our obtained data for first time ever showed a strong correlation between enzymatic reactions of Krebs cycle on SDH level and ROS formation processes in plant mitochondria under hypoxia and high concentrations of CO₂.

Keywords: mitochondria, free radical oxidation, succinate dehydrogenase, hypoxia, maize seedlings

REFERENCES

1. Subbaian C., Sachs M., Ann. Bot., 2003, Vol. 90, No. 1, pp. 119-127.
2. Spicer R., Holbrook M., J. Exp. Botany, 2007, Vol. 58, No. 6. pp. 1313-1320.
3. Ershova A.N., Popova N.V., Berdnikova O.S., Plant Physiology, 2011, Vol. 58, No. 6, pp. 834–843.
4. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K., Ann. Bot., 2003, Vol. 91, pp. 179-194.
5. Ershova A.N., Popova N.V., Acta Physiol. Plantarum, 2004, Vol. 26. No. 3. pp. 224-225
6. Karappanapandian T., Moon J-C., Kin C., Manoharan K., Kim W., Austr. J. Crop Sci., 2011, Vol. 5, pp. 709-725.
7. Rakhmankulova Z.F., Plant Physiology,

2014, Vol. 61, No. 6, pp. 765-766.

8. Vranova E., Inze D., Van Breusegem F., J. Exp. Bot., 2002, Vol. 53, No. 372, pp. 1227-1236.

9. Andreev A.Y., Kushnareva Y.E., Starkov A.A., Biochemistry, 2005, Vol. 70, No. 2, pp. 246-264.

10. Kolupaev Y.E., Karpets Y.V., Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, 2009, Vol. 41, No. 2, pp. 95-108.

11. Ershova A.N., Berdnikova O.S., Sorption and Chromatographic Processes, 2017, Vol. 17, No. 5, pp. 812-817.

12. Eto Y., Kang D., Hasevaga E., Takeshige K., Minakami S. Archives of Biochem. and Biophys., 1992, Vol. 295, No. 1, pp. 101-106.

13. Chasov A.V., Gordon L.H., Kolesnikov O.P., Minibaeva F.V., Cytology, 2002, Vol. 44, No. 5, pp. 691-696.

14. Vasileva G.G., Glyanko A.K., Mironova N.V., Putilina T.E., Luzova G.B., Applied Biochemistry and Microbiology, 2007, Vol. 45, No. 2, pp. 240-245.

15. Cooper T.G., Beevers H., J. Biol. Chem., 1969, Vol. 244, No 13, pp. 3507-3513.

16. Avery S.V., Biochem. J., 2011, Vol. 434, pp. 201-210.

17. Ershova A.N. Metabolicheskaya adaptatsiya rastenij k gipoksii i povyshennomu sodержaniyu dioksida ugleroda. Voronezh, Voronezh State Univ. Publ., 2007, 264 p.

18. Rosha M., Licausi F., Araujo W., Nunes-nesi A., Sodec L., Fernie A.R., van Dongen J.T., Plant. physiol., 2010, No. 3, Vol.152, pp. 1501-1513.

19. Blokhina O., Fagerstedt K., Physiol. Plant., 2010, Vol. 138, pp. 447-462.

20. Shugaev A.G., Lashtabega D.A., Vyskrebentseva E.I., Plant Physiology, 2011, Vol. 58, No. 3, pp. 323-329.