ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotex-journal.ru>

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ПОД ДЕЙСТВИЕМ РЕАЭРАЦИИ И ГЕНЕРАТОРОВ АФК В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ И РИСА

**Емельянов В.В., Шиков А.Е.,
Ласточкин В.В., Чиркова Т.В.**

Санкт-Петербургский Государственный Университет,
г. Санкт-Петербург, Россия
E-mail: bootika@mail.ru

В работе проведён сравнительный анализ окислительного стресса, спровоцированного постаноксией, и генераторами активных форм кислорода (АФК) в проростках пшеницы и риса. Об интенсивности перекисного окисления липидов судили по накоплению ТБК-реактивных продуктов. Окислительные повреждения белков оценивали спектрофотометрически, окрашивая карбонилированные группы белков 2,4-динитрофенилгидразином. Выявлены дифференциальные отличия в динамике повреждений в разных органах. Окислительные повреждения белков более интенсивно происходили в корнях, тогда как липиды окислялись преимущественно в побегах. По результатам исследования можно сделать вывод о том, что постаноксия оказывает более серьёзное действие на растения, чем генераторы АФК.

Ключевые слова: *Oryza sativa*, *Triticum aestivum*, аноксия, карбонилирование белков, перекисное окисление липидов, реаэрация

OXIDATIVE STRESS UNDER RE-AERATION AND ROS GENERATORS IN WHEAT AND RICE SEEDLINGS

**Yemelyanov V.V., Shikov A.A.,
Lastochkin V.V., Chirkova T.V.**

Saint-Petersburg State University,
Saint Petersburg, Russia
E-mail: bootika@mail.ru

The research represents a comparative analysis of the oxidative stress induced by post-anoxia and reactive oxygen species (ROS) generators in wheat and rice seedlings. The intensity of lipid peroxidation was measured by the accumulation of TBA-reactive products. Oxidative damage of proteins was evaluated by staining the carbonylated protein groups with 2,4-dinitrophenylhydrazine and subsequent measurement of optical density by spectrophotometer. Different plant organs responded to oxidative stress differentially. Proteins were mainly oxidized in roots, while lipid peroxidation occurred predominantly in shoots. According to the results of the study, we can conclude that the effect of post-anoxia caused a more severe damaging impact on plants than ROS generators.

Keywords: *Oryza sativa*, *Triticum aestivum*, anoxia, protein carbonylation, lipid peroxidation, reaeration

Поступила в редакцию: 30.04.2020

DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-2-229-238

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время исследования, связанные с физиологическим влиянием постаноксии на растения, стали более популярными в контексте изучения физиологического действия дефицита кислорода ввиду его экономической значимости. Оценка потерь урожая, связанных с последствиями кислородной недостаточности, оценивается в 50% от общего уровня [Chirkova, Yemelyanov, 2018]. На протяжении последних 25 лет убытки агрокультуры от наводнений по всему миру составили миллионы долларов [Bailey-Serres et al., 2012]. Прогнозируемые глобальные изменения климата могут привести к увеличению уровня моря, что может усугубить ситуацию, поэтому изучение механизмов адаптации к затоплению и его последствиям (кислородной недостаточности и последующей реаэрации) в условиях этих вызовов времени является очень актуальным [Bailey-Serres et al., 2012].

При недостатке кислорода (гипоксии) или полном его отсутствии (аноксии) становится невозможным использовать привычный терминальный акцептор электронов в

митохондриях. Менее эффективный энергетический метаболизм и переключение на бескислородные процессы брожения приводят к неблагоприятным последствиям, таким как системный энергетический кризис, закисление цитоплазмы, накопление ацетальдегида и других токсичных продуктов обмена и, как это ни парадоксально, генерации активных форм кислорода (АФК), таких как перекись водорода [Чиркова, 1998; Blokhina et al., 2001; Gibbs, Greenway, 2003; Chirkova, Yemelyanov, 2018]. Это создаёт условия, провоцирующие сильный окислительный стресс, когда кислород вновь возвращается в среду (состояние постгипоксии/постаноксии или реаэрации) [Шиков и др., 2020]. Недоокисленные продукты метаболизма, перевосстановленное состояние переносчиков электронов и резкое усиление дыхательного метаболизма провоцируют интенсивную генерацию АФК, что вызывает разрушение мембран, выход электролитов, окислительные модификации клеточных компонентов и, как результат, гибель растительных клеток или целого организма [Pfister-Sieber, Brändle, 1994; Blokhina et al., 2003; Chirkova, Yemelyanov, 2018]. Впервые на феномен постаноксических повреждений обратил внимание Crawford с коллегами, позже было отмечено сходство патологических эффектов, вызванных постаноксией, у животных и растений [Crawford et al., 1994].

В условиях реаэрации в дыхательных комплексах митохондрий (преимущественно в I и III) вследствие утечки электронов генерируется супероксидный анион-радикал, который быстро дисмутирует за счёт активности супероксиддисмутазы (СОД) [Blokhina et al., 2003]. При наличии свободных ионов переходных металлов перекись водорода вступает в реакцию Фентона, образуя крайне реакционноспособный гидроксильный радикал. В клетках паренхимы корня неустойчивых растений (*Triticum aestivum* и *Iris germanica*) аккумуляция АФК наблюдалась после более коротких периодов кислородного голодания по сравнению с устойчивыми *I. pseudacorus* и *Oriza sativa* [Blokhina et al., 2001].

Окислительный стресс, спровоцированный постаноксией, приводит к повреждению всех клеточных макромолекул, таких как белки, нуклеиновые кислоты и липиды [Bailey-Serres et al., 2012; Chirkova, Yemelyanov, 2018]. При этом липиды считаются основными мишенями для окисления, так как высвобожденные свободные жирные кислоты и липидные радикалы могут лавинообразно усиливать процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) [Чиркова и др., 1998; Blokhina et al., 2003]. Его последствиями могут быть дезинтеграция мембран, утечка электролитов и потеря влаги. После 7 дней аноксии у риса наблюдали непоправимую потерю тургесцентности, тогда как после 3 дней аноксии он был в состоянии восстановить нормальное содержание влаги в тканях [Setter et al., 2010]. Вследствие изменения тургесценции растения в период постаноксии становятся очень уязвимыми для атаки патогенов и фитофагов [Setter et al., 2010]. Процесс ПОЛ начинается ещё при аноксии, однако при сравнении аэробной и анаэробной фиксации было продемонстрировано, что интенсификация этого процесса характерна именно для периода реаэрации [Blokhina et al., 1999]. Продукты ПОЛ (ТБК-реактивные продукты и диеновые/триеновые конъюгаты) накапливались в корнях неустойчивых растений (*I. germanica* и *T. aestivum*), тогда как устойчивый *I. pseudacorus* демонстрировал схожий эффект лишь после более продолжительного анаэробного периода [Blokhina et al., 1999].

Считается, что существенный вклад в постаноксические повреждения вносит аккумуляция ацетальдегида, который образуется алкоголь дегидрогеназой или за счёт активности каталазы при избытке перекиси [Pfister-Sieber, Brändle, 1994]. Интересно, что активность каталазы при реаэрации возрастает в тканях неустойчивых растений (таких как *I. germanica*), но остаётся неизменной у адаптированных к аноксии (*I. pseudacorus*) [Pfister-

Sieber, Brändle, 1994]. Помимо ацетальдегида во время реоксигенации наблюдается образование метилглиоксаля, активного карбонила, формирующегося из интермедиатов гликолиза (глицеральдегид-3-фосфата и дигидроксиацетонфосфата) [Devanathan et al., 2014].

В последнее время за счёт анализа характера повреждений при аноксии и постаноксии стало понятно, что постаноксию нельзя выделять в качестве отдельного типа стрессора, так как она представляет собой комбинацию стрессовых воздействий (последствия аноксии, окислительный стресс и недостаток влаги) [Шиков и др., 2020]. Тем не менее, в настоящее время имеется острый дефицит работ, связанных с изучением постаноксии, особенно недостаёт исследований сравнительного характера. С целью восполнить этот пробел было проведено настоящее исследование. Сравнение интенсивности окислительных повреждений в растениях, контрастных по устойчивости к аноксии, в ходе реаэрации с действием генераторов АФК позволило заключить, что реаэрация в целом оказывает более серьёзный эффект на клеточные компоненты растений по сравнению с окислительными агентами, что поддерживает идею о комплексном характере постаноксического воздействия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Объектами исследования были 7-дневные проростки пшеница сорта Ленинградка и 10-дневные проростки риса сорта Лиман. Семена стерилизовали в 5% NaClO растворе, промывали горячей водой (45–50°C для пшеницы и 50–55°C для риса) и проращивали в термостате (в течение 3 дней при 23°C для пшеницы и 28°C для риса). Далее растения выращивали в гидропонной культуре на модифицированном растворе Кнопа [Емельянов и др., 2003]. Для создания аноксии растения помещали в герметичные сосуды (эксикаторы), через которые продували азот в течение 45 минут. Эксикаторы и контрольные растения в стаканах с питательным раствором оставляли в темноте на 24 ч и проводили измерения сразу после вскрытия (аноксия) или после нахождения на воздухе в темноте (реаэрация). Чистоту условий аноксии определяли с применением индикатора Anaerotest® (Merck, Германия). Воздействие окислительных агентов осуществляли в темноте в течение 24 ч для метилвиологена (100 мкМ), менадиона (100 мкМ) и ОН•-продуцирующей смеси (аскорбат и Cu(II), 1 мкМ) и 1 ч для перекиси водорода (500 мкМ).

Измерение уровня ПОЛ. Для оценки ПОЛ применяли методику Рубина и Мерзляка с изменениями [Рубин и др., 1976]. Проростки (0,5 г) растирали в ступке в 5 мл 0,1% ТХУ. После гомогенизации к 0,8 мл пробы добавляли 0,1 мл воды и 0,5 мл 0,5% ТБК в 20% ТХУ и оставляли на твердотельном нагревателе при 95°C на 30 мин. Затем образцы центрифугировали (20 мин при 8000 об./мин, радиус ротора 9 см). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре SPECTROstar NANO (BMG LABTECH, Германия) при 532 нм и рассчитывали содержание ТБК-реактивных продуктов с использованием коэффициента молярной экстинкции 0,155 мкМ⁻¹ см⁻¹.

Определение уровня карбонилирования. Для оценки повреждения белков использовали методику Levine [Levine et al., 1994]. Растительный материал (1 г) гомогенизировали в ступке при +4°C и экстрагировали белки 15 мин буфером для экстракции (50 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, pH 7,5), после чего отфильтровывали через тканевый фильтр. Далее пробы центрифугировали 15 мин при 15000 об./мин (радиус ротора 9 см). К 0,5 мл супернатанта добавляли 0,5 мл красителя (10 mM 2,4-динитрофенилгидразин в 2 M HCl) и оставляли для окрашивания на 1 ч в темноте. Белки осаждали 1 мл 40% ТХУ на лёду в течение 10 мин, после центрифугировали 10 мин при 15000 об./мин. Осадок отмывали 3 раза 1 мл смеси

этанол : этилацетат (1 : 1), подвергая центрифугированию 10 мин при 15000 об./мин. Осадок растворяли в 1 мл 5 М гуанидингидрохлорида в фосфатном буфере (рН 6,9) и инкубировали 15 мин при 37°C. Измерение содержания карбониллов проводили на спектрофотометре (Analytik Jena, Германия) при 366 нм, содержание белка определяли при 280 нм, уровень карбонилирования рассчитывали путём соотношения показаний оптической плотности при 366 нм и 280 нм соответственно.

Данные рассчитывали в % от контроля. На рис. 1, 2 и 4 приведена пунктирная линия, соответствующая 100%. На рис. 3 минимальное значение по оси ординат соответствует 100%. Эти значения обработаны статистически и на графиках приведены арифметические средние и их стандартные ошибки. Достоверность отличий определяли с помощью множественного парного теста Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Большинство окислителей приводило к значимому увеличению содержания ТБК-реактивных продуктов, за исключением менадиона в корнях и побегах риса (рис. 1). Отличия между пшеницей и рисом были значимы для всех обработок ($p < 0,0001$ согласно множественному парному тесту Вилкоксона). Интересно, что абсолютное содержание продуктов ПОЛ в корнях риса было выше, чем у пшеницы, тем не менее, в корнях пшеницы относительное увеличение содержания ТБК-реактивных продуктов достигало 150–175% от контроля, тогда как в корнях риса этот прирост достигал только 115–120%, таким образом, в относительных показателях, пшеница характеризовалась большей интенсификацией ПОЛ. В побегах пшеницы содержание ТБК-реактивных продуктов было в полтора раза больше, чем у риса как в контроле, так и при действии обработок, однако относительное увеличение по сравнению со значениями в контроле было схожим в обоих растениях (около 120–125% в побегах пшеницы и 105–115% в побегах риса).

Рис. 1. Воздействие окислительных агентов на перекисное окисление липидов (% от контроля) в корнях и побегах растений риса и пшеницы. Планки погрешностей демонстрируют стандартную ошибку среднего (число биологических повторностей = 12–15). Звёздочками обозначены статистически значимые различия от контроля (тест Вилкоксона; $p < 0,05$).

На рис. 2 проиллюстрирован эффект 24 ч аноксии с последующей реэрацией в течение 1, 3, 6 и 24 ч на ПОЛ в растениях риса и пшеницы. Как и в случае действия окислительных агентов, отличия между растениями в условиях реэрации были значимыми ($p < 0,0001$ по результатам множественного парного теста Вилкоксона). Схожим образом с обработкой окислителями, в корнях риса обнаружено большее абсолютное содержание ТБК-реактивных продуктов по сравнению с пшеницей, однако динамика изменений их содержания отличалась между растениями. Например, у риса после тенденции к интенсификации ПОЛ на кратких сроках реэрации наблюдали даже значимое снижение по сравнению с контролем в точке 24 ч реоксигенации (80% от контроля). В то же время в корнях пшеницы после небольшого уменьшения при аноксии и во время краткосрочной реэрации, ТБК-реактивные продукты значимо аккумулировались на длительных сроках реэрации (120% при 24 ч реэрации). В побегах риса окисление липидов начиналось ещё при аноксии и продолжалось в ходе реэрации, достигая 127% от уровня контроля на сроке 24 ч реэрации. В побегах пшеницы при аноксии, напротив, снижалось содержание ТБК-реактивных продуктов, однако их постепенное накопление было замечено в процессе реоксигенации. Своего пикового значения оно достигало в точке 24 ч постаноксической реэрации (151% от контроля). Таким образом, долгосрочная реэрация провоцировала ПОЛ в побегах пшеницы почти в полтора раза интенсивнее, чем в побегах риса.

Рис. 2. Воздействие аноксии и постаноксии на перекисное окисление липидов (% от контроля) в корнях и побегах растений риса и пшеницы. Планки погрешностей демонстрируют стандартную ошибку среднего (число биологических повторностей = 12–15). Звёздочками обозначены статистически значимые различия от контроля (тест Вилкоксона; $p < 0,05$).

Рис. 3 иллюстрирует воздействие окислителей на общий уровень карбонилирования белков в проростках пшеницы и риса. Следует отметить, что в отличие от ТБК-реактивных продуктов, различие в содержании карбонилированных белков между побегами риса и пшеницы не было статистически значимым, хотя была отмечена тенденция к более активному накоплению окисленных белков у пшеницы. В корнях по результатам попарного теста Вилкоксона различия между растениями были существенно значимыми ($p < 0,0001$).

Заметно, что в корнях риса обработки приводили к значимо большему накоплению карбонилированных белков по сравнению с пшеницей (в среднем 165% против 135%). В побегах эффект от окислителей был схож с результатами по изменению содержания ТБК-реактивных продуктов: у неустойчивого растения степень карбонилирования составляла 170%, тогда как в устойчивом растении прирост составил в среднем 135%, за исключением $\text{OH}^\bullet$ -генерирующей смеси аскорбата и Cu(II) , вызывавшей схожие эффекты в обоих растениях.

Рис. 3. Воздействие окислительных агентов на степень карбонилирования белков (% от контроля) в корнях и побегах растений риса и пшеницы. Планки погрешностей демонстрируют стандартную ошибку среднего (число биологических повторностей = 12–15). Звёздочками обозначены статистически значимые различия от контроля (тест Вилкоксона; $p < 0,05$).

Рис. 4 содержит информацию о динамике изменения уровня карбонилирования белков растений во время аноксии и последующей реаэрации. Практически в каждой точке растения значимо отличались друг от друга ($p < 0,05$), за исключением 1 ч реаэрации в побегах. В корнях риса наблюдалась тенденция к аккумуляции карбонилированных белков при постаноксии, что достигало 150% при 3 и 6 ч реоксигенации, тем не менее, после суток постаноксии содержание окисленных белков возвращалось к контрольному уровню. В корнях пшеницы было заметно усиление карбонилирования при аноксии и последующей реаэрации, что на длительных сроках реаэрации достигало 200% в отличие от риса. В побегах риса аноксия и постаноксия не приводили к статистически значимым изменениям, тем не менее, наблюдалась тенденция к возрастанию степени карбонилирования в точках 3 и 6 ч реаэрации. В побегах пшеницы, напротив, наблюдалась динамика накопления. Так, увеличение уровня окисленных белков после суток реаэрации относительно контроля составляло 132%.

Рис. 4. Воздействие аноксии и постаноксии на степень карбонилирования белков (% от контроля) в корнях и побегах растений риса и пшеницы. Планки погрешностей демонстрируют стандартную ошибку среднего (число биологических повторностей = 12–15). Звёздочками обозначены статистически значимые различия от контроля (тест Вилкоксона; $p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Как было отмечено во введении, интенсификация процессов ПОЛ при аноксии и реоксигенации является типичной реакцией в тканях неустойчивых видов [Чиркова и др., 1998; Blokhina et al., 1999; 2003]. Несмотря на то, что в контроле уровень ПОЛ в корнях риса был выше, после 24 ч реэрации его интенсивность относительно контроля понизилась в то время как у пшеницы, напротив, была заметна тенденция к накоплению ТБК-реактивных продуктов в постаноксии (рис. 2). Корни обоих растений реагировали схожим образом на обработки оксидантами, увеличивая интенсивность ПОЛ, что может объясняться локальной генерацией АФК при всасывании этих веществ из раствора именно корнями (рис. 1). Тем не менее, заметно, что в корнях пшеницы уровень ПОЛ был значительно выше. При этом тот факт, что рис на длительных сроках реэрации демонстрировал редукцию содержания ТБК-реактивных продуктов согласуется с предыдущими исследованиями [Чиркова и др., 1998]. Некоторое снижение интенсивности ПОЛ в корнях пшеницы при аноксии и краткосрочной реэрации может быть связано с вовлечением антиоксидантных систем и низкомолекулярных антиоксидантов – аскорбата и глутатиона [Biemelt et al., 1998]. Это соотносится с данным, полученными на клетках кончика корня пшеницы, согласно которым содержание МДА в условиях кислородного голодания и кратковременной реэрации не повышается [Pang et al., 2015]. Однако также было показано, что анаэробизм и последующая реэрация на кратких сроках провоцирует все признаки программируемой клеточной гибели, такие, как возрастание уровня активных форм кислорода, изменение формы митохондрий и выход из них цитохрома С [Pang et al., 2015]. Вероятно, вследствие этого на более длительных сроках реоксигенации в корнях пшеницы в результате избыточной генерации АФК и клеточной гибели провоцировалось истощение уровня антиоксидантов, что приводило к интенсификации ПОЛ именно после долговременной реэрации.

Побеги обоих растений демонстрировали более высокий уровень ПОЛ, чем корни при действии постаноксии (рис. 2). Как показывают исследования, дифференциальный ответ на стрессовые условия в различных органах растений достаточно распространён. Так, в растениях ячменя интенсификация пероксидации липидов была замечена только в корнях, находящихся в условиях постаноксической реэрации, тогда как в побегах не было обнаружено значимого усиления этого процесса и изменения содержания МДА [Skutnik, Rychter, 2009]. Растения *Centaurea ragusina* в условиях осмотического стресса, усиливали ПОЛ в побегах, хотя в корнях, напротив, его уровень не изменялся [Radić et al., 2006]. При этом окислители оказывали менее выраженный эффект на побеги неустойчивого растения (рис. 1), тогда как на длительных сроках реэрации существенное накопление ТБК-реактивных продуктов было заметно как в корнях, так и, в особенности, в побегах (рис. 2), демонстрируя более системный характер окислительных повреждений.

Увеличение степени карбонилирования белков ассоциировано со многими стрессовыми факторами, причем обычно степень белковых оксидативных модификаций определяется силой стрессора. Была отмечена связь карбонилирования белков растений с засолением, воздействием тяжелых металлов, повышенной инсоляцией и биотическими взаимодействиями [Lounifi et al., 2013]. Тем не менее, оценка окисления растительных белков в ходе аноксии и последующей реэрации ещё не проводилась.

На клетках дрожжей выявлено, что аноксия провоцировала окислительные повреждения ДНК (образование 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина), а также карбонилирование белков цитозоля и митохондрий [Dirmeier et al., 2002]. Из митохондриальных белков при действии аноксии в наибольшей степени были подвержены повреждениям белки, вовлечённые в процессы дыхания. Согласно результатам нашей работы, при аноксии и на кратковременных сроках реоксигенации в корнях риса были заметны окислительные повреждения белков (рис. 4), уровень которых был сопоставим с обработкой окислительными агентами (рис. 3), однако после 24 ч пребывания в реэрации, проростки риса были в состоянии восстанавливать степень карбонилирования белков до уровня контрольных значений, в отличие от пшеницы. В корнях и побегах неустойчивого растения повышение интенсивности окисления белков наблюдали в постаноксии, особенно это было выражено в корнях (рис. 4), степень воздействия была значительно выше, чем при действии окислительных агентов (рис. 3).

При развитии патологий у животных окислительные повреждения белков связаны, главным образом, с дисфункциями в дыхательной активности митохондрий, усиливая интенсивность формирования АФК при постаноксии. Во время реэрации в клетках устриц *Crassostrea virginica* было отмечено карбонилирование белков, что коррелировало с уменьшением активности протеаз в митохондриях, тем самым, провоцируя образование окисленных агрегатов [Ivanina, Sokolova, 2016]. Можно предположить, что похожий механизм характерен и для растений. Для этого требуются дальнейшие эксперименты с выделением фракций белков из органелл, таких как митохондрии и хлоропласты, где активно проходят окислительно-восстановительные процессы, и оценкой оксидативных повреждений при постаноксии прицельно в этих органеллах.

В целом, результаты работы подтверждают дифференциальный ответ разных органов на окислительный стресс, спровоцированный аноксией и постаноксической реэрацией. В то время как повреждения белков были в наибольшей степени отмечены в корнях, процессы перекисного окисления липидов более активно происходили в побегах, что согласуется с

данными других исследований и нахождением побегов непосредственно в окислительной атмосфере.

Постаноксическая реэрация провоцировала оксидативный стресс и последующие окислительные повреждения макромолекул в проростках обоих исследуемых растений, тем не менее, динамика окислительных процессов отличалась. Устойчивый рис демонстрировал меньший прирост уровня ТБК-реактивных продуктов (даже несмотря на их повышенное абсолютное содержание в корнях), а также был способен к восстановлению степени карбонилирования до контрольных значений в ходе долговременной реэрации, в отличие от неустойчивой пшеницы. Кроме того, если обобщать эффекты действия стрессоров в целом, то можно заключить, что эффект индуцируемого постаноксией окислительного стресса был более выраженным по сравнению с действием окислителей в виду того, что постаноксия представляет собой комплексное воздействие с множеством негативных факторов (обезвоживание, недостаток энергии, интенсивная генерация АФК и т.п.).

БЛАГОДАРНОСТЬ

В работе использована приборная база Ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-04-00157.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Емельянов В.В., Кирчихина Н.А., Ласточкин В.В., Чиркова Т.В. Гормональный баланс проростков пшеницы и риса в условиях аноксии // Физиология растений. 2003. Т. 50 (6). С. 922–929.
2. Рубин Б.А., Мерзляк М.Н., Юферова С.Г. Окисление липидных компонентов в изолированных хлоропластах под действием света. Субстраты и продукты перекисления липидов // Физиология растений. 1976. Т. 23 (2). С. 254–261.
3. Чиркова Т.В. Растение и анаэробизм // Вестник Санкт-Петербургского университета, Серия 3. Биология. 1998. (2). С. 41–52.
4. Чиркова Т.В., Новицкая Л.О., Блохина О.Б. Перекисное окисление липидов и активность антиоксидантных систем при аноксии у растений с разной устойчивостью к недостатку кислорода // Физиология растений. 1998. Т. 45 (1). С. 65–73.
5. Шиков А.Е., Чиркова Т.В., Емельянов В.В. Постаноксия у растений: причины, последствия и возможные механизмы // Физиология растений. 2020. Т. 67 (1). С. 119–136. <https://doi.org/10.31857/S0015330320010200>.
6. Bailey-Serres J., Lee S.C., Brinton E. Waterproofing crops: effective flooding survival strategies // Plant Physiology. 2012. V. 160 (4). P. 1698–1709. <https://doi.org/10.1104/pp.112.208173>.
7. Biemelt S., Keetman U., Albrecht G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings // Plant Physiology. 1998. V. 116 (2). P. 651–658. <https://doi.org/10.1104/pp.116.2.651>.
8. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review // Annals of Botany. 2003. V. 91 (Spec. No). P. 179–194. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf118>.

9. Blokhina O.B., Chirkova T.V., Fagerstedt K.V. Anoxic stress leads to hydrogen peroxide formation in plant cells // *Journal of Experimental Botany*. 2001. V. 52 (359). P. 1179–1190. <https://doi.org/10.1093/jxb/52.359.1179>.
10. Blokhina O.B., Fagerstedt K.V., Chirkova T.V. Relationships between lipid peroxidation and anoxia tolerance in a range of species during post-anoxic reaeration // *Physiologia Plantarum*. 1999. V. 105 (4). P. 625–632. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1999.105405.x>.
11. Chirkova T., Yemelyanov V. The study of plant adaptation to oxygen deficiency in Saint Petersburg University // *Biological Communications*. 2018. V. 63 (1). P. 17–31. <https://doi.org/10.21638/spbu03.2018.104>.
12. Crawford R.M.M., Walton J.C., Wollenweberratzer B. Similarities between postischemic injury to animal tissues and postanoxic injury in plants // *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh Section B – Biological Sciences*. 1994. V. 102. P. 325–332. <https://doi.org/10.1017/S0269727000014317>.
13. Devanathan S., Erban A., Perez-Torres R., et al. *Arabidopsis thaliana* Glyoxalase 2-1 is required during abiotic stress but is not essential under normal plant growth // *PLoS ONE*. 2014. V. 9 (4). e95971. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095971>.
14. Dirmeier R., O'Brien K.M., Engle M., et al. Exposure of yeast cells to anoxia induces transient oxidative stress: Implications for the induction of hypoxic genes // *Journal of Biological Chemistry*. 2002. V. 277 (38). P. 34773–34784. <https://doi.org/10.1074/jbc.M203902200>.
15. Gibbs J., Greenway H. Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism // *Functional Plant Biology*. 2003. V. 30 (1). P. 1–47. <https://doi.org/10.1071/PP98095>.
16. Ivanina A.V., Sokolova I.M. Effects of intermittent hypoxia on oxidative stress and protein degradation in molluscan mitochondria // *Journal of Experimental Biology*. 2016. V. 219 (Pt 23). P. 3794–3802. <https://doi.org/10.1242/jeb.146209>.
17. Levine R.L., Williams J.A., Stadtman E.R., et al. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. // *Methods in Enzymology*. 1994. V. 233. P. 346–357. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(94\)33040-9](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(94)33040-9).
18. Lounifi I., Arc E., Molassiotis A., et al. Interplay between protein carbonylation and nitrosylation in plants // *Proteomics*. 2013. V. 13 (3–4). P. 568–578. <https://doi.org/10.1002/pmic.201200304>.
19. Pang N., Zhang F. Hypoxia-induced programmed cell death in root-tip meristematic cells of *Triticum aestivum* L // *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica*. 2015. V. 57 (1). P. 51–61. <https://doi.org/10.1515/abcsb-2015-0004>.
20. Pfister-Sieber M., Brändle R. Aspects of Plant Behaviour under Anoxia and Post-Anoxia // *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. Biological Sciences*. 1994. V. 102. P. 313–324. <https://doi.org/10.1017/S0269727000014305>.
21. Radić S., Radić-Stojković M., Pevallek-Kozlina B. Influence of NaCl and mannitol on peroxidase activity and lipid peroxidation in *Centaurea ragusina* L. roots and shoots // *Journal of Plant Physiology*. 2006. V. 163 (12). P. 1284–1292. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.08.019>.
22. Setter T.L., Bhekasut P., Greenway H. Desiccation of leaves after de-submergence is one cause for intolerance to complete submergence of the rice cultivar IR 42 // *Functional Plant Biology*. 2010. V. 37 (11). P. 1096–1104. <https://doi.org/10.1071/FP10025>.
23. Skutnik M., Rychter A.M. Differential response of antioxidant systems in leaves and roots of barley subjected to anoxia and post-anoxia // *Journal of Plant Physiology*. 2009. V. 166 (6). P. 926–937. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.11.010>.