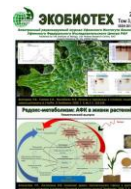




# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



## ОКСИЛИПИНЫ. ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА МХА *PHYSCOMITRELLA PATENS* ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ

Горина С.С., Топоркова Я.Ю.

Казанский институт биохимии и биофизики  
ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия  
E-mail: [gsvetlana87@gmail.com](mailto:gsvetlana87@gmail.com)

Липоксигеназный каскад является источником обширной и разнообразной группы кислород-содержащих соединений – оксилипинов, продуктов окисления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), участвующих в реализации различных физиологических программ как у растений, так и у животных. В отличие от большинства семенных растений, ПНЖК которых представлены в основном линолевой (18:2) и  $\alpha$ -линоленовой (18:3) кислотами, мхи содержат значительные количества длинноцепочечных полиеновых жирных кислот (арахидоновая (20:4) и эйкозапентаеновая (20:5) кислоты), которые, так же, как и C18 ПНЖК (18:2 и 18:3), могут быть превращены в ходе липоксигеназного пути.

В работе исследована динамика экспрессии генов липоксигеназного каскада мха *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch&Schimp. в ходе инфицирования фитопатогенной бактерией *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043. Показано, что при инфицировании активируется транскрипция генов липоксигеназ, участвующих в преобразовании C18 ПНЖК, тогда как экспрессия генов C20-метаболизирующих липоксигеназ ингибируется. Полученные данные свидетельствуют в пользу важной роли оксилипинов, образующихся из C18 ПНЖК, и сходстве защитного ответа *P. patens* и цветковых растений.

**Ключевые слова:** алленоксидсинтазы, алленоксидциклазы, липоксигеназы, фитопатогены, гидропероксидлиазы,

## OXYLIPINS. DYNAMICS GENE EXPRESSION OF THE LIPOXYGENASE CASCADE OF MOSS *PHYSCOMITRELLA PATENS* DURING INFECTION

Gorina S.S., Toporkova Y.Y.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics  
FRC KazSC RAS, Kazan, Russia  
E-mail: [gsvetlana87@gmail.com](mailto:gsvetlana87@gmail.com)

The lipoxygenase pathway is a source of large and diverse group of oxygen-containing compounds – oxylipins, products of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) oxygenation which are involved in realization of various physiological processes in both plants and animals. Unlike most seed plants PUFAs of which mostly consist of linoleic and  $\alpha$ -linolenic acids, mosses contain significant amounts of long chain polyene fatty acids (arachidonic (20:4) and eicosapentaenoic (20:5) acids), which, like C18 fatty acids (18:2 and 18:3), can be converted during the lipoxygenase pathway.

In this work, dynamics of expression of *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch&Schimp lipoxygenase cascade genes during infection by phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 was studied. It was shown that upon infection, transcription of genes of lipoxygenases involved in the C18 fatty acids conversions was activated, whereas the expression of C20 metabolizing lipoxygenases genes was inhibited. Data obtained indicates the important role of oxylipins formed from C18 PUFAs and the similarity of the protective response of *P. patens* and flowering plants.

**Keywords:** allene oxide synthases, allene oxide cyclases, hydroperoxide lyases, lipoxygenases, phytopathogens

Поступила в редакцию: 25.04.2020

DOI: [10.31163/2618-964X-2020-3-2-157-165](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-2-157-165)

## ВВЕДЕНИЕ

Оксилипины представляют собой обширную и разнообразную группу кислород-содержащих соединений, образующихся в результате окисления полиненасыщенных жирных

кислот (ПНЖК). Они широко распространены в аэробных организмах, включая растения, животные и грибы. Для ряда оксилипинов установлено физиологическое значение. Они задействованы в передаче внутриклеточных и межклеточных сигналов, перепрограммировании экспрессии генов, перекрестном взаимодействии с системами гормональной регуляции, регуляции процессов роста и развития; поддержании трофических связей между группами живых организмов и др. [Hoffmann et al., 2011; Martinez et al., 2019]. Биосинтез оксилипинов начинается с перекисного окисления липидов, которое может происходить как спонтанным, так и ферментативным путем. В первом случае радикальные атаки приводят к окислению ПНЖК с образованием рацемической смеси гидроперекисей жирных кислот, из которых в ходе радикальных цепных реакций формируются ди- и тригидрокси-кислоты, эпокси спирты, кетодиены и другие соединения [Mosblech et al., 2009]. Во втором случае происходит ферментативное преобразование жирных кислот при участии липоксигеназ (ЛОГ) [Griffith, 2015], циклооксигеназ [Tapiero et al., 2002; Lagarde et al., 2018],  $\alpha$ -диоксигеназ ( $\alpha$ -ДОГ) [Hamberg et al., 2005], продуцирующих гидроперекиси и эндоперекиси жирных кислот [Hamberg, 1993].

Ферментативный биосинтез растительных оксилипинов инициируется, в основном, превращением линолевой (18:2) и  $\alpha$ -линоленовой (18:3) кислот при участии  $\alpha$ -ДОГ и ЛОГ. Дальнейшее преобразование образующихся гидроперекисей может протекать при участии пероксигеназ, пероксидаз, ЛОГ, а также при участии цитохромов P450 семейства CYP74: алленоксидсинтаз (АОС), гидропероксидлиаз (ГПЛ), дивинилэфирсинтаз (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтаз (ЭАС) [Mosblech et al., 2009; Griffith, 2015]. В отличие от растений, биосинтез оксилипинов млекопитающих происходит путем окисления C20 ПНЖК, таких как арахидоновая и родственные ей жирные кислоты эйкозанового ряда, при участии простагландинэндопероксидсинтаз и ЛОГ [Berthelot et al., 2015]. Превращение ПНЖК при участии ЛОГ и последующее преобразование синтезированных гидроперекисей получило название липоксигеназного пути.

В отличие от большинства покрытосеменных и голосеменных растений, мхи содержат значительные количества длинноцепочечных C20 ПНЖК, таких как арахидоновая (20:4) и эйкозапентаеновая (20:5), наряду с C18 ПНЖК (18:3 и 18:2). Было показано, что все эти ПНЖК могут превращаться в ходе липоксигеназного каскада у мхов, что приводит к образованию метаболитов, типичных не только для растений, но и животных, водорослей, грибов [Anterola et al., 2009] (рис.1). Возможно, такая разница в метаболитах позволяет мхам адаптироваться к различным условиям существования. Являясь растениями-экстремофилами, мхи составляют существенную часть биомассы в зонах с холодным климатом, таких как арктическая тундра и бореальные леса, где сосудистые растения гораздо менее жизнеспособны. Мхи могут пережить полное высыхание [Proctor et al., 2007] и замораживание в течение тысячи лет [Roads et al., 2014].

У растений в результате действия стрессовых факторов абиотической либо биотической (например, инфицирование) природы могут возникать различные заболевания, что в случае сельскохозяйственной продукции приводит к потере части урожая. Инфицирование фитопатогенными микроорганизмами характеризуется увяданием растения, опаданием листьев, появлением некрозов, отмиранием отдельных органов и др. Оксилипины участвуют в реализации защитной стратегии растений: они могут служить медиаторами защитных ответов растений (жасмонаты – продукты АОС ветви липоксигеназного каскада) либо ингибировать рост бактерий и грибов (ноненали, гексенали – продукты ГПЛ ветви липоксигеназного каскада). Целью настоящей работы являлось изучение динамики

экспрессии генов липоксигеназного каскада мха *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch&Schimp. при инфицировании фитопатогенной бактерией *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043.

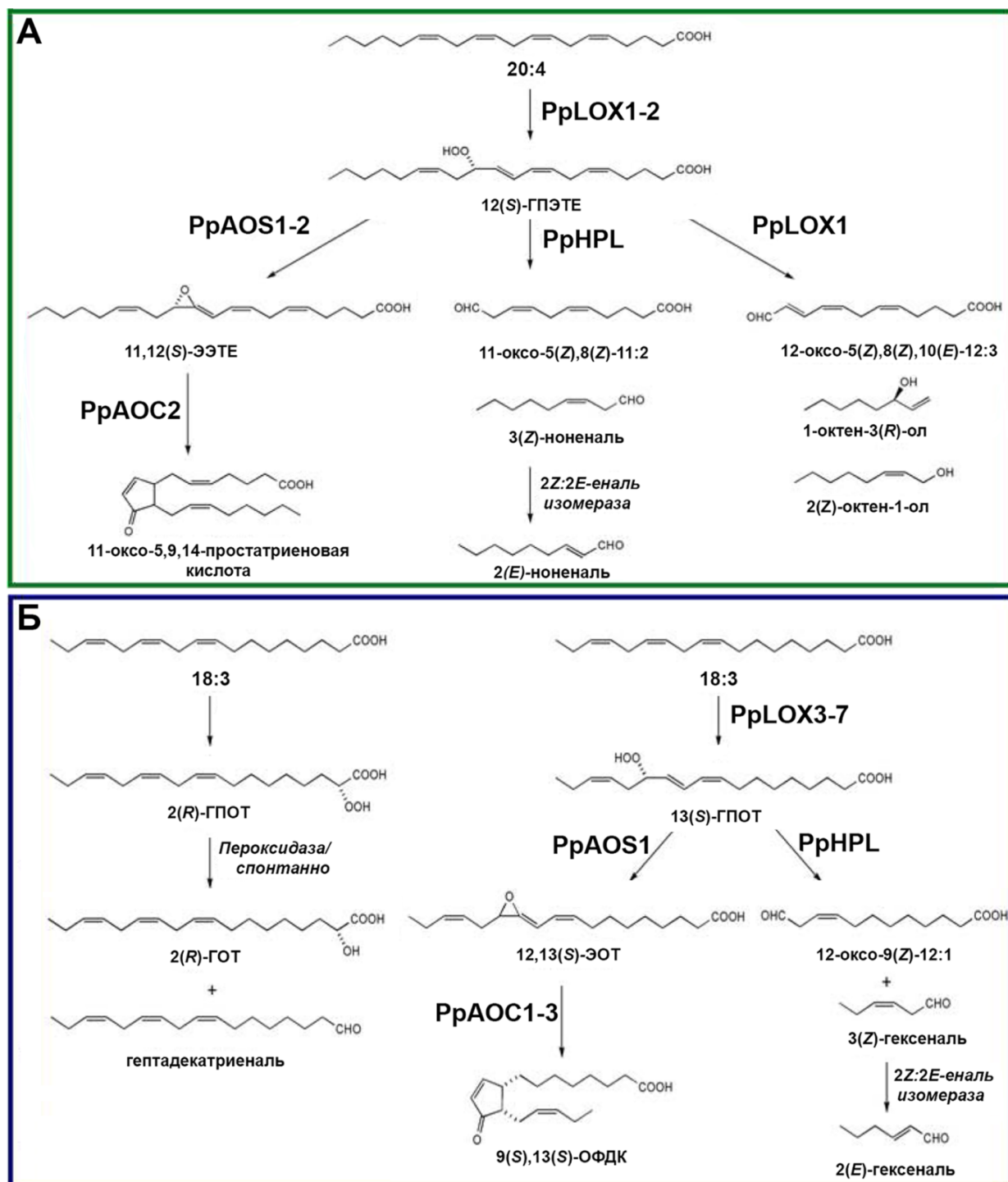


Рис 1. Схема превращений ПНЖК в *P. patens*. Каскад превращений арахидоновой кислоты при участии липоксигеназ (PpLOX1-2), АОС (PpAOS1-2) и ГПЛ (PpHPL) (А); каскад превращений  $\alpha$ -линоленовой кислоты при участии  $\alpha$ -диоксигеназы ( $\alpha$ -DOX), липоксигеназ (PpLOX3-7), АОС (PpAOS1) и ГПЛ (PpHPL) (Б) [Ponce de Leon et al., 2015].

Использование мха *P. patens* в качестве модельного объекта обусловлено не только тем, что его достаточно легко культивировать *in vitro* в поддерживаемых контролируемых стерильных условиях, но и тем, что в 2008 году геном этого организма был полностью

расшифрован [Rensing et al., 2008]. В геноме *P. patens* обнаружено восемь генов липоксигеназ, две из которых (бифункциональная PpLOX1, проявляющая гидропероксидазную и лиазную активности, и PpLOX2) предпочтительно используют в качестве субстратов C20 ПНЖК (20:4 и 20:5), тогда как другие (PpLOX3-PpLOX7) предпочтительно утилизируют C18 ПНЖК (18:2 и 18:3) [Anterola et al., 2009]. Таким образом, синтезируется широкий спектр C18 и C20 гидроперекисей, которые могут преобразовываться при участии гидропероксидлиазы (PpHPL) в оксокислоты и летучие соединения (альдегиды и спирты), а также при участии двух алленоксидсинтаз (PpAOS1 и PpAOS2) и трех алленоксидциклаз (PpAOC1-PpAOC3) – в циклопентеноны, кетоны и, предположительно, жасмонаты. Кроме того, ЛОГ *P. patens* могут катализировать вторичные превращения гидроперекисей жирных кислот (рис.1), расширяя спектр синтезируемых оксилипинов [Ponce de Leon et al., 2015].

Для борьбы с патогенными микроорганизмами растения синтезируют целый набор защитных белков, одними из которых являются PR-белки (pathogenesis-related), среди которых наиболее известными являются белки группы PR-1. Белки этой группы и кодирующие их гены часто используются как наиболее надежные маркеры инфекционного процесса [Datta, Muthukrishnan, 1999]. В связи с этим, в данной работе в качестве маркера, определяющего наличие инфекционного процесса, использовали ген PR-1.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были выбраны мох *P. patens* и фитопатоген широкого круга *P. atrosecticum* SCRI1043. Клетки бактерий выращивали на среде Luria-Bertani (LB) [Sambrook et al., 1989] в термостатируемом шейкере-инкубаторе Sanyo Orbi-Safe HR (Sanyo, Япония) при вращении платформы со скоростью 160 об/мин и температуре 28°C. Мох *P. patens* выращивали в ростовой камере при  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  с режимом освещения 16:8 часов в стерильных условиях на среде MS (Murashige – Skoog) [Murashige, Skoog, 1962]. Среда для протонемы включала дополнительно 0,5 г/л тартрата аммония.

Для инфицирования клетками *P. Atrosecticum* SCRI1043 использовали 20–25-дневные растения мха (протонема и гаметофор). Клетки фитопатогена выращивали в среде LB до поздней логарифмической фазы роста, после чего осаждали при 6000 g в течение 10 минут при комнатной температуре и дважды отмывали 0,4% NaCl. Инфицирование проводили суспензией бактериальных клеток в количестве  $(1-3) \times 10^5$  КОЕ. Образцы (100 мг) мха отбирали через 6, 9, 24, 48 часов, а также на 4 и 6 сутки после воздействия, замораживали и гомогенизировали, растирая в жидком азоте. Выделение тотальной РНК из контрольных и опытных образцов проводили с использованием коммерческого набора RNeasy Plant Mini Kit («Qiagen», США) с этапом обработки ДНКазой («Qiagen», США) по прилагаемому протоколу производителя. Качество выделенной РНК оценивали по спектрам электрофоретического разделения в агарозном геле после окрашивания бромистым этидием с помощью установки для видео-документации гелей Gel-Doc (Bio-Rad, США). Определение концентрации РНК проводили с помощью флуориметра Qubit («Invitrogen», США) и коммерческого набора QuantT™ RNA HS Assay Kit («Invitrogen», США). Концентрации рассчитывали с использованием программного обеспечения прибора. Полученную РНК использовали в качестве матрицы для синтеза кДНК с помощью обратной транскриптазы M-MuLV (Fermentas, Литва) в соответствии со стандартным протоколом производителя. Анализ экспрессии генов проводили методом количественной ПЦР в режиме реального времени на

приборе CFX96 Touch Real Time System (Bio-Rad Laboratories, США) с использованием 2,5-кратной готовой реакционной смеси, содержащей в составе краситель EVA Green (Syntol, Россия). Изменения в экспрессии целевых генов определяли по вычислению уровня нормализованной экспрессии генов с помощью программного обеспечения «CFX MaestroSoftware» относительно референсных генов: актина, тубулина, убиквитина, глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы и фактора элонгации транскрипции. Использованные в работе праймеры приведены в таблице. Поиск нуклеотидных последовательностей генов ферментов липоксигеназного каскада *P. patens*, а также референсных генов, проводили в базах данных NCBI и Phytozome с помощью программы BLAST. Анализ нуклеотидных последовательностей, включая конструирование праймеров и множественное выравнивание генов, проводили с помощью программы Vector NTI Advance 9 («Invitrogen», США). Праймеры синтезировали в ЗАО «Евроген» (Россия).

**Таблица. Список использованных праймеров, комплементарных последовательностям референсных генов и генов липоксигеназного каскада *P. patens***

Название праймера	Последовательность 5'-3'	Название праймера	Последовательность 5'-3'
PpActF	GCTCACGGACCCACCTCTG	PpActR	CCGTCTCAAATCTGCTGTCC
PpTubF	GTATCATCAGGGAGAGCAAGTG	PpTubR	CACAGCAATACGGTTCAAGG
PpGapF	GTGAGAACAACAAGTCGGGAAG	PpGapR	GTCGGCTCCAAGTATCC
PpEfF	GAAAGAGAGAATCACCGAAGGC	PpEfR	GCCACATCTTTCTCCGC
PpUbF	GACCTATGGGCAAAGTGGC	PpUbR	CGGAGAGAGAGAGCCTGGATC
PpPR1F	CCGGGATCCCTAACTTGG	PpPR1R	GGCGTCTTCTGGAGAGGACG
PpLOX7F	GCTTAGTTTGCCGCCTTG	PpLOX7R	GGGGTAAATGTCTGCTCAATG
PpLOX3F	GGCAGGGAGAAGGACACC	PpLOX3R	CCACCCTGCGTAGACTTTTCG
PpLOX1F	GCTGCCGTGAACTACAAAGAC	PpLOX1R	CCCGTGCGAGTCCTTCTTG
PpLOX2F	GGAGTGAGGCTTGTGGTGG	PpLOX2R	GCAGTCTCGTCCCCTTCAG
PpLOX6F	GCACTTCCTCACAGCCGACTC	PpLOX6R	CGTCCTTTGCGTATGGGTAG
PpLOX11F	CCGCGGCGGATTTCGAAC	PpLOX11R	GCTCTTCTACATTCCG
PpAOS1F	GACGCCACTGCCAACCTG	PpAOS1R	GCCTTGCCGTATTGGTATG
PpAOS2F	CGAGAAACTGAAGCAATGGTG	PpAOS2R	CCAGGCAGACGCATACGG
PpHPLF	GACCGTGGGGCAAGAGAGC	PpHPLR	CATTGTATTCGGTGCTTGGC
PpAOC1F	GAATCACGGCGGGTCTCTG	PpAOC1R	CGCACAACGTTCTGGGAG
PpAOC2F	GGGAGAGATGGGAATAAGG	PpAOC2R	CCGTAGTCACCGAAGTAGAAAC
PpAOC3F	GTGCGCCTGAATTACATAGC	PpAOC3R	CTCTGGGATGCCCGAAAG

Эксперименты проводили в трех биологических и трех аналитических повторностях. На рисунке 2 приведены средние арифметические значения и их доверительные интервалы, рассчитанные по стандартным ошибкам.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для *P. patens*, как и для большинства мхов, в жизненном цикле характерно чередование двух поколений: гаметофора и спорофита. Споры развиваются в нитевидную структуру – протонему, состоящую из двух типов клеток (хлоронемы и каулонемы). Гаметофор имеет более сложную организацию и состоит из листоподобных структур, ризоидов, а также мужских и женских половых органов. В связи с этим, в данной работе проводили сравнение динамики экспрессии генов ферментов липоксигеназного каскада при инфицировании протонемы и гаметофора по отдельности.

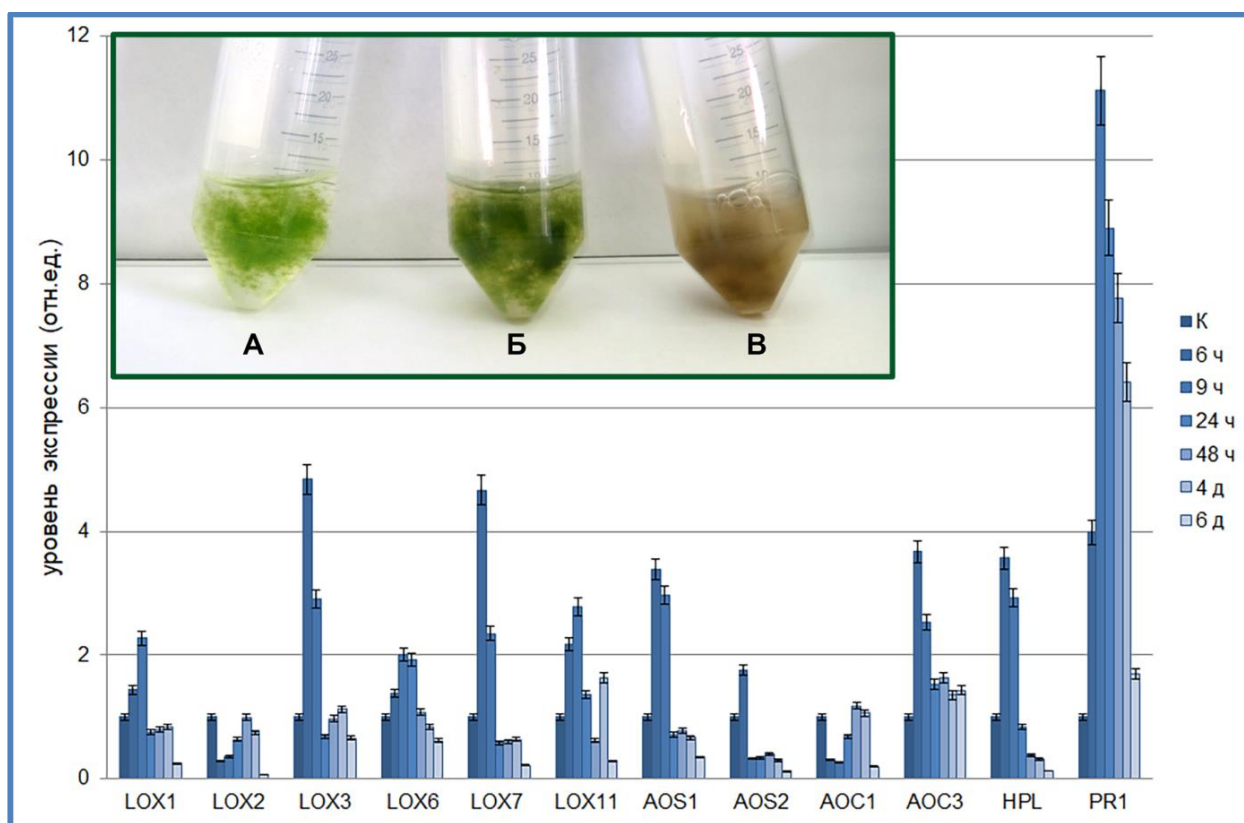
Было показано, что на стадии протонемы через 6 часов инфицирования активировалась экспрессия генов липоксигеназ. При этом значения уровня экспрессии генов *PpLOX3*, *PpLOX7* и *PpLOX11* были выше, чем генов *PpLOX1*, *PpLOX6*, и составляли 4,8, 4,6 и 2,2 отн. ед. против 1,4 и 1,4, соответственно (экспрессия тех же генов в растениях без воздействия принималась за 1 отн. ед.). Через 9 часов уровень экспрессии генов *PpLOX1*, *PpLOX3*, *PpLOX6*, *PpLOX7* и *PpLOX11* выравнивался, и значения были уже сопоставимыми (2,3, 2,9, 2,1, 2,3 и 2,7, соответственно). Через 24 часа значения уровня экспрессии генов снижались до контрольных значений и ниже, и только для гена *PpLOX6* значение оставалось на прежнем уровне (1,9 отн. ед.). Наряду с этим, экспрессия гена *PpLOX2* в первые сутки снижалась относительно контрольных значений и составляла через 6 часов 0,3 отн. ед., через 9 часов – 0,4 отн. ед., через 24 часа — 0,6 отн. ед., выравниваясь с показателями контрольных растений только к 48 часам после инфицирования (рис. 2). Исходя из того, что липоксигеназы *PpLOX1* и *PpLOX2* задействованы в преобразовании С20 ПНЖК, а *PpLOX3*–*PpLOX7* в преобразовании С18 ПНЖК, можно предположить, что при инфицировании в основном происходит образование С18 гидроперекисей ПНЖК, о чем свидетельствует подавление экспрессии гена *PpLOX2* и сопоставимое с контрольным значение экспрессии гена *PpLOX1*. Эти результаты соотносятся с литературными данными о наличии фунгицидной и антибактериальной активности у гидроперекисей С18 ПНЖК [Prost et al., 2005].

Среди ферментов *CYP74* (участников второго этапа липоксигеназного каскада) через 6 часов активировалась экспрессия всех трех генов: *PpAOS1* (3,4 отн. ед.), *PpAOS2* (1,8 отн. ед.) и *PpHPL* (3,6 отн. ед.). При этом через 9 часов уровень экспрессии гена *PpAOS2* падал ниже контрольных значений (0,3 отн. ед.) и оставался таким на протяжении 6 дней, тогда как уровни экспрессии генов *PpAOS1* и *PpHPL* оставались высокими – 2,9 и 2,9 отн. ед., соответственно. Таким образом, можно предположить, что образованные гидроперекиси являлись субстратами в основном для ферментов *PpAOS1* и *PpHPL*.

АОС ветвь липоксигеназного каскада не ограничивается только двумя этапами; образованные при участии АОС окиси аллена преобразуются при участии АОЦ в циклопентенон-12-оксо-10,15-фитодиеновую кислоту (ОФДК) (рис. 1). У *P. patens* через 6 часов после инфицирования активировалась экспрессия гена *PpAOC3* (3,7 отн. ед.), тогда как экспрессия гена *PpAOC1* падала ниже контрольных значений (0,3 отн. ед.) и оставалась такой на протяжении 24 часов, возвращаясь к контрольным значениям только через 48 часов после инфицирования. По-видимому, *PpAOC3* функционирует последовательно с *PpAOS1*, тогда как *PpAOC1* – с *PpAOS2*. У цветковых растений ОФДК – продукт каталитического действия АОЦ – выступает в качестве сигнального соединения и регулирует экспрессию защитных генов [Browse, 2009; Ponce de Leon et al., 2015]. У мхов ОФДК может играть аналогичную роль. Более того, ОФДК обладает непосредственно антимикробной активностью в

отношении некоторых патогенов [Prost et al., 2005] и поэтому может способствовать снижению популяции патогенных микроорганизмов в тканях мха.

В ГПЛ ветви образуются оксокислоты и летучие соединения, такие как С6 и С9 альдегиды, обладающие антимикробными свойствами и стимулирующие накопление фитоалексинов, и октенолы (из 12-гидроперекисей), повышающие устойчивость к патогенам, в том числе членистоногим [Kishimoto et al., 2007; Ponce de Leon et al., 2015]. Все летучие соединения участвуют также в индукции экспрессии защитных генов [Ponce de Leon et al., 2015].



**Рис. 2.** Изменение экспрессии генов ферментов липоксигеназного каскада у *P. patens* (протонема) при инфицировании фитопатогеном *P. atrosepticum* SCRI1043 через 6, 9, 24 и 48 часов, а также на 4 и 6 день после воздействия. Вставка, *P. patens* (протонема), инфицированная *P. atrosepticum* SCRI1043: контрольные интактные растения (А), через 48 часов (Б) и на 6-й день (В) после инфицирования.

После инфицирования у *P. patens* активируется защитный ответ, сходный с таковым у цветковых растений, включая накопление активных форм кислорода, утолщение клеточной стенки, локализованную гибель клеток, известную как реакция гиперчувствительности и активацию защитных генов [Ponce de Leon, Montesano, 2013]. В данной работе основные изменения экспрессии генов липоксигеназного каскада наблюдались в первые сутки, тогда как через 48 часов значения уровня экспрессии становились сопоставимыми с контрольными, либо падали. При этом профили экспрессии генов у гаметофоров и протонемы при инфицировании были сходными. О развитии инфекционного процесса у *P. patens* под влиянием *P. atrosepticum* SCRI1043 свидетельствовали не только внешние признаки, сопровождающиеся изменением окраски с зеленой на бурую (рис. 2, вставка) и мацерацией тканей, но и увеличение уровня экспрессии маркерного гена *PR-1*.

Полученные в ходе данной работы результаты согласуются с данными литературы,

полученными с использованием *P. patens*, инфицированного такими патогенами, как *Erwinia carotovora ssp. carotovora* и *Botrytis cinerea*, где методами микроскопии было продемонстрировано, как происходит развитие инфекционного процесса, а также методом РНК-гибридизации показано накопление транскриптов гена липоксигеназы [Ponce de Leon et al., 2007, Oliver et al., 2009], но какой именно – неизвестно. Кроме того, по данным литературы известно, что через 24 часа после инфицирования *P. patens* клетками *B. cinerea* наблюдается увеличение содержания 12-ОФДК [Ponce de Leon et al., 2012]. Таким образом, полученные результаты дополняют общую картину функционирования липоксигеназного каскада у *P. patens* при инфицировании и свидетельствуют в пользу важной роли оксилипинов, образующихся из С18 ПНЖК.

#### ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работы по культивированию мха *P. patens* и *P. atrosepticum* SCRI1043 проводились при финансовой поддержке государственного задания Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук». Работы по изучению динамики экспрессии генов выполнены при финансовой поддержке гранта МК-903.2020.4. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anterola A., Gobel C., Hornung E., et al. *Physcomitrella patens* has lipoxygenases for both eicosanoid and octadecanoid pathways // *Phytochemistry*. 2009. V. 70 (1). P. 40–52.
2. Berthelot C.C., Kamita S.G., Sacchi R., et al. Changes in PTGS1 and ALOX12 gene expression in peripheral blood mononuclear cells are associated with changes in arachidonic acid, oxylipins, and oxylipin/fatty acid ratios in response to omega-3 fatty acid supplementation // *PLoS One*. 2015. V. 10 (12). P. 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144996>
3. Browse J. Jasmonate passes muster: a receptor and targets for the defense hormone // *Annual Review of Plant Biology*. 2009. V. 60. P. 183–205.
4. Datta, S. K., Muthukrishnan, S. (Eds.). *Pathogenesis-related proteins in plants*. CRC press, 1999. 304 p.
5. Griffiths G. Biosynthesis and analysis of plant oxylipins // *Free Radical Research*. 2015. V. 49 (5). P. 565–582. <https://doi.org/10.3109/10715762.2014.1000318>
6. Hamberg M. Pathways in the biosynthesis of oxylipins in plants // *Journal of Lipid Mediators*. 1993 V. 6. P. 375–384.
7. Hamberg M., Ponce de Leon I., Rodriguez M. J., et al.  $\alpha$ -Dioxygenases // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005. V. 338. P. 169–174.
8. Hoffmann M., Hentrich M., Pollmann S. Auxin-oxylipin crosstalk: relationship of antagonists // *Journal of Integrative Plant Biology*. 2011. V. 53 (6). P. 429–445. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2011.01053.x>
9. Kishimoto M., Matsui K., Ozawa R., et al. Volatile 1-octen-3-ol induces a defensive response in *Arabidopsis thaliana* // *Journal of General Plant Pathology*. 2007. V. 73. P. 35–37.
10. Lagarde M., Guichardant M., Bernoud-Hubac N., et al. Oxygenation of polyunsaturated fatty acids and oxidative stress within blood platelets // *Biochimica et Biophysica Acta* –

- Molecular and Cell Biology of Lipids. 2018. V. 1863 (6). P. 651–656. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.03.005>
11. Martinez E., Cosnahan R.K., Wu M., Gadila S.K., et al. Oxylipins mediate cell-to-cell communication in *Pseudomonas aeruginosa* // Communications Biology. 2019. V. 2. P. 1–10. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0310-0>
  12. Mosblech A., Feussner I., Heilmann I. Oxylipins: structurally diverse metabolites from fatty acid oxidation // Plant Physiology and Biochemistry. 2009. V. 47. P. 511–517. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.12.011>
  13. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. V. 15. P. 473–497.
  14. Oliver J.P., Castro A., Gaggero C., et al. *Pythium* infection activates conserved plant defense responses in mosses // Planta. 2009. V. 230 (3). P. 569–579. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-0969-4>
  15. Ponce de Leon I., Oliver J.P., Castro A., et al. *Erwinia carotovora* elicitors and *Botrytis cinerea* activate defense responses in *Physcomitrella patens* // BMC Plant Biology. 2007. V. 7 (52). P. 1–11.
  16. Ponce De Leon I., Schmelz E.A., Gaggero C., et al. *Physcomitrella patens* activates reinforcement of the cell wall, programmed cell death and accumulation of evolutionary conserved defence signals, such as salicylic acid and 12-oxo-phytodienoic acid, but not jasmonic acid, upon *Botrytis cinerea* infection // Molecular Plant Pathology. 2012. V. 13 (8). P. 960–974. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00806.x>
  17. Ponce de Leon I., Montesano M. Activation of defense mechanisms against pathogens in mosses and flowering plants // International Journal of Molecular Sciences. 2013. V. 14 (2). P. 3178–3200. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00366>
  18. Ponce de Len I., Hamberg M., Castresana C. Oxylipins in moss development and defense // Frontiers in Plant Science. 2015. V. 6. P. 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00483>
  19. Proctor M.C., Ligrone R., Duckett J.G. Desiccation tolerance in the moss *Polytrichum formosum*: physiological and fine-structural changes during desiccation and recovery // Annals of Botany. 2007. V. 99 (6). P. 75–93.
  20. Prost I., Dhondt S., Rothe G., et al. Evaluation of the antimicrobial activities of plant oxylipins supports their involvement in defense against pathogens // Plant Physiology. 2005. V. 139 (4). P. 1902–1913.
  21. Rensing S.A., Lang D., Zimmer A.D., et al. The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants // Science. 2008. V. 319 (5859). P. 64–69.
  22. Roads E., Longton R.E., Convey P. Millennial timescale regeneration in a moss from Antarctica. // Current Biology. 2014. V. 24 (6). P. R222–R223. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.01.053>
  23. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual – 2nd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Press, 1989. 1659 p.
  24. Tapiero H., Ba G.N., Couvreur P., et al. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2002. V. 56 (5). P. 215–222.