

УДК 581.1

## **ЭФФЕКТ АНТАГОНИЗМА ПРИ ВЛИЯНИИ ЖАСМОНОВОЙ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТ НА ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТЬ КОЛЕОПТИЛЕЙ ПШЕНИЦЫ И КОМПОНЕНТЫ ИХ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ**

**© 2013 г. А. А. Луговая, Ю. Е. Колупаев,  
А. И. Обозный, Ю. В. Карпец**

*Харьковский национальный аграрный университет им. В. В. Докучаева  
(Харьков, Украина)*

Исследовали раздельное и совместное влияние 1 мкМ растворов жасмоновой (ЖАК) и салициловой (СК) кислот на образование супероксидного анион-радикала, активность пероксидазы, супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в колеоптилях пшеницы и их теплоустойчивость. Обе кислоты при раздельной обработке вызывали увеличение процента выживания колеоптилей после повреждающего прогрева, в то время как при совместном применении положительное влияние ЖАК и СК практически полностью нивелировалось. Уже через 15 мин после начала обработки ЖАК наблюдалось усиление генерации супероксидного анион-радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ) колеоптилями пшеницы, которое затем постепенно снижалось. Под влиянием СК максимальное увеличение продукции  $O_2^{\cdot-}$  отмечалось через 2 ч после начала обработки. При совместном действии на колеоптили ЖАК и СК наблюдалась тенденция к снижению образования супероксида. При раздельном применении под влиянием ЖАК и СК происходило незначительное повышение активности общей и существенное апопластной пероксидазы, а при совместном – такой эффект не проявлялся. Через 2 и 24 ч после начала обработки колеоптилей ЖАК или СК в них повышалась активность СОД и каталазы, в то же время при обработке смесью ЖАК и СК активность СОД не изменялась, а активность каталазы снижалась. Обсуждаются возможные причины антагонизма при влиянии экзогенных ЖАК и СК на теплоустойчивость колеоптилей и ферменты, участвующие в превращении активных форм кислорода.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum L., жасмоновая кислота, салициловая кислота, антагонизм, активные формы кислорода, антиоксидантные ферменты, теплоустойчивость*

Жасмоновая (ЖАК) и салициловая (СК) кислоты относятся к стрессовым гормонам растений. Зарегистрированы эффекты увеличения содержания обоих фитогормонов при действии на растения биотических и абиотических стрессоров (Malamy et al., 1990; Dat et al., 1998; Yoshikawa et al., 2007; Hyun, Lee, 2008; Clarke et al., 2009). Показано повышение устойчивости растений ко многим стрессорам различной природы под влиянием экзогенных ЖАК

(Clarke et al., 2009; Karamat et al., 2009; Liu et al., 2012) и СК (Dat et al., 1998; Xu et al., 2007).

При совместном действии СК и ЖАК на растительные клетки возможен как синергизм, так и антагонизм эффектов. Так, антагонистические отношения между СК и жасмонатом продемонстрированы при изучении экспрессии жасмонатчувствительных генов *PDF 1.2* и *VSP2* у растений арабидопсиса (Koornneef et al., 2008). Обработка растений СК подавляла экспрессию названных генов, вызываемую действием экзогенного метилжасмоната. С другой стороны, выявлен синергизм в действии СК и ЖАК при активации транскрипт-фактора *WRKY62* у дикого типа растений арабидопсиса *Columbia-0* (Mao et al., 2007). На этих же расте-

---

*Адрес для корреспонденции:* Колупаев Юрий Евгеньевич, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В.Докучаева, п/о «Коммунист-1», Харьков, 62483, Украина;  
e-mail: plant\_biology@mail.ru

## ЭФФЕКТ АНТАГОНИЗМА ПРИ ВЛИЯНИИ

ниях показано, что ЖАК в низких концентрациях усиливала вызванную СК транскрипцию гена, кодирующего белок PR1, в то время как СК, также в низких концентрациях, повышала вызванную ЖАК экспрессию гена *PDF 1.2* (Mur et al., 2006). В исследованиях, проведенных на растениях табака и арабидопсиса, показано, что ЖАК и СК, применяемые в высоких концентрациях, проявляют эффект синергизма при индуцировании программированной клеточной гибели. Данный эффект был связан с накоплением большого количества пероксида водорода в клетках и устранялся введением каталазы (Mur et al., 2006).

Экзогенные СК и ЖАК в физиологических концентрациях (1 и 0,1 мкМ соответственно) проявляли эффект синергизма при индуцировании устойчивости пробирочных растений картофеля к возбудителю фитофтороза (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) (Максимов и др., 2011). При этом СК и ЖАК проявляли синергизм в реакциях накопления пероксида водорода, подавления активности каталазы и повышения активности пероксидазы.

При действии СК в высокой концентрации (1 мМ) на проростки сои отмечалось подавление активности каталазы, в то же время 100 мкМ ЖАК повышала активность этого фермента, при совместном действии кислот наблюдалась взаимная нейтрализация эффектов. С другой стороны, обе кислоты по отдельности повышали активность СОД, а при их совместном применении отмечался синергизм в отношении активации этого фермента (Калачева и др., 2012). Таким образом, как синергетические, так и антагонистические взаимоотношения СК и ЖАК могут быть связаны с их влиянием на про-/антиоксидантное равновесие в растительных клетках (Mur et al., 2006; Максимов и др., 2011).

В целом совместное физиологическое действие ЖАК и СК на растения, в особенности на однодольные, остается малоизученным. Практически не исследовано влияние комбинаций ЖАК и СК на устойчивость растений к абиотическим стрессорам. В то же время композиции этих кислот считаются перспективными для индуцирования устойчивости растений к патогенам (Максимов и др., 2011).

В связи с изложенным, целью работы явилось сравнительное изучение влияния СК и ЖАК, а также их комбинации на генерацию супероксидного анион-радикала колеоптилями пшеницы и активность ферментов, участвую-

щих в превращении АФК. Кроме того, исследовали влияние указанных кислот и их смеси на устойчивость колеоптилей пшеницы к повреждающему прогреву.

## МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования использовали отрезки колеоптилей пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия, которые отделяли от 4-суточных этиолированных проростков, выращенных при температуре 20°C. Исследованиями, проведенными ранее, была показана чувствительность этого модельного объекта к действию экзогенных ЖАК и СК (Колупаев и др., 2012; Карпец и др., 2013).

Отрезки колеоптилей инкубировали на простерилизованном 2% растворе сахарозы с добавлением пенициллина (Na-соль, 100000 ед.) (контроль). В соответствующих вариантах в среду инкубации колеоптилей добавляли ЖАК, СК или их комбинацию в конечной концентрации 1 мкМ. Концентрации кислот и время экспозиции, оказывающие максимальное положительное влияние на теплоустойчивость колеоптилей пшеницы, выбирали в специальных опытах. ЖАК предварительно растворяли в небольшом объеме этанола, а СК в небольшом объеме воды при нагревании. В вариантах без ЖАК в инкубационную среду вносили эквивалентное количество этанола.

После 24 ч инкубации колеоптилей на растворах исследуемых соединений часть отрезков каждого варианта подвергали потенциально летальному прогреву в водяном ультратермостате в стерильной дистиллированной воде при температуре  $43 \pm 0,1^\circ\text{C}$  в течение 10 мин. Затем колеоптили помещали в чашки Петри с простерилизованным 2% раствором сахарозы с добавлением пенициллина. Через 2 сут после прогрева оценивали их повреждения по появлению специфического оттенка и потере тургора.

В определенные временные отрезки анализировали интенсивность генерации колеоптилями супероксидного анион-радикала, активность пероксидазы, СОД и каталазы.

Продукцию супероксидных анион-радикалов интактными колеоптилями определяли по восстановлению нитросинего тетразолия (НСТ) по методике, подробно описанной ранее (Колупаев и др., 2013). Для проверки специфичности генерации  $\text{O}_2^{\cdot-}$  в специальных опытах в пробы добавляли СОД (50 ед./мл). СОД ингибировала генерацию супероксидного

анион-радикала не менее, чем на 90%. При этом полагали, что количество восстановленного НСТ определяется генерацией  $O_2^{\cdot-}$ . Супероксид-продуцирующую активность оценивали как изменение светопоглощения  $A_{530}$  реакционной смеси за 1 ч инкубации в расчете на один отрезок. За 100% принимали величину в контрольном варианте в первой временной точке наблюдений.

При определении активности внеклеточной пероксидазы (КФ 1.11.1.7) по 15 отрезков помещали в пробирки с 5 мл 0,06 М К,Na-фосфатного буфера (рН 6,2) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ), дитиотреитола (1 мМ), фенолметилсульфонилфторида (0,5 мМ) Тритона X-100 (0,1%) для 30-минутного встряхивания на шейкере-качалке (120 об./мин) (Колупаев и др., 2012). В качестве субстрата использовали 0,15%  $H_2O_2$ , а в качестве восстановителя – 0,7% гваякол. Оптическую плотность продукта его окисления определяли при 470 нм ( $E = 26,6 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ) (Ridge, Osborne, 1970).

Для анализа суммарной активности пероксидазы отрезки колеоптилей при температуре не выше 4°C гомогенизировали в 0,06 М К,Na-фосфатного буфера (рН 6,2), содержащего 0,5 М NaCl.

Для определения активности супероксиддисмутазы (СОД) (КФ 1.15.1.1) и каталазы (КФ 1.11.1.6) навеску растительного материала гомогенизировали при температуре 2-4°C в 0,15 М К,Na-фосфатном буфере (рН 7,6) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ), дитиотреитола (1 мМ), фенолметилсульфонилфторида (0,5 мМ) и детергента Тритона X-100 (конечная концентра-

ция 0,1%). Для анализа использовали супернатант после центрифугирования гомогената при 8000 g в течение 10 мин при 4°C.

Активность СОД определяли при рН 7,6, используя метод, основанный на способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметасульфата (Колупаев и др., 2012). Оптическую плотность определяли при 540 нм.

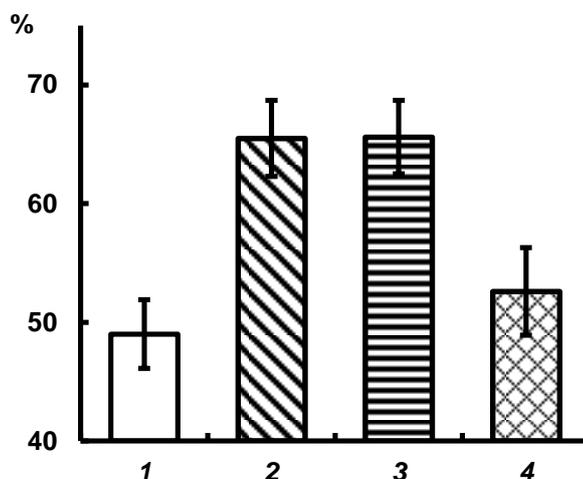
Активность каталазы определяли при рН реакционной смеси 7,2 по количеству разложившегося пероксида водорода за единицу времени (Колупаев и др., 2012).

Каждый опыт проводили в трехкратной биологической повторности и воспроизводили независимо не менее 2-3 раз. На рисунках приведены средние значения и их стандартные отклонения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

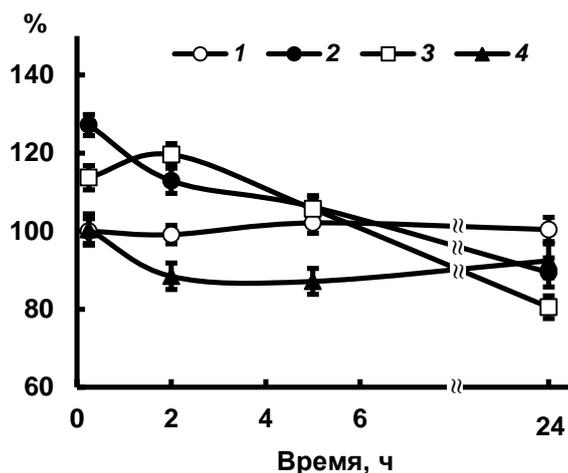
24-часовая обработка колеоптилей 1 мкМ растворами ЖАК и СК практически в одинаковой степени повышала выживание колеоптилей после повреждающего прогрева (рис. 1). В то же время после обработки смесью двух кислот теплоустойчивость колеоптилей почти не отличалась от контроля, наблюдался эффект антагонизма ЖАК и СК.

Под влиянием ЖАК уже через 15 мин происходило усиление генерации супероксидного анион-радикала колеоптилями пшеницы, затем этот эффект уменьшался, а через 24 ч



**Рис. 1. Выживание (%) колеоптилей пшеницы после повреждающего прогрева (43°C, 10 мин). Здесь и на рис. 2-4: 1 – контроль; 2 – ЖАК (1 мкМ); 3 – СК (1 мкМ); 4 – ЖАК (1 мкМ) + СК (1 мкМ).**

## ЭФФЕКТ АНТАГОНИЗМА ПРИ ВЛИЯНИИ



**Рис. 2.** Генерация супероксидного анион радикала колеоптилями пшеницы (% от контроля в первой временной точке наблюдений). Обозначения как на рис. 1.

продукция АФК в этом варианте была немного ниже, чем в контроле (рис. 2). СК также вызывала небольшое, но достоверное при  $p \leq 0,05$  усиление генерации  $O_2^{\cdot-}$  колеоптилями пшеницы, максимум которого отмечался через 2 ч после начала обработки, а к 24 ч, как и в случае с обработкой ЖАК, наблюдалось снижение образования супероксидного анион-радикала. Иным был эффект при одновременной обработке колеоптилей ЖАК и СК. Уже через 2 ч после начала обработки смесью кислот генерация супероксидного анион-радикала снижалась и такой эффект отмечался в течение всего периода наблюдений.

Ранее нами было показано частичное снятие вызываемого ЖАК и СК усиления образования  $O_2^{\cdot-}$  при обработке колеоптилей ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом (Колупаев и др., 2012; Карпец и др., 2013). В связи этим можно полагать, что одним из ферментативных источников АФК, активируемых как ЖАК, так и СК, является НАДФН-оксидаза. В то же время в образовании супероксидного анион-радикала может принимать участие и пероксидаза (Minibaeva et al., 2001). Как известно, в зависимости от содержания восстановителей и других условий, этот фермент может и обезвреживать, и генерировать АФК (Foyer, Noctor, 2009). В связи с этим исследовали влияние ЖАК, СК и их комбинации на активность пероксидазы.

Общая активность пероксидазы в контрольном варианте увеличивалась через 24 ч наблюдений (рис. 3, А), что согласуется результатами, полученными ранее, и может быть обусловлено возрастными изменениями в тканях

колеоптилей пшеницы (Колупаев и др., 2012). Через 2 и 5 ч после начала воздействия на колеоптиль ЖАК или СК активность фермента в них была немного выше, чем в контроле. В варианте с совместным действием ЖАК и СК величины общей активности пероксидазы достоверно не отличались от контроля (рис. 3, А).

Более заметным было влияние ЖАК и СК на активность апопластной пероксидазы, которая увеличивалась уже через 15 мин после начала воздействия обеих кислот (рис. 3, Б). При этом активирующее влияние ЖАК на апопластную пероксидазу было транзиторным, оно уменьшалось уже через 2 ч от начала эксперимента. В то же время активирующее действие СК на апопластную пероксидазу в той или иной степени проявлялось на всех фазах наблюдений. В варианте с совместным действием ЖАК и СК через 15 мин и 2 ч от начала эксперимента активность внеклеточной пероксидазы была значительно ниже, чем в вариантах с действием этих кислот по отдельности. На более поздних стадиях наблюдений активность фермента в варианте с обработкой колеоптилей смесью кислот несколько превышала значения контроля (рис. 3, Б).

Таким образом, во влиянии ЖАК и СК на активность апопластной пероксидазы, как и на генерацию супероксидного анион-радикала, в наших экспериментах отмечался эффект антагонизма. Заметим, что в литературе есть указания на участие пероксидазы в образовании АФК, индуцируемом действием ЖАК (Hung et al., 2006) и СК (Колупаев и др., 2012). Показано существенное повышение активности слабо связанной с плазматической мембраной перок-

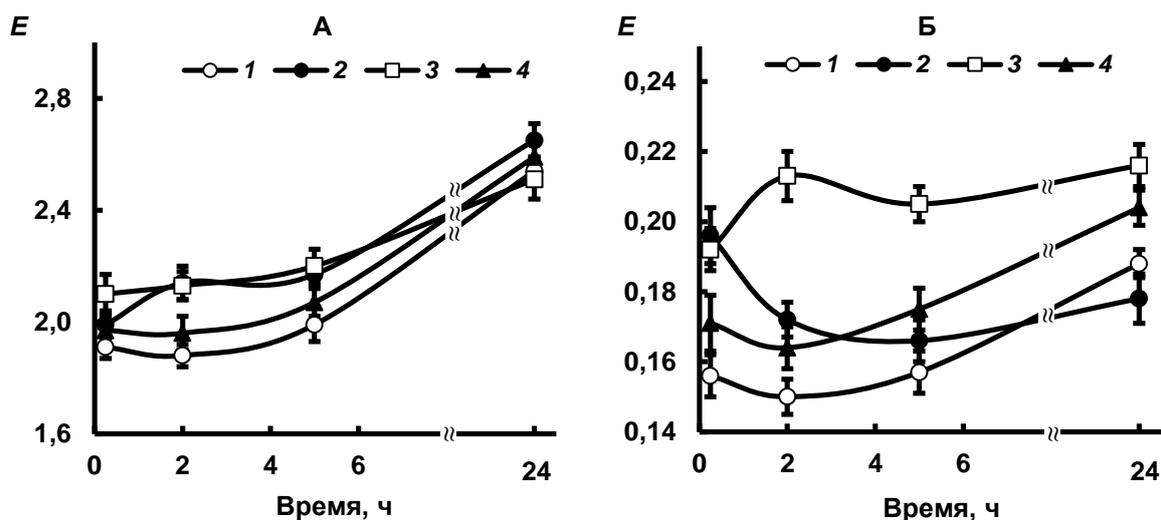


Рис. 3. Общая активность пероксидазы ( $E$ , усл. ед./г сухого вещества · мин) (А) и активность апопластной пероксидазы ( $E$ , усл. ед. · 10<sup>-3</sup>/(колеоптиль · мин)) (Б) колеоптилей пшеницы. Обозначения как на рис. 1.

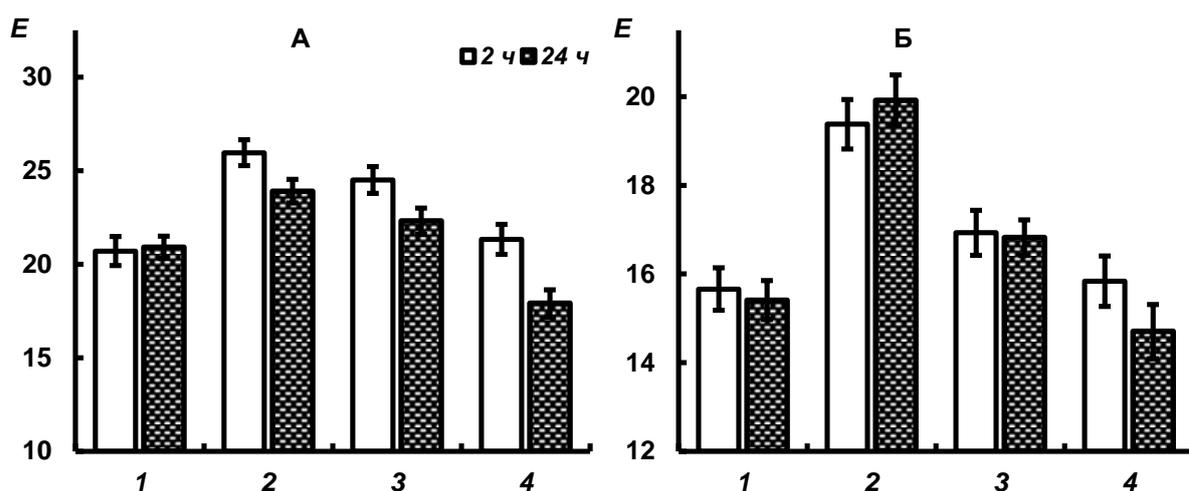


Рис. 4. Активность СОД ( $E$ , усл. ед./г сухого вещества · мин) (А) и каталазы ( $E$ , ммоль H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/(г сухого вещества · мин)) (Б) колеоптилей пшеницы. Обозначения как на рис. 1.

сидазы в корнях проростков кукурузы при действии метилжасмоната или СК и незначительное влияние этих кислот на общую активность пероксидазы (Mika et al., 2010). Возможно, что апопластные формы пероксидазы, наряду с НАДФН-оксидазой (Карпец и др., 2013), являются ферментативными системами, активируемыми ЖАК и СК, и генерирующими супероксид. При этом во влиянии ЖАК и СК на генерацию O<sub>2</sub><sup>-</sup> и активность внеклеточной пероксидазы в колеоптилях пшеницы наблюдался антагонизм.

Ранее нами была показана способность ЖАК и СК, действующих по отдельности, по-

вышать активность антиоксидантных ферментов в колеоптилях пшеницы (Колупаев и др., 2012; Карпец и др., 2013). В настоящей работе установлено повышение активности СОД под влиянием как ЖАК, так и СК через 2 ч после начала обработки (рис. 4, А). Этот эффект сохранялся и через 24 ч эксперимента. В то же время при комбинированном действии кислот через 2 ч от начала обработки активность СОД не отличалась от контроля, а через 24 ч была даже ниже, чем в контрольном варианте (рис. 4, А).

Под влиянием ЖАК заметно повышалась активность каталазы, активирующее действие

## ЭФФЕКТ АНТАГОНИЗМА ПРИ ВЛИЯНИИ

СК было на уровне тенденции (достоверно при  $p \leq 0,1$ ) (рис. 4, Б). В то же время при комбинированной обработке ЖАК и СК активность каталазы в колеоптилях не отличалась от контроля. Такие результаты согласуются с данными, полученными методами транскриптомики и протеомики, на растениях арабидопсиса (Proietti et al., 2013). ЖАК вызывала усиление экспрессии генов, кодирующих две молекулярные формы каталазы. В то же время эффект СК был менее выраженным, а при совместном действии ЖАК и СК экспрессия одного из генов каталазы уменьшалась.

Таким образом, при действии 1 мкМ растворов ЖАК и СК отмечался антагонизм их эффектов на все изученные показатели: теплоустойчивость колеоптилей, генерацию супероксидного анион-радикала, активность пероксидазы, СОД и каталазы.

Как уже отмечалось, в литературе имеются данные как об антагонизме, так и о синергизме действия ЖАК и СК. Так, при действии на инфицированные растения арабидопсиса СК индуцировала системную устойчивость против биотрофов, а ЖАК против некротрофов, однако в комбинации СК и ЖАК подавляли физиологическую активность друг друга, вызывая вместо защитного ответа развитие восприимчивости (Koornneef et al., 2008). С другой стороны, на растениях картофеля показано, что при совместном применении защитный эффект ЖАК и СК против *Phytophthora infestans* – патогена со смешанным типом трофности – усиливался (Максимов и др., 2011).

Вероятно, характер действия смеси экзогенных ЖАК и СК на устойчивость к стрессорам зависит от природы стрессовых воздействий, видовых физиолого-биохимических особенностей растений, в частности, эндогенного содержания в них указанных фитогормонов.

В нашем случае, по крайней мере, одной из причин антагонизма эффектов ЖАК и СК может быть конкуренция за гипотетические мишени, от взаимодействия кислот с которыми зависит формирование АФК-сигнала. Ранее на колеоптилях пшеницы было показано нивелирование физиологических эффектов экзогенных ЖАК (Карпец и др., 2013) и СК (Колупаев и др., 2012) предобработкой антиоксидантом ионоломом, что свидетельствует о роли усиления генерации АФК в трансдукции сигналов этих кислот в генетический аппарат клеток. Ферментами, задействованными в усилении генерации АФК под влиянием ЖАК и СК, могут быть

НАДФН-оксидаза и пероксидаза (Колупаев и др., 2012; Карпец и др., 2013). Не исключено, что экзогенные ЖАК и СК в низких (близких к физиологическим) концентрациях прямо или опосредованно конкурируют при взаимодействии с этими мишенями, вследствие чего не формируется АФК-сигнал соответствующей силы. Примечательно, что активность НАДФН-оксидазы может регулироваться фосфатидной кислотой, образующейся вследствие активации ЖАК или СК фосфолипазы D (Altuzar-Molina et al., 2011; Калачева и др., 2012). Возможно, что ЖАК и СК конкурируют при взаимодействии с этим ферментом, вследствие чего передача их АФК-зависимых и АФК-независимых сигналов нарушается. Естественно, это лишь одно из многих возможных пояснений феномена антагонизма действия ЖАК и СК. Поскольку обе кислоты вызывали повышение активности апопластной пероксидазы в растениях (Mika et al., 2010; Колупаев и др., 2012, см. также рис. 3), не исключено, что и этот фермент как-то вовлечен в процессы взаимодействия ЖАК и СК.

С другой стороны, сложное сигнальное взаимодействие ЖАК и СК основано не только и, возможно, не столько на их влиянии на изученные нами ферментные системы. К настоящему времени установлено, что во взаимодействии ЖАК и СК принимает участие целый ряд белков-регуляторов: МАП-киназы (МПК-4), тиоредоксины, NPR1, транскрипт-факторы WRKY и пр. (Pieterse et al., 2012). Это взаимодействие во многом определяет спектр генов, экспрессия которых изменятся под влиянием указанных фитогормонов. Однако этот вопрос выходит за рамки обсуждаемого экспериментального материала.

*Авторы благодарны к.б.н., доценту С.Н. Шамраю за прочтение рукописи статьи, критические замечания и ценные рекомендации.*

## ЛИТЕРАТУРА

- Калачева Т.А., Яковенко О.Н., Кретинин С.В., Кравец В.С. Действие салициловой и жасмоновой кислот на активность фосфолипазы D и уровень активных форм кислорода в проростках сои // Биологические мембраны. – 2012. – Т. 29, № 3. – С. 169-176.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И., Швиденко Н.В., Луговая А.А., Вайнер А.А. Активные формы кислорода и ионы Са как возможные посредники при индуцировании теплоустойчивости растительных клеток жасмоновой кислотой // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 3. – С. 62-68.

- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Швиденко Н.В., Карнец Ю.В. Индукция теплоустойчивости колеоптилей пшеницы салициловой и янтарной кислотами: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Прикл. биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 5. – С. 550-556.
- Колупаев Ю.Е., Карнец Ю.В., Ястреб Т.О. Колеоптиль пшеницы как модельный объект для исследования стресс-протекторного действия экзогенных соединений // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2013. – Вип. 1 (28). – С. 103-108.
- Максимов И.В., Сорокань А.В., Черепанова Е.А., Сурнина О.Б., Трошина Н.Б., Яруллина Л.Г. Влияние салициловой и жасмоновой кислот на компоненты про-/антиоксидантной системы в растениях картофеля при фитофторозе // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 243-251.
- Altúzar-Molina A.R., Muñoz-Sánchez J.A., Vázquez-Flota F., Monforte-González M., Racagni-Di Palma G., Hernández-Sotomayor S.M.T. Phospholipidic signaling and vanillin production in response to salicylic acid and methyl jasmonate in *Capsicum chinense* J. cells // Plant Physiol. Biochem. – 2011. – V. 49, № 2. – P. 151-158.
- Clarke S.M., Cristescu S.M., Miersch O., Harren F.J.M., Wasternack C., Mur L.A.J. Jasmonates act with salicylic acid to confer basal thermotolerance in *Arabidopsis thaliana* // New Phytologist. – 2009. – V. 182. – P. 175-187.
- Dat J.F., Lopez-Delgado H.L., Foyer C.H., Scott I.M. Parallel changes in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings // Plant Physiol. – 1998. – V. 116. – P. 1351-1357.
- Foyer C.H., Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications // Antioxid. Redox Signal. – 2009. – V. 11. – P. 861-906.
- Hung K.T., Hsu Y.T., Kao C.H. Hydrogen peroxide is involved in methyl jasmonate-induced senescence of rice leaves // Physiol. Plant. – 2006. – V. 127. – P. 293-303.
- Hyun Y., Lee I. Generating and maintaining jasmonic acid in *Arabidopsis* // Plant Signal. Behav. – 2008. – V. 3. – P. 798-800.
- Keramat B., Kalantari K.M., Arvin M.J. Effects of methyl jasmonate in regulating cadmium induced oxidative stress in soybean plant (*Glycine max* L.) // Afr. J. Microbiol. Res. – 2009. – V. 3, № 5. – P. 240-244.
- Koorneef A., Verhage A., Leon-Reyes A., Sneltselaar R., van Loon L.C., Pieterse C.M.J. Towards a reporter system to identify regulators of cross-talk between salicylate and jasmonate signaling pathways in *Arabidopsis* // Plant Signal. Behav. 2008. V. 3. P. 543-546.
- Liu X., Chi H., Yue M., Zhang X., Li W., Jia E. The regulation of exogenous jasmonic acid on UV-B stress tolerance in wheat // Plant Growth Regul. – 2012. – V. 31, № 3. – P. 436-447.
- Malamy J., Carr J.P., Klessig D.F., Raskin I. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of Tobacco to viral infection // Science. – 1990. – V. 250, № 4983. – P. 1002-1004.
- Mao P., Duan M., Wei C., Li Y. WRKY62 transcription factor acts downstream of cytosolic NPR1 and negatively regulates jasmonate-responsive gene expression // Plant Cell Physiol. – 2007. – V. 48. – P. 833-842.
- Mika A., Boenisch M.J., Hopff D., Lüthje S. Membrane-bound guaiacol peroxidases from maize (*Zea mays* L.) roots are regulated by methyl jasmonate, salicylic acid, and pathogen elicitors // J. Exp. Bot. – 2010. – V. 61. – P. 831-841.
- Minibayeva F.V., Gordon L.K., Kolesnikov O.P., Chasov A.V. Role of extracellular peroxidase in the superoxide production by wheat root cells // Protoplasma. – 2001. – V. 217. – P. 125-128.
- Mur L.A.J., Kenton P., Atzorn R., Miersch O., Wasternack C. The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death // Plant Physiol. – 2006. – V. 140. – P. 249-262.
- Pieterse C.M.J., Does D.V., Zamioudis C., Leon-Reyes A., Van Wees S.C.M. Hormonal Modulation of Plant Immunity // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. – 2012. – V. 28. P. 28.1-28.33.
- Proietti S., Bertini L., Timperio A.M., Zolla Lello, Caporale C., Caruso C. Crosstalk between salicylic acid and jasmonate in *Arabidopsis* investigated by an integrated proteomic and transcriptomic approach // Mol. Biosyst. – 2013. V. 9. – P. 1169-1187.
- Ridge I., Osborne D.J. Hydroxyproline and peroxidases in cell walls of *Pisum sativum*: Regulation by ethylene // J. Exp. Bot. – 1970. – V. 21. – P. 843-856.
- Xu Y.Z., Zeng X.C., Yu J.H., Xie J.-M., Zhang G.-B. The variation of chlorophyll fluorescence parameters of cucumber seedlings leaves with salicylic acid treatment under high temperature stress // Acta Bot. Boreali-Occident. Sin. – 2007. – V. 27. – P. 267-271.
- Yoshikawa H., Honda C., Kondo S. Effect of low-temperature stress on abscisic acid, jasmonates, and polyamines in apples // Plant Growth Regul. – 2007. – V. 52. – P. 199-206.

Поступила в редакцию  
14.05.2013 г.

**EFFECT OF ANTAGONISM AT INFLUENCE OF JASMONIC AND SALICYLIC ACIDS ON HEAT RESISTANCE OF COLEOPTILES OF WHEAT AND COMPONENTS OF THEIR PRO-/ANTIOXIDATIVE SYSTEM**

G. A. Lugova, Yu. E. Kolupaev, O. I. Oboznyi, Yu. V. Karpets

*V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University  
(Kharkiv, Ukraine)*

The separate and combined influence of 1  $\mu\text{M}$  solutions of jasmonic (JA) and salicylic (SA) acids on the formation of superoxide anion-radical, the activity of peroxidase, superoxide dismutase (SOD) and catalase in wheat coleoptiles and their heat resistance has been investigated. Both acids at separate treatment caused the increase of percent of coleoptiles survival after the damaging heating while at the coapplication the positive effect of JA and SA was almost completely levelled. Already within 15 minutes after the beginning of treatment with JA the intensifying of generation of superoxide anion-radical ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) by wheat coleoptiles was observed, which latter gradually decreased. Under the influence of SA the maximum increase of  $\text{O}_2^{\cdot-}$  production was registered within 2 hours after the treatment beginning. At the combined JA and SA action on coleoptiles the tendency to decrease of formation of superoxide was observed. At the separate application of JA and SA the slight increase of general peroxidase activity and the essential increase of apoplastic peroxidase activity occurred, and at the combined – such effect was not developed. Within 2 and 24 hours after the beginning of treatment of coleoptiles with JA or SA the activity of SOD and catalase increased in them, at the same time at the combined treatment with JA and SA the activity of SOD did not change, and the catalase activity decreased. The possible reasons of antagonism at the influence of exogenous JA and SA on the heat resistance of coleoptiles and the activity of enzymes, which participate in the transformation of reactive oxygen species, are discussed.

**Key words:** *Triticum aestivum L., jasmonic acid, salicylic acid, antagonism, reactive oxygen species, antioxidant enzymes, heat resistance*

**ЕФЕКТ АНТАГОНІЗМУ ПРИ ВПЛИВІ ЖАСМОНОВОЇ І САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТ НА ТЕПЛОСТІЙКІСТЬ КОЛЕОПТИЛІВ ПШЕНИЦІ І КОМПОНЕНТИ ЇХ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ**

Г. А. Лугова, Ю. Є. Колупаєв, О. І. Обозний, Ю. В. Карпець

*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва  
(Харків, Україна)*

Досліджували роздільний і спільний вплив 1 мкМ розчинів жасмонової (ЖАК) і саліцилової (СК) кислот на утворення супероксидного аніон-радикала, активність пероксидази, супероксиддисмутази (СОД) і каталази в колеоптилях пшениці та їх теплостійкість. Обидві кислоти при роздільній обробці викликали збільшення відсотка виживаності колеоптилів після ушкоджуючого прогрівання, тоді як при сумісному використанні позитивний вплив ЖАК і СК практично повністю нівелювався. Під впливом СК максимальне збільшення продукції  $\text{O}_2^{\cdot-}$  відзначалося через 2 год після початку обробки. При комбінованій дії на колеоптилі ЖАК і СК спостерігалася тенденція до зниження утворення супероксиду. При роздільному використанні під впливом ЖАК і СК відбувалося незначне підвищення активності загальної й істотно апопластної пероксидази, а при сумісному – такий ефект не виявлявся. Через 2 і 24 год після початку обробки колеоптилів ЖАК або СК в них підвищувалася активність СОД і каталази, в той же час при обробці сумішшю ЖАК і СК активність СОД не змінювалася, а активність каталази знижувалася. Обговорюються можливі причини антагонізму при впливі екзогенних ЖАК і СК на теплостійкість колеоптилів і ферменти, що беруть участь в перетворенні активних форм кисню.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum L., жасмонова кислота, саліцилова кислота, антагонізм, активні форми кисню, антиоксидантні ферменти, теплостійкість*