

УДК 581.13:577.15

## УЧАСТИЕ ПЕРОКСИДАЗЫ И СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В УСИЛЕНИИ ГЕНЕРАЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА КОЛЕОПТИЛЯМИ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Ю.Е. КОЛУПАЕВ,<sup>1</sup> Ю.В. КАРПЕЦ,<sup>1</sup> Т.О. ЯСТРЕБ,<sup>1</sup> Л.И. МУСАТЕНКО<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева  
62483 Харьков, п/о «Коммунист-1»

<sup>2</sup>Институт ботаники им. Н.Г. Холодного Национальной академии наук Украины  
01601 Киев, ул. Терещенковская, 2

Изучали влияние экзогенной салициловой кислоты (СК — 10 мкМ) на интенсивность генерации активных форм кислорода отрезками coleoptилей пшеницы и зависимость эффектов СК от функционирования системы биосинтеза белка, состояния кальциевых каналов. Обработка СК вызывала увеличение активности пероксидазы и супероксиддисмутазы, повышение содержания пероксидов, усиление генерации супероксидных радикал-анионов. Изменения активности исследуемых ферментов в значительной степени нивелировались предварительной обработкой coleoptилей ингибитором биосинтеза белка циклогексимидом и блокатором кальциевых каналов верапамилем.

*Ключевые слова:* *Triticum aestivum* L., салициловая кислота, супероксиддисмутаза, пероксидаза, активные формы кислорода, кальций.

Салициловую кислоту (СК) ныне рассматривают как один из «стрессовых» фитогормонов [22]. Ее эффекты связывают прежде всего со способностью вызывать «окислительный стресс» — увеличение в растительных клетках количества активных форм кислорода (АФК), в частности, супероксидных радикал-анионов [1] и более стабильной АФК — пероксида водорода [19]. Полагают, что происходящее с участием СК усиление генерации АФК может индуцировать устойчивость растений к биотическим [24] и абиотическим [1, 12] стрессорам.

Как одну из основных причин накопления пероксида водорода в растительных тканях под влиянием СК рассматривают ингибирование каталазы [9]. В то же время для многих видов растений характерно лишь незначительное угнетение этого фермента СК в физиологических концентрациях [19]. Снижение активности каталазы — не единственная возможная причина повышения содержания пероксида водорода в растительных тканях. Такой эффект, в частности, может быть следствием увеличения активности супероксиддисмутазы (СОД). Данный фермент, катализирующий превращение супероксидного радикала в пероксид водорода, может способствовать накоплению последнего, особенно на фоне ингибирования каталазы. На примере проростков арабидопсиса [19] и пшеницы [3] показана возможность повышения активности СОД под действием миллимолярных концентраций экзогенной СК. Значительное повышение активности СОД и одновременное увеличение содержания

пероксидов зарегистрировано нами при действии физиологических концентраций СК (10 мкМ) на отрезки колеоптилей пшеницы [2].

Влияние СК на генерацию супероксидных радикал-анионов может быть связано с увеличением активности НАДФН-оксидазы [10] и форм пероксидазы, причастных к образованию АФК (в частности, внеклеточной пероксидазы) [14]. В то же время на некоторых объектах зарегистрировано снижение активности пероксидазы под влиянием экзогенной СК [4].

Несмотря на значительный интерес к СК как к одному из модификаторов окислительно-антиокислительного равновесия в растительных клетках, сведения о влиянии ее на активность пероксидазы и СОД весьма противоречивы [3, 4, 19]. При этом открытым остается вопрос о роли процесса биосинтеза белка и кальция как внутриклеточного посредника в изменении активности упомянутых ферментов под влиянием СК.

В связи с изложенным задачей настоящей работы было изучение влияния экзогенной СК на активность пероксидазы и СОД колеоптилей пшеницы и генерацию ими АФК. С использованием ингибиторного анализа оценивали зависимость данных эффектов от биосинтеза белка и состояния кальциевых каналов клеток.

### Методика

Эксперименты проводили с отрезками колеоптилей 4-суточных этиолированных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Донецкая 48), которые являются моделью, чувствительной к действию экзогенной СК [2]. Подготовку растительного материала проводили, как описано ранее [2].

Колеоптили выдерживали 14–18 ч в 2 %-м растворе сахарозы. После этого в течение 2 ч отрезки обрабатывали 10 мкМ СК, добавляя ее в основную среду инкубации колеоптилей. Для изучения влияния ингибитора биосинтеза белка циклогексимида (ЦГ — 4 мкМ) на проявление эффектов СК ингибитор вводили в среду инкубации колеоптилей за 4 ч до внесения СК. Блокатор кальциевых каналов верапамил (250 мкМ) в соответствующих сериях опытов добавляли за 2 ч до начала действия СК. В отдельной серии экспериментов для оценки причастности внеклеточной пероксидазы к генерации супероксидного радикала колеоптили за 2 ч до начала действия СК обрабатывали ингибитором пероксидазы — салицилгидроксамовой кислотой (СГК — 1 мМ). Концентрации исследуемых соединений и время обработки ими колеоптилей были выбраны на основании результатов предварительных опытов. ЦГ, верапамил и СГК при используемом способе обработки не вызывали проявления внешних токсических эффектов (не влияли на дальнейшую жизнеспособность колеоптилей).

После окончания времени обработки отрезков соответствующими соединениями проводили биохимические анализы.

Общую активность пероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли по методу Риджа и Осборна [20]. Фермент экстрагировали 0,1 М фосфатным буфером (рН 6,2) с добавлением 0,5 М NaCl. В качестве субстрата использовали пероксид водорода, в качестве донора водорода — гваякол.

Активность внеклеточной пероксидазы [6] определяли после встряхивания в течение 1 ч на шейкере (120 об/мин) 15 отрезков колеоптилей в пробирках с 5 мл фосфатного буфера (рН 6,2) и добавлением 0,1 % тритона X-100.

Общую активность СОД (КФ 1.15.1.1) измеряли, как описано ранее [2], используя метод, основанный на способности фермента конкури-

ровать с нитротетразолием синим за супероксидные радикал-анионы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназин-метасульфата.

Генерацию супероксидных радикал-анионов интактными отрезками колеоптилей во внешний раствор оценивали по восстановлению нитротетразолия синего [7]. По 15 колеоптилей помещали в пробирки с 5 мл 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,6), содержащего 0,05 % нитротетразолия синего, 10 мкМ ЭДТА, 0,1 % тритона X-100. Пробы инкубировали на шейкере (120 об/мин) в течение 1 ч, после чего определяли оптическую плотность инкубационного раствора при длине волны 530 нм. Для проверки специфичности генерации  $O_2^{\bullet-}$  в специальных опытах в пробы добавляли СОД (50 ед./мл). СОД ингибировала генерацию супероксидных радикал-анионов не менее чем на 90 %. В связи с этим считали, что количество восстановленного нитротетразолия синего определяется содержанием  $O_2^{\bullet-}$  [7].

Содержание пероксидов оценивали ферроцианидным методом, экстрагируя их из растертых на холоде колеоптилей 5 %-й трихлоруксусной кислотой [21]. При таком способе экстракции из тканей извлекался в основном  $H_2O_2$ , на который приходится приблизительно 90 % пероксидов, переходящих в раствор [21].

Повторность экспериментов четырехкратная. На рисунках приведены средние величины и их стандартные отклонения.

## Результаты и обсуждение

Обработка колеоптилей пшеницы СК приводила к достоверному возрастанию в них общей активности пероксидазы и внеклеточной (апопластной) формы этого фермента (рис. 1, а, б).

Повышение общей активности пероксидазы, вызываемое экзогенной СК, угнеталось как ингибитором биосинтеза белка ЦГ, так и блокатором потенциалзависимых кальциевых каналов — верапамилом. ЦГ также существенно снижал активность внеклеточной пероксидазы. В варианте с комбинированным действием ЦГ и СК активность внеклеточной пероксидазы была достоверно выше, чем в варианте с одним ЦГ, но существенно ниже по сравнению с контролем и вариантом с СК (см. рис. 1, б). Не исключено, что повышение активности внеклеточной пероксидазы в вариантах с СК может быть связано с прямым ее влиянием на фермент либо с активацией выхода фермента в апопласт. Секреция пероксидазы в апопласт зарегистрирована как реакция клеток на патогенные элиситоры [15] и раневой стресс [6]. Примечательно, что данный эффект, выявленный на примере корней пшеницы, не угнетался ЦГ [6].

Вызываемое СК повышение активности внеклеточной пероксидазы, как и общей активности этого фермента, по-видимому, зависит от поступления кальция в цитозоль, поскольку блокатор кальциевых каналов нивелировал данный эффект (см. рис. 1, б). Одним из вероятных механизмов повышения активности пероксидазы может быть ее модификация в цитозоле с участием кальция и последующий выход части пула фермента в апопласт [8]. Установлено, что под воздействием экзогенных солей кальция активность внеклеточной пероксидазы корней пшеницы, подвергнутых раневому стрессу, увеличивалась [5].

Под влиянием экзогенной СК также существенно (на 80 %) повышалась активность СОД (см. рис. 1, в). Можно полагать, что этот эффект реализуется с участием системы биосинтеза белка и не связан с мо-

УЧАСТИЕ ПЕРОКСИДАЗЫ И СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ

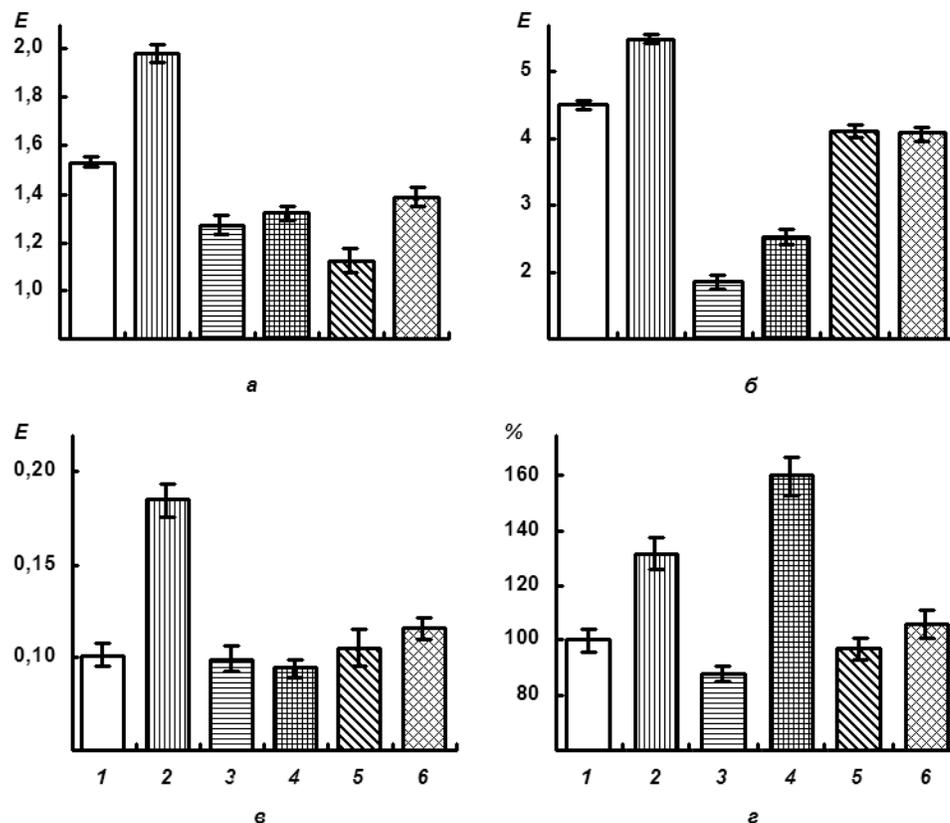


Рис. 1. Активность ферментов в coleoptилях пшеницы и генерация ими супероксидных радикал-анионов:

*a–в* — соответственно общая активность пероксидазы, активность внеклеточной пероксидазы и активность СОД ( $E$ , усл. ед./г сырого вещества·мин); *г* — генерация супероксидного радикал-аниона, % контроля. Здесь и на рис. 3: 1 — контроль (2 % сахара); 2 — 2 % сахара + 10 мкМ СК; 3 — 2 % сахара + 4 мкМ ЦГ; 4 — 2 % сахара + 10 мкМ СК + 4 мкМ ЦГ; 5 — 2 % сахара + 250 мкМ верапамил; 6 — 2 % сахара + 10 мкМ СК + 250 мкМ верапамил

дификацией существующих молекул фермента, поскольку полностью устранялся ингибитором биосинтеза белка ЦГ. При этом сам по себе ЦГ практически не влиял на активность СОД (см. рис. 1, *в*).

Индукирование СОД действием на coleoptили СК, по-видимому, было связано с поступлением ионов кальция в цитозоль. Повышение активности фермента нивелировалось блокатором потенциалзависимых кальциевых каналов — верапамилом (см. рис. 1, *в*). Сам по себе антагонист кальция в используемой концентрации не оказывал заметного влияния на активность СОД.

Обработка coleoptилей СК приводила к усилению генерации ими супероксидных радикал-анионов (см. рис. 1, *г*). Ингибитор биосинтеза белка ЦГ не снимал эффект повышения их генерации, вызванный СК. Более того, в варианте с сочетанным действием СК и ЦГ генерация  $O_2^{\bullet-}$  была даже выше, чем в варианте с СК. Возможно, это связано с тем, что ЦГ блокировал вызываемое СК повышение активности СОД (см. рис. 1, *в*), которая обеспечивала превращение  $O_2^{\bullet-}$  в  $H_2O_2$ . В то же время антагонист кальция верапамил, в отличие от ингибитора биосинтеза белка, угнетал усиление генерации супероксидных радикал-анионов, происходящее под влиянием СК.

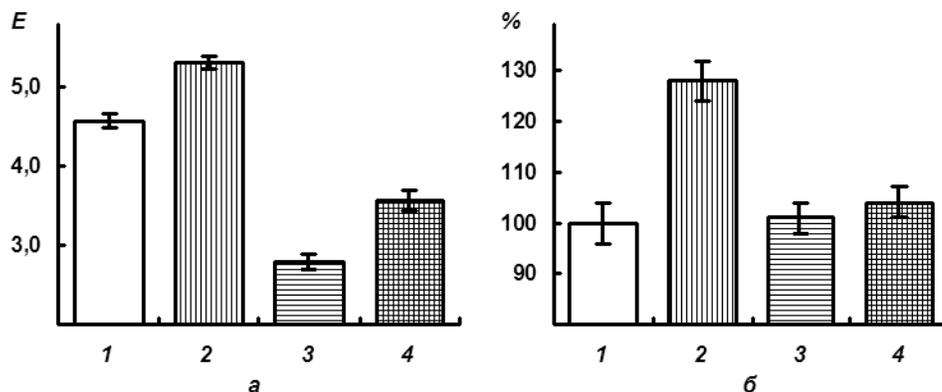


Рис. 2. Влияние СК и СГК на активность ( $E$ , усл. ед.  $\cdot 10^{-3}/(\text{г сырого вещества} \cdot \text{мин})$ ) внеклеточной пероксидазы колеоптилей пшеницы (а) и генерацию (% контроля) ими супероксидных радикалов (б):

1 — контроль (2 % сахара); 2 — 2 % сахара + 10 мкМ СК; 3 — 2 % сахара + 1 мМ СГК; 4 — 2 % сахара + 10 мкМ СК + 1 мМ СГК

Одним из ферментов, вносящих вклад в генерацию колеоптилями «внешних» супероксидных радикал-анионов, может быть внеклеточная пероксидаза, активность которой, как указывалось выше, возрастает под влиянием СК (см. рис. 1, б). Для оценки возможного участия этого фермента в генерации  $\text{O}_2^{\bullet-}$  использовали обработку колеоптилей ингибитором пероксидазы СГК [16]. СГК уменьшала активность внеклеточной пероксидазы на 40 % по сравнению с контролем и снимала эффект повышения активности фермента, вызываемый действием СК (рис. 2, а). При этом СГК сама по себе не угнетала генерацию колеоптилями супероксидных радикал-анионов, но уменьшала вызываемое СК усиление образования  $\text{O}_2^{\bullet-}$  (см. рис. 2, б). При интерпретации такого результата следует учитывать, что внеклеточная пероксидаза является лишь одним из нескольких ферментов, которые могут быть причастны к генерации супероксидных радикал-анионов поверхностью растительных клеток. Наряду с пероксидазой в таком процессе участвует НАДФН-оксидаза, вклад которой в генерацию  $\text{O}_2^{\bullet-}$  у многих растений более существенный по сравнению с пероксидазой [10]. В то же время снятие СГК эффекта усиления генерации супероксидных радикал-анионов, вызываемого СК, дает основание полагать, что такое действие салицилата в значительной степени обусловлено повышением активности внеклеточной пероксидазы.

Воздействие экзогенной СК вызывало существенное (в 1,6 раза) увеличение содержания пероксидов в колеоптилях (рис. 3). Такой эффект СК не полностью нивелировался ингибитором биосинтеза белка ЦГ. При этом сама по себе обработка колеоптилей ЦГ обуславливала тенденцию к увеличению в них содержания пероксидов. Возможно, это связано с тем, что ЦГ оказывает влияние на биосинтез практически всех белков-ферментов. Действие ЦГ на содержание пероксидов во многом зависит от соотношения продолжительности жизни имеющихся в клетках молекул ферментов, которые участвуют в генерации и обезвреживании АФК. Тем не менее обработка колеоптилей ЦГ в значительной степени уменьшала вызываемый СК эффект накопления пероксидов, что можно рассматривать как свидетельство усиления под влиянием салицилата синтеза ферментов, причастных к образованию пероксида водорода.

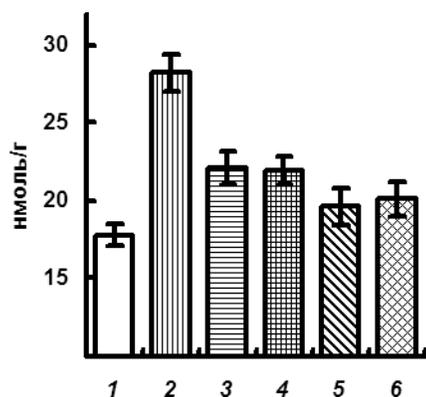


Рис. 3. Содержание пероксидов (нмоль  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г}$  сырого вещества) в колеоптилях пшеницы

Индуцированное СК накопление пероксидов, как и усиление генерации супероксидных радикал-анионов, нивелировалось антагонистом кальция верапамиллом (см. рис. 3).

Таким образом, выявлено усиление генерации АФК колеоптилями пшеницы под влиянием СК. Данный эффект, по-видимому, связан с повышением активности пероксидазы, принимающей участие в генерации  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , и СОД, превращающей супероксидные радикал-анионы в более стабильную АФК — пероксид водорода. Кроме того, увеличению содержания АФК в колеоптилях пшеницы, обработанных СК, по-видимому,

способствует известное ингибирование салицилатом каталазы [2].

Как свидетельствуют полученные нами данные, под действием СК в клетках колеоптилей, вероятно, происходит кальцийзависимое усиление синтеза пероксидазы, поскольку эффект повышения общей активности пероксидазы угнетался как блокатором кальциевых каналов, так и ингибитором биосинтеза белка. В то же время вызываемое СК увеличение активности внеклеточной пероксидазы в колеоптилях, по-видимому, может происходить и независимо от белкового синтеза, что подтверждается повышением под действием СК активности этой формы фермента в колеоптилях, предварительно обработанных ЦГ. Можно предположить, что данный эффект связан с индуцируемым СК выходом пероксидазы в апопласт. Однако такое изменение компартментации фермента, по-видимому, зависит от концентрации кальция в цитозоле, поскольку в наших экспериментах оно нивелировалось блокатором кальциевых каналов (см. рис. 1, б).

Вполне вероятно, что выход пероксидазы в апопласт является одной из причин зарегистрированного нами усиления генерации супероксидных радикал-анионов. Так, оба эффекта, вызываемые обработкой колеоптилей СК (повышение активности внеклеточной пероксидазы и усиление генерации  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), угнетались ингибитором пероксидазы СГК (см. рис. 2). Причастность внеклеточной пероксидазы к генерации супероксидных радикал-анионов показана и на примере клеток корней пшеницы [5]. Естественно, нельзя исключить также усиления генерации  $\text{O}_2^{\bullet-}$  за счет повышения активности НАДФН-оксидазы, которая, как и пероксидаза, относится к кальцийзависимым ферментам [18] и может быть активирована действием на растительные ткани экзогенной СК [10].

Наряду с усилением генерации супероксидных радикал-анионов СК вызывает увеличение содержания пероксидов в тканях. Полученные нами результаты дают основание полагать, что данный эффект в значительной степени может быть связан с повышением активности СОД (см. рис. 1, в). Результаты ингибиторного анализа подтвердили, что увеличение активности этого фермента зависит как от биосинтеза белка, так и от поступления кальция в цитозоль.

Таким образом, можно считать, что ионы кальция причастны как к реализации сигнала СК, так и к его «умножению» — усилению эффекта

«окислительного стресса», вызываемого салицилатом за счет повышения активности ферментов, генерирующих супероксидные радикал-анионы (в частности, пероксидазы) и СОД, превращающей  $O_2^{\bullet-}$  в более стабильную АФК — пероксид водорода.

Подобные явления важны для реакции растений на патогены [11]. В то же время кальцийзависимая генерация АФК, по-видимому, играет роль и в формировании реакций, повышающих устойчивость растений к абиотическим стрессорам. Такой эффект, возможно, связан с индуцированием антиоксидантных ферментов и синтезом низкомолекулярных антиоксидантов. После накопления определенного уровня прооксидантов с их участием может происходить активация генов, контролирующей антиоксидантную систему [17, 23].

1. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Активні форми кисню як посередники в індукованні теплостійкості проростків пшениці салициловою кислотою // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — 39, № 3. — С. 242–248.
2. Колупаев Ю.Е. Возможна роль супероксиддисмутази у салицилатіндукованому нагромадженні пероксидів у колеоптилях *Triticum aestivum* L. // Укр. ботан. журн. — 2007. — 64, № 2. — С. 270–278.
3. Сахабутдинова А.Р., Фатхутдинова Д.Р., Шакирова Ф.М. Влияние салициловой кислоты на активность антиоксидантных ферментов у пшеницы в условиях засоления // Прикл. биохимия и микробиология. — 2004. — 40, № 5. — С. 579–583.
4. Трошина Н.Б., Яруллина Л.Г., Валувев А.Ш., Максимов И.В. Индукция салициловой кислотой устойчивости пшеницы к *Septoria nodorum* Berk. // Изв. РАН. Сер. биологическая. — 2007. — № 5. — С. 545–550.
5. Часов А.В., Гордон Л.Х., Колесников О.П., Минабаева Ф.В. Пероксидаза клеточной поверхности — генератор супероксид-аниона в корневых клетках пшеницы при раневом стрессе // Цитология. — 2002. — 44, № 7. — С. 691–696.
6. Часов А.В., Колесников О.П., Минабаева Ф.В., Гордон Л.Х. Монасенсин и циклогексимид не ингибируют высвобождение пероксидазы и продукцию супероксид-иона в корнях пшеницы при раневом стрессе // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2005. — Вип. 2(7). — С. 29–34.
7. Шорнинг Б.Ю., Смирнова Е.Г., Ягужинский Л.С., Ванюшин Б.Ф. Необходимость образования супероксида для развития этиолированных проростков пшеницы // Биохимия. — 2000. — 65, № 12. — С. 1612–1618.
8. Bakardjieva N.T., Izvorska N.D., Hristova N. Influence of  $Ca^{2+}$  on the activity and release of peroxidase from tobacco callus tissues // Докл. Българ. АН. — 1987. — 40, N 8. — P. 84–88.
9. Chen Z., Silva H., Klessing D.F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid // Science. — 1993. — 262, N 12. — P. 1883–1886.
10. Geetha H.M., Shetty H.S. Expression of oxidative burst in cultured cells of pearl millet cultivars against *Sclerospora graminicola* inoculation and elicitor treatment // Plant Sci. — 2002. — 163. — P. 653–660.
11. Grant M., Brown I., Adams S. et al. The RPM1 plant disease resistance gene facilitates a rapid and sustained increase in cytosolic calcium that is necessary for the oxidative burst and hypersensitive cell death // Plant J. — 2000. — 23, N 4. — P. 441–450.
12. Horvath E., Janda T., Szalai G., Paldi E. In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance // Plant Sci. — 2002. — 163. — P. 1129–1135.
13. Kawano T. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reaction in plant defense and growth induction // Plant Cell Rep. — 2003. — 21, N 9. — P. 829–837.
14. Kawano T., Muto S. Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture // J. Exp. Bot. — 2000. — 51, N 345. — P. 685–693.
15. McLusky S.R., Bennett M.H., Beale M.H. et al. Cell wall alteration and localized accumulation of feruloyl-3'-methoxytyramine in onion epidermis at sites of attempted penetration by Botrytis are associated with actin polarization, peroxidase activity and suppression of flavonoid biosynthesis // Plant J. — 1999. — 17, N 5. — P. 523–534.
16. Mori I., Pinontoan R., Kawano T., Muto S. Involvement of superoxide generation in salicylic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba* // Plant Cell Physiol. — 2001. — 42. — P. 1383–1388.
17. Neill S.T., Desikan R., Clarke A. et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants // J. Exp. Bot. — 2002. — 53, N 372. — P. 1237–1247.

18. Ogasawara Y., Hiraoka G., Yamagoe S. Functional characterization of the plant NADPH oxidase by heterologous expression // *Plant Cell Physiol.* — 2005. — **46**. — P. 106.
19. Rao M.V., Paliyath G., Ormrod D.P. et al. Influence of salicylic acid on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production, oxidative stress, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-metabolizing enzymes // *Plant Physiol.* — 1997. — **115**. — P. 137–149.
20. Ridge I., Osborne D.J. Hydroxyproline and peroxidases in cell wall of *Pisum sativum*: regulation by ethylene // *J. Exp. Bot.* — 1970. — **45**. — P. 843–856.
21. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica* // *Plant Physiol.* — 1976. — **57**. — P. 308–309.
22. Wang L.-J., Li S.-H. Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca<sup>2+</sup> homeostasis and antioxidant systems in young grape plants // *Plant Sci.* — 2006. — **170**. — P. 685–694.
23. Wang L.-J., Li S.-H. Thermotolerance and related antioxidant enzyme activities induced by heat acclimation and salicylic acid in grape (*Vitis vinifera* L.) leaves // *Plant Grow. Regul.* — 2006. — **48**. — P. 137–144.
24. Wendehenne D., Durner J., Chen Z., Klessing D.E. Benzothiadiazole, an inducer of plant defenses, inhibits catalase and ascorbate peroxidase // *Phytochemistry.* — 1998. — **47**. — P. 651–657.

Получено 20.05.2009

#### УЧАСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ І СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ПОСИЛЕННІ ГЕНЕРУВАННЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ КОЛЕОПТИЛЯМИ ПШЕНИЦІ ЗА ДІЇ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ

Ю.Є. Колупаєв,<sup>1</sup> Ю.В. Карпець,<sup>1</sup> Т.О. Ястреб,<sup>1</sup> Л.І. Мусатенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

<sup>2</sup>Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України, Київ

Вивчали вплив екзогенної саліцилової кислоти (СК — 10 мкМ) на інтенсивність генерування активних форм кисню відрізками колеоптилів пшениці і залежність ефектів СК від функціонування системи біосинтезу білка, стану кальцієвих каналів. Обробка СК спричинювала збільшення активності пероксидази і супероксиддисмутазі (СОД), підвищення вмісту пероксидів, посилення генерування супероксидних радикал-аніонів. Зміни активності досліджуваних ферментів значною мірою нівелювались попередньою обробкою колеоптилів інгібітором біосинтезу білка циклогексимідом і блокатором кальцієвих каналів верапамілом.

#### PARTICIPATION OF PEROXIDASE AND SUPEROXIDE DISMUTASE IN THE INCREASE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES PRODUCTION BY WHEAT COLEOPTILES AT THE ACTION OF SALICYLIC ACID

Yu.Ye. Kolupaev,<sup>1</sup> Yu.V. Karpets,<sup>1</sup> T.O. Yastreba,<sup>1</sup> L.I. Musatenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>V.V. Dokuchayev Kharkiv National Agrarian University

p/o «Communist-1», Kharkiv, 62483, Ukraine

<sup>2</sup>M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine

2 Tereshchenkivska St., Kyiv, 01601, Ukraine

The influence of exogenous salicylic acid (SA — 10 mM) on intensity of reactive oxygen species generation in segments of wheat coleoptiles and dependence of SA effects on the functioning of protein biosynthesis system and calcium channels status have been studied. The treatment of segments with SA caused the increase of peroxidase and superoxide dismutase (SOD) activity, rise of peroxides level and intensifying of superoxide anion-radical generation in them. Changes in the activity of studied enzymes substantially were decreased by preliminary treatment of coleoptiles with the cycloheximide (inhibitor of protein biosynthesis) and verapamil (calcium channels blocker).

*Key words:* *Triticum aestivum* L., salicylic acid, superoxide dismutase, peroxidase, reactive oxygen species, calcium.