

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ И ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА

© 2021 г. А. А. Игнатенко^а, *, В. В. Таланова^а, Н. С. Репкина^а, А. Ф. Титов^а

^аИнститут биологии – обособленное подразделение

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра
“Карельский научный центр Российской академии наук”, Петрозаводск, Россия

*e-mail: angelina911@ya.ru

Поступила в редакцию 19.05.2020 г.

После доработки 06.07.2020 г.

Принята к публикации 06.07.2020 г.

Изучено влияние салициловой кислоты (СК) на реакцию растений огурца (*Cucumis sativus* L.) на действие низких положительных температур. Установлено, что обработка СК способствует снижению выхода электролитов из тканей семядольных листьев проростков, подвергнутых действию субповерхностной (12°C) и повреждающей (4°C) температур. В листьях проростков, обработанных СК и подвергнутых действию холода, зафиксирована более высокая активность супероксиддисмутазы, каталазы и гваякол-специфичной пероксидазы, а также выявлено усиление накопления транскриптов кодирующих их генов (*CuZnSOD* и *CAT*) по сравнению с контрольным вариантом (без обработки СК). В условиях действия на проростки низких температур (12°C и 4°C) СК также снижала образование одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида в листьях проростков. Сделан вывод, что при действии на проростки огурца низких положительных температур СК оказывает защитный эффект, который выражается в активизации работы антиоксидантных ферментов и снижении уровня окислительного стресса.

Ключевые слова: *Cucumis sativus*, салициловая кислота, низкие положительные температуры, окислительный стресс, антиоксидантная система

DOI: 10.31857/S0015330321020056

ВВЕДЕНИЕ

Фитогормоны являются важнейшими компонентами регуляторной системы растений, играя ключевую роль не только в контроле их роста и развития, но и активно участвуя в защитно-приспособительных реакциях [1]. Особый интерес представляют те из них, которые способны стимулировать рост растений и одновременно с этим являются индукторами неспецифической устойчивости [2]. К их числу, в частности, относится салициловая кислота.

Салициловая, или 2-гидроксibenзойная кислота (СК) – физиологически активное природное соединение, биосинтез которого осуществляется по фенилпропаноидному (основной) или изохоризматному путям [3, 4]. В клетках растений СК представлена в свободной форме и/или в виде производных – конъюгатов с аминокислотами, метилсалицилата, β-D-глюкозида, эфиров глюкозинов и др. [5]. В норме большинство синтезированных молекул СК находится в клетке в форме биологически неактивных производных, которые при необходимости могут быть преобразованы в свободную активную форму [6].

СК участвует в регуляции многих физиологических процессов в растениях, включая рост и развитие (прорастание семян, вегетативный рост, цветение, созревание плодов, старение и др.), фотосинтез, транспирацию, термогенез, транспорт органических веществ, гравитропизм и др. [4, 6, 7]. Но особый интерес СК и ее производные вызывают в связи с их способностью индуцировать системную приобретенную устойчивость при инфицировании патогенами [8], формирование которой обусловлено накоплением так называемых PR-белков (*Pathogenesis Related proteins*), или белков, связанных с патогенезом. В последние годы накапливаются данные, свидетельствующие о способности СК оказывать защитное действие на растения и при действии стресс-факторов абиотической природы. Так, выявлено, что СК индуцирует повышение устойчивости растений к засухе [9], высоким температурам [10] и тяжелым металлам [11]. Что касается низких температур, при их действии в клетках растений обнаружено увеличение эндогенного уровня СК и повышение активности ферментов, участвующих в ее биосинтезе [12, 13]. Кроме того показано, что экзогенные СК и ее производные участвуют в сниже-

нии негативного действия холода на растения, включая такие теплолюбивые культуры, как томат, рис, кукуруза, огурец, перец, баклажан, олива, банан [3, 12–16]. Роль СК в повышении холодоустойчивости растений связывают с поддержанием ростовых процессов [3], фотосинтеза [8], снижением интенсивности окислительного стресса [13], стабилизацией клеточных мембран [16], активизацией альтернативной оксидазы [14], увеличением уровня пролина [16], аскорбата и глутатиона [15], усилением экспрессии генов белков холодового шока [12] и др. Высказано мнение, что важную роль в проявлении защитного эффекта СК при действии на растения низких температур может играть ее способность активизировать работу антиоксидантных ферментов [7, 13, 16]. Однако следует отметить, что имеющиеся в литературе сведения о регуляции их активности СК зачастую носят противоречивый характер. В частности, результаты одних исследований указывают на повышение активности антиоксидантных ферментов под влиянием СК у теплолюбивых растений в условиях гипотермии [12], а из других следует, что экзогенная СК вызывает снижение их активности [17]. В одной из работ [17] высказано предположение, что именно уменьшение активности антиоксидантных ферментов, индуцируемое СК, приводит к снижению устойчивости растений к низкой температуре. Еще в меньшей степени исследовано влияние экзогенной СК на экспрессию генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, у растений, испытывающих действие низких температур [12, 15].

Учитывая это, в настоящей работе изучено влияние экзогенной СК на устойчивость, активность антиоксидантных ферментов и содержание транскриптов кодирующих их генов в листьях типичного представителя теплолюбивых растений — огурца (*Cucumis sativus* L.), при действии на него низких положительных температур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования были выбраны растения огурца (*Cucumis sativus* L.) гибрида F1 Зозуля. Их выращивали на модифицированном питательном растворе Кнопа, содержащем 3.15 мМ NH_4NO_3 , 1.55 мМ KH_2PO_4 , 1.55 мМ MgSO_4 , 24 мкМ H_3BO_3 , 21 мкМ $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$, 10 мкМ MnSO_4 , 3.1 мкМ CuSO_4 , 2.55 мкМ $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 1.55 мкМ ZnSO_4 и 5 мМ $\text{Ca}(\text{OH})_2$, в контролируемых условиях: при температуре воздуха 22°C, его относительной влажности 60–70%, освещенности ФАР 180 мкмоль/м²·с и фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста растения помещали на раствор СК (“Sigma-Aldrich”, США) и через 1 сут подвергали воздействию температуры 12°C или 4°C в камере искусственного климата (ВКШ-73, Россия), со-

храняя прочие условия неизменными. При этом часть растений на протяжении всего опыта находилась на питательном растворе без добавления СК. Эти растения служили контролем, отражающим характер изменения изучаемых показателей при действии только низких температур.

Выбор низких температур (12°C и 4°C) и продолжительности (3 сут) их действия основан на результатах предыдущих исследований [1, 18]. Используемая в опытах концентрация СК (100 мкМ) была также выбрана на основании предварительных экспериментов. Все измерения проводили на семядольных листьях.

Проницаемость мембран клеток определяли по выходу электролитов из высечек листьев с использованием кондуктометра (“HANNA”, Италия). Полный выход электролитов определяли по электропроводности вытяжки после разрушения мембран кипячением. Результирующий выход электролитов рассчитывали в процентах от полного выхода [19].

Интенсивность ПОЛ в листьях оценивали по накоплению продукта окисления — МДА, по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой [20]. Для этого навеску (0.1 г) растительного материала (листья) гомогенизировали в смеси, содержащей трихлоруксусную кислоту и тиобарбитуровую кислоту. Гомогенат центрифугировали (“BR 4i”, Франция) в течение 15 мин при 10000 г и температуре 4°C, затем нагревали при 95°C в течение 30 мин, охлаждали во льду 5 мин и вновь центрифугировали 5 мин при 10000 g. Содержание МДА определяли на спектрофотометре СФ-2000 (“Спектр”, Россия), измеряя оптическую плотность при 532 нм и неспецифическое поглощение при 600 нм. Для расчета содержания МДА использовали коэффициент молярной экстинкции, равный 155 л / (ммоль см).

Для определения активности антиоксидантных ферментов навеску листьев (0.3 г) гомогенизировали на льду в К-, Na-фосфатном буфере, рН 7.8. Далее гомогенат центрифугировали в течение 20 мин при 14000 g и температуре 4°C. Супернатант использовали для определения активности ферментов.

Общую активность супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) определяли спектрофотометрически при 560 нм по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия до формазана [21]. Активность каталазы (КАТ, КФ 1.11.1.6) определяли по ферментативному разложению H_2O_2 при 240 нм [22] и рассчитывали с учетом коэффициента молярной экстинкции $\epsilon = 39.6$ л/(моль см). Об активности гваякол-специфичной пероксидазы (ГПО, КФ 1.11.1.7) судили по увеличению оптической плотности при 470 нм в результате окисления гваякола ($\epsilon = 26.6$ л/(моль см)) в присутствии H_2O_2 [23].

Общее содержание белка анализировали методом Бредфорд, используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин [24].

Накопление транскриптов генов *CuZnSOD* и *SAT* определяли с помощью ПЦР в режиме реального времени. Навеску листьев (0.05 г) растирали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора ExtractRNA (“Синтол”, Россия). Количество и качество тотальной РНК проверяли спектрофотометрически на приборе SmartSpec Plus (“Био-Рад”, США) по соотношению длин волн 260/280 и с помощью электрофореза в 1% агарозном геле. Для удаления остатков ДНК препарат РНК обрабатывали ДНКазой (“Синтол”, Россия). кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции с обратной транскриптазой MMLV и случайными (random) гексапраймерами (“Евроген”, Россия) (Supplementary, Table S1). В качестве референсного гена использовали актин *C. sativus*. Количество и качество синтезированной кДНК проверяли спектрофотометрически на приборе SmartSpec Plus (“Био-Рад”, США). Амплификацию образцов проводили на приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (“Био-Рад”, США), используя наборы для амплификации с интеркалирующим красителем SYBR Green (“Евроген”, Россия). Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов. Эффективность ПЦР, оцениваемая по стандартной кривой, достигала 98%. Содержание транскриптов генов вычисляли по формуле $2^{-\Delta\Delta Ct}$ и выражали в относительных единицах. В качестве контрольных образцов были выбраны кДНК, выделенные из растений, не подвергавшихся действию низких температур и обработке СК.

Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта в зависимости от анализируемого показателя была 3–5-кратной, аналитическая – 3-кратной. Каждый опыт повторяли не менее 3 раз. Статистическую значимость различий между средними значениями определяли при $P < 0.05$ на основе дисперсионного анализа (LSD-тест) с использованием программного обеспечения Statgraphics (v. 2.1). На рисунках и в таблице представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что действие низких температур (12°C и 4°C) на растения огурца вызывает повышение выхода электролитов из листьев (рис. 1). При температуре 12°C его увеличение наблюдалось только в течение 24 ч и было относительно небольшим (рис. 1а), а при 4°C проницаемость мембран значительно возрастала в течение всего опыта (рис. 1б). Обработка растений СК (100 мкМ) вызывала снижение экзоосмо-

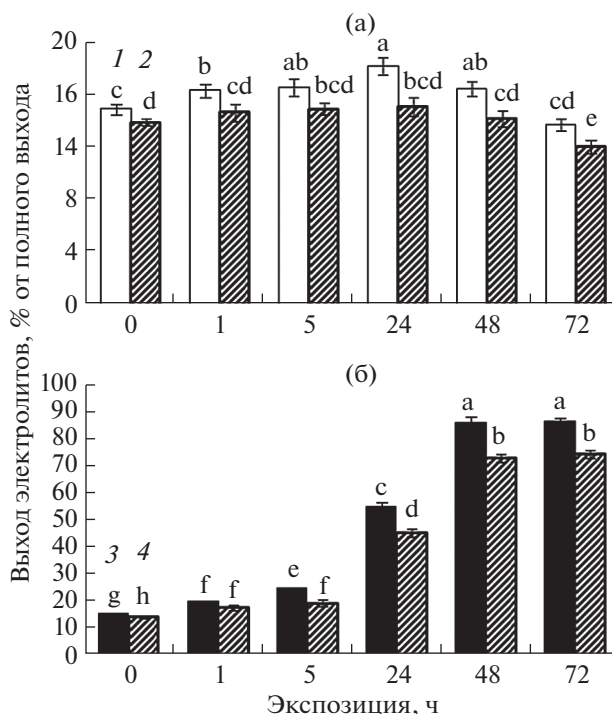


Рис. 1. Влияние СК (100 мкМ) на выход электролитов из листьев огурца при действии низких температур – 12°C (а) и 4°C (б). Варианты: 1 – 12°C; 2 – 12°C + СК; 3 – 4°C; 4 – 4°C + СК. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые отличия между средними значениями при $P < 0.05$.

са электролитов еще до начала холодных воздействий (при 22°C) (рис. 1). В условия холода (12°C и 4°C) под влиянием СК в течение всего эксперимента был зарегистрирован более низкий уровень выхода электролитов из тканей листьев по сравнению с вариантом без обработки проростков СК.

Действие низких температур (12°C и 4°C) приводило также к накоплению одного из конечных продуктов ПОЛ – МДА (табл. 1). При этом к концу опыта (72 ч) его содержание при 12°C повысилось относительно исходного уровня примерно в 2 раза, а при 4°C – примерно в 5 раз (табл. 1). Обработка проростков СК вызывала небольшое (на 15% относительно исходных значений) увеличение уровня МДА в листьях при 22°C (табл. 1). При действии на проростки низких температур, как 12°C, так и 4°C, в листьях проростков, обработанных СК, выявлено меньшее содержание МДА, причём на протяжении всего опыта (табл. 1).

При воздействии на растения огурца низких температур в их листьях уже через 1 ч зафиксировано повышение активности СОД (рис. 2а, б).

С увеличением продолжительности действия температуры 12°C активность СОД (рис. 2а) и содержание мРНК кодирующего ее гена *CuZnSOD* (рис. 2в) продолжали возрастать, тогда как при 4°C активность фермента снижалась уже че-

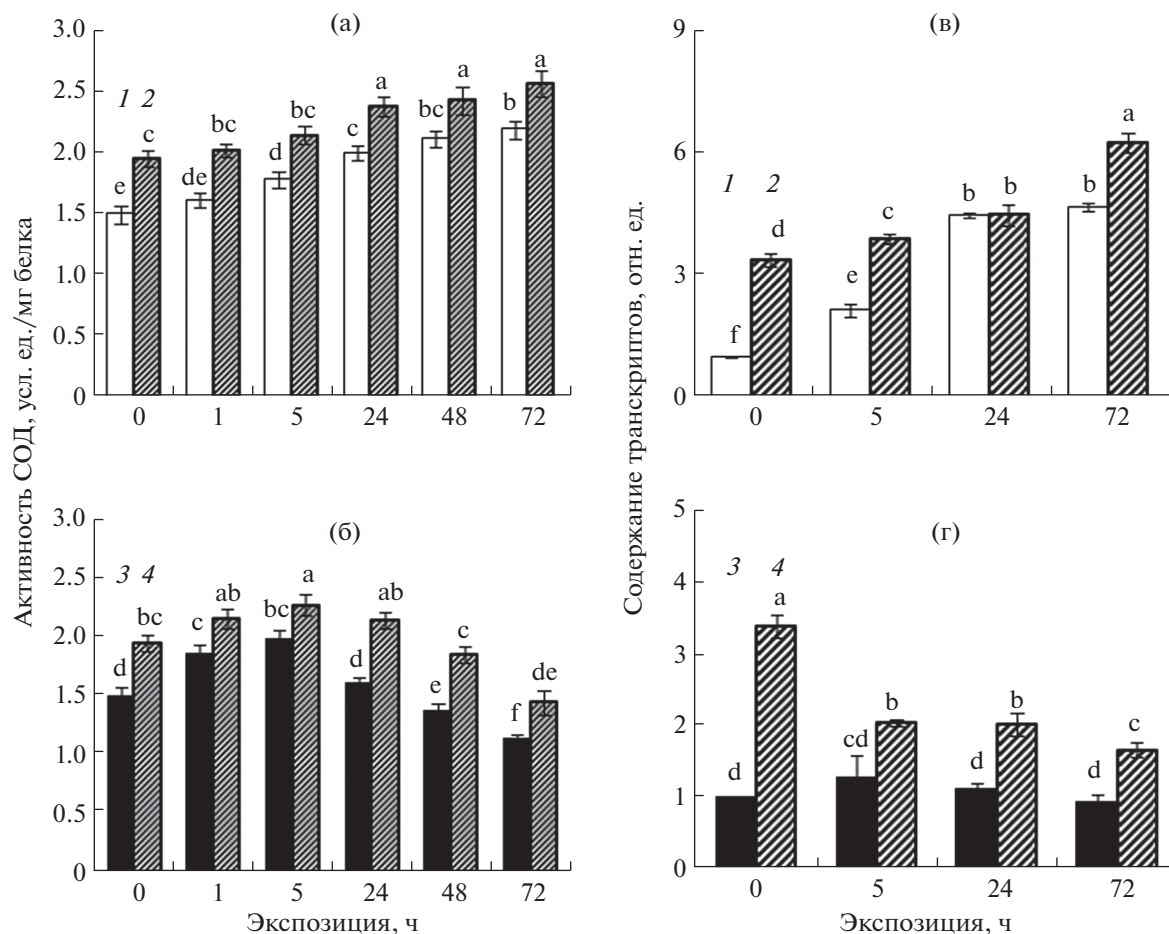


Рис. 2. Влияние СК (100 мкМ) на активность СОД (а, б) и содержание транскриптов гена *CuZnSOD* (в, г) в листьях огурца при действии низких температур. Варианты: 1 – 12°C; 2 – 12°C + СК; 3 – 4°C; 4 – 4°C + СК. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые отличия между средними значениями при $P < 0.05$.

рез 24 ч (рис. 2б), а уровень мРНК гена *CuZnSOD* не изменялся (рис. 2г). Экзогенная СК еще до начала действия низких температур (при 22°C) вызывала повышение активности СОД на 30% относительно исходного уровня (рис. 2а, б). При последующем действии низких температур (12°C и 4°C) активность фермента в листьях растений огурца, обработанных СК, превышала та-

ковую в контрольном варианте в течение всего опыта (рис. 2а, б). Наряду с повышением активности СОД под влиянием СК отмечено возрастание экспрессии гена *CuZnSOD* (рис. 2в, г).

Сходным образом с СОД, под влиянием низких температур изменялась активность КАТ – повышалась в течение всего эксперимента при 12°C (рис. 3а) и резко снижалась спустя сутки

Таблица 1. Влияние СК (100 мкМ) на содержание МДА в листьях огурца при действии низких температур.

Экспозиция, ч	Содержание МДА, нмоль/г сырого веса			
	12°C	12°C + СК	4°C	4°C + СК
0	8.8 ± 0.5 ^g	10.1 ± 0.4 ^{def}	8.8 ± 0.5 ⁱ	10.1 ± 0.4 ^h
1	10.6 ± 0.3 ^{def}	9.7 ± 0.5 ^{dfg}	12.0 ± 0.7 ^f	9.6 ± 0.4 ^{hi}
5	11.1 ± 0.5 ^{de}	9.9 ± 0.7 ^{fg}	13.3 ± 0.7 ^f	10.6 ± 0.6 ^{gh}
24	12.1 ± 0.3 ^c	11.0 ± 0.3 ^{ef}	15.9 ± 0.7 ^e	12.8 ± 1.1 ^{fg}
48	14.4 ± 0.7 ^{ab}	12.9 ± 0.4 ^{bc}	26.3 ± 1.4 ^c	20.1 ± 1.5 ^d
72	16.1 ± 0.6 ^a	12.8 ± 0.5 ^{bc}	41.7 ± 1.6 ^a	35.1 ± 1.5 ^b

Примечание. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые отличия между средними значениями в пределах каждого температурного воздействия при $P < 0.05$.

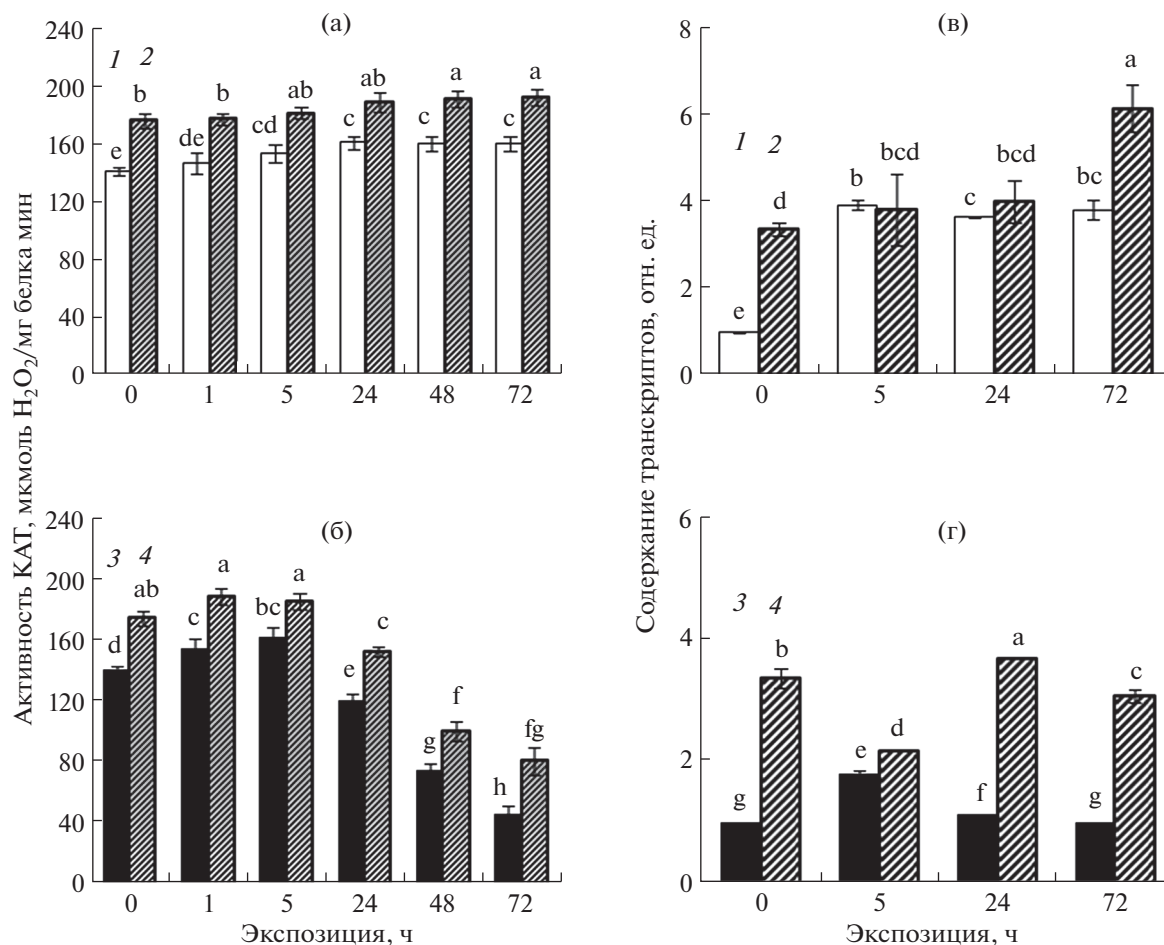


Рис. 3. Влияние СК (100 мкМ) на активность КАТ (а, б) и содержание транскриптов гена *CAT* (в, г) в листьях огурца при действии низких температур. Варианты: 1 – 12°C; 2 – 12°C + СК; 3 – 4°C; 4 – 4°C + СК. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые отличия между средними значениями при $P < 0.05$.

действия температуры 4°C (рис. 3б). Содержание мРНК гена *CAT* превышало исходный уровень в течение всего периода действия температуры 12°C (рис. 3в), а при 4°C – к концу опыта не отличалось от него (рис. 3г). Под влиянием СК активность КАТ и уровень мРНК гена *CAT* увеличивались уже при 22°C (рис. 3). При последующем действии холода (особенно температуры 4°C) активность КАТ и содержание мРНК гена *CAT* под влиянием СК существенно превышали таковые в контроле (рис. 3).

Анализ активности ГПО в листьях растений, подвергнутых холодному воздействию, показал, что при температуре 12°C она возрастает с увеличением продолжительности опыта (рис. 4а), а при 4°C – после некоторого повышения возвращается к исходному уровню (рис. 4б). При этом в варианте, в котором растения на протяжении всего периода действия холода находились на питательном растворе с добавлением СК, обнаружена более высокая активность ГПО (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, адаптивные возможности теплолюбивых растений, к которым относится огурец, крайне ограничены [18]. Действие на них низких температур приводит к различным структурно-функциональным нарушениям и сопровождается появлением симптомов холодного повреждения [1, 19]. Как правило, под влиянием низких температур, особенно при их продолжительном действии, происходит нарушение целостности мембранных структур [25]. СК, как показывают исследования, способна оказывать защитный эффект на мембраны клеток растений, обусловленный, в первую очередь, предотвращением ПОЛ [3, 14, 16]. В нашем случае при действии субповреждающей температуры (12°C) СК способствовала сохранению их целостности, и судя по выходу электролитов, холодоустойчивость растений огурца к концу опыта под влиянием СК повышалась. Важно отметить, что и при повреждающей температуре (4°C) СК частично нивелировала ее негативный эффект на

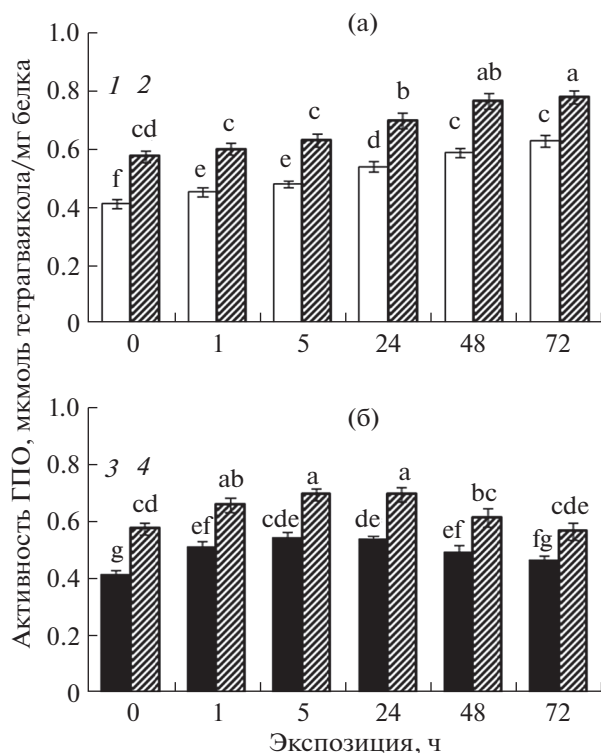


Рис. 4. Влияние СК (100 мкМ) на активность ГПО в листьях огурца при действии низких температур – 12°C (а) и 4°C (б). Варианты: 1 – 12°C; 2 – 12°C + СК; 3 – 4°C; 4 – 4°C + СК. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые отличия между средними значениями при $P < 0.05$.

мембраны клеток, способствуя снижению их проницаемости (по сравнению с контролем), хотя и не предотвращая ее рост с повышением продолжительности воздействия.

Механизмы протекторного действия СК и ее производных в настоящее время активно изучаются [3, 5, 7]. При этом отмечается, что СК сочетает в себе свойства сигнальной молекулы и стрессового фитогормона [8]. Например, при атаке патогенов в местах их внедрения СК индуцирует у растений развитие реакции сверхчувствительности. Она выражается в быстром отмирании части клеток, в том числе инфицированных, в результате интенсивного накопления АФК [6]. Последние, в свою очередь, не только обладают прямым биоцидным действием, но и являются одними из сигнальных посредников в реализации эффектов СК [26, 27]. С другой стороны, имеются данные о том, что при обработке растений СК в их клетках, наоборот, происходит снижение уровня АФК и продуктов ПОЛ, что, в конечном итоге, способствует повышению их устойчивости к неблагоприятным факторам среды [5–7, 9].

Об участии СК в регуляции устойчивости теплолюбивых растений к низким температурам че-

рез снижение уровня окислительного стресса уже сообщалось в ряде работ [12–14, 28]. Например, показано, что предобработка растений огурца [14] и кукурузы [13] СК значительно снижала содержание пероксида водорода и/или МДА в условиях действия низких температур (10°C и 5°C). Интересно отметить, что при использовании ингибиторов биосинтеза СК негативное действие холода на растения усиливалось, о чем свидетельствовало более интенсивное накопление индикаторов развития окислительного стресса, которое подавлялось в случае совместного использования ингибиторов биосинтеза СК и экзогенной СК [12, 13].

Как следует из полученных нами результатов, действие низких температур, как 12°C, так и 4°C, вызывает усиление процессов ПОЛ в значительно большей степени развивающихся в клетках растений огурца, испытывающих действие температуры 4°C. При этом в варианте с экзогенной СК интенсивность процессов ПОЛ, индуцируемых холодowymi воздействиями, была меньше, на что указывает более низкий уровень МДА в течение всего опыта. В случае действия температуры 12°C это, очевидно, способствовало более успешной адаптации проростков к холоду. Напротив, с увеличением продолжительности повреждающего воздействия (4°C) независимо от присутствия в питательном растворе СК в листьях огурца происходило значительное накопление МДА. Последнее, в свою очередь, приводило к резкому повышению проницаемости мембран клеток, которое сопровождалось потерей их содержимого, и в конечном итоге к гибели растений.

Согласно литературным данным об участии СК и ее производных в защитно-приспособительных реакциях растений, одним из механизмов их протекторного действия является регуляция активности антиоксидантных ферментов [3, 5, 6]. При этом, как показывают исследования, СК может и стимулировать, и ингибировать их активность. В частности, СК-индуцированное повышение устойчивости растений к патогенам обусловлено ее способностью ингибировать активность железосодержащих ферментов, что приводит к накоплению АФК и способствует уничтожению патогенов [6, 28]. С другой стороны, увеличение активности антиоксидантных ферментов под влиянием СК способствует повышению устойчивости растений к другим стресс-факторам, включая низкие температуры [9, 10, 12, 13, 16].

Нашими исследованиями показано, что СК индуцировала активизацию основных антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ и ГПО) в листьях огурца еще до начала действия низких температур (при 22°C). Можно предположить, что СК вызывала в этом случае эффект, сходный с действием модуляторов окислительного стресса, т. е. увеличение активности антиоксидантных ферментов могло

быть обусловлено усилением генерации их субстратов. В пользу этого предположения говорят, к примеру, данные о том, что обработка растений пшеницы СК вызывает повышение активности супероксид-генерирующих ферментов (НАДФН-оксидазы и внеклеточной пероксидазы), содержания АФК (супероксидного радикала и пероксида водорода) и активности ряда антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ и ГПО) [29]. При этом ингибиторы НАДФН-оксидазы (α -нафтол) и пероксидазы (салицилгидроксамовая кислота), а также антиоксидант ионол частично нивелировали действие СК и существенно снижали ее положительное влияние на устойчивость пшеницы к высокой температуре. О способности СК индуцировать увеличение уровня АФК, в частности супероксидного радикала, вследствие активизации внеклеточных пероксидаз свидетельствуют данные, полученные на корнях растений пшеницы [30].

Исходя из этого можно полагать, что в наших опытах СК усиливала образование АФК в клетках огурца, что, в свою очередь, активизировало работу антиоксидантных ферментов. При последующем действии температуры 12°C, благодаря уже произошедшей активизации работы СОД, КАТ и ГПО, их активность в листьях обработанных СК растений в течение всего опыта превышала таковую у необработанных. Существенно, что и при температуре 4°C СК хотя и не предотвращала снижения активности СОД и КАТ, но способствовала их поддержанию на более высоком уровне.

Как показывают исследования, регуляция активности антиоксидантных ферментов под влиянием СК может осуществляться не только посредством посттранскрипционной и посттрансляционной активации ранее синтезированных в клетках молекул, но и через их синтез *de novo*. Так, Dong с соавт. [12] показали участие СК в регуляции транскрипции генов ферментов, осуществляющих антиоксидантную функцию, в листьях огурца при действии температуры 8°C. При этом использование ингибитора биосинтеза СК (паклобутразола) вызывало снижение уровня мРНК генов *SOD*, *CAT* и *APX*, что, в свою очередь, сказывалось и на активности ферментов, кодируемых этими генами. В случае совместного использования паклобутразола и экзогенной СК уровень экспрессии этих генов и активность антиоксидантных ферментов не только не уменьшались, а даже превышали значения в контроле (без паклобутразола и СК), что способствовало снижению негативного действия охлаждения на проростки огурца [12].

В наших опытах выявлено значительное усиление экспрессии генов *CuZnSOD* и *CAT*, кодирующих СОД и КАТ, в листьях огурца под влиянием СК даже при 22°C. По всей видимости, это стало причиной того, что при последующем действии низких температур в листьях огурца в опыт-

ном варианте (с обработкой СК) уровень мРНК генов *CuZnSOD* и *CAT* и активность кодируемых ими ферментов были существенно выше, чем у растений, не подвергавшихся подобной обработке. Однако, даже в присутствии СК активность КАТ и СОД с увеличением продолжительности действия температуры 4°C уменьшалась и к концу опыта была ниже исходных значений. По-видимому, это было связано с холодовой инактивацией ферментов вследствие повреждения их белковой части. Кроме того, инактивация железосодержащих ферментов могла быть обусловлена необратимым окислением их Fe-S-центров, которое вызывают АФК [26].

Таким образом, суммируя полученные нами результаты и сопоставляя их с имеющимися в литературе данными, можно заключить, что в условиях действия низких положительных температур защитный эффект СК в отношении растений огурца обеспечивается за счет ее участия в регуляции деятельности антиоксидантной системы. Увеличение активности ключевых антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ и ГПО) под влиянием СК приводит к снижению интенсивности окислительного стресса в клетках растений и, как следствие, способствует сохранению целостности их мембранных структур. В конечном итоге, указанные изменения, наряду с функционированием других адаптивных механизмов, обеспечивают повышение холодоустойчивости огурца в условиях действия субповреждающей температуры, а также частично нивелируют ее негативный эффект в случае повреждающего воздействия на растения.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук” (тема № 0218-2019-0074).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Титов А.Ф., Таланова В.В.* Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2009. 206 с.
2. *Шакирова Ф.М.* Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
3. *Miura K., Tada Ya.* Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid // *Front. Plant*

- Sci. 2014. V. 5. P. 1.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00004>
4. *Klessig D.F., Choi H.W., Dempsey D.A.* Systemic acquired resistance and salicylic acid: past, present, and future // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2018. V. 31. P. 871.
<https://doi.org/10.1094/mpmi-03-18-0067-cr>
 5. *Kumar D.* Salicylic acid signaling in disease resistance // *Plant Sci.* 2014. V. 228. P. 127.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.04.014>
 6. *Vlot A.C., Dempsey D.A., Klessig D.F.* Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2009. V. 47. P. 177.
<https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202>
 7. *Khan M.I.R., Fatma M., Per T.S., Anjum N.A., Khan N.A.* Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6: 462.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>
 8. *Janda T., Gondor O.K., Yordanova R., Szalai G., Pal M.* Salicylic acid and photosynthesis: signalling and effects // *Acta Physiol. Plant.* 2014. V. 36. P. 2537.
<https://doi.org/10.1007/s11738-014-1620-y>
 9. *La V.H., Lee B., Zhang Q., Park S.-H., Islam Md. T., Kim T.-H.* Salicylic acid improves drought-stress tolerance by regulating the redox status and proline metabolism in *Brassica rapa* // *Hortic. Environ. Biotechnol.* 2019. V. 60. P. 31.
<https://doi.org/10.1007/s13580-018-0099-7>
 10. *Zhang Z., Lan M., Han X., Wu J., Wang-Pruski G.* Response of ornamental pepper to high-temperature stress and role of exogenous salicylic acid in mitigating high temperature // *J. Plant Growth Regul.* 2020. V. 39. P. 133.
<https://doi.org/10.1007/s00344-019-09969-y>
 11. *Sharma A., Sidhu G.P.S., Araniti F., Bali A.S., Shahzad B., Tripathi D.K., Brestic M., Skalicky M., Landi M.* The role of salicylic acid in plants exposed to heavy metals // *Molecules.* 2020. V. 25: 540.
<https://doi.org/10.3390/molecules25030540>
 12. *Dong C.-J., Li L., Shang Q.-M., Liu X.-Y., Zhang Z.-G.* Endogenous salicylic acid accumulation is required for chilling tolerance in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings // *Planta.* 2014. V. 240. P. 687.
<https://doi.org/10.1007/s00425-014-2115-1>
 13. *Wang Y., Wen T., Huang Y., Guan Y., Hu J.* Salicylic acid biosynthesis inhibitors increase chilling injury to maize (*Zea mays* L.) seedlings // *Plant Growth Regul.* 2018. V. 86. P. 11.
<https://doi.org/10.1007/s10725-018-0407-3>
 14. *Lei T., Feng H., Sun X., Dai Q.L., Zhang F., Liang H.G., Lin H.H.* The alternative pathway in cucumber seedlings under low temperature stress was enhanced by salicylic acid // *Plant Growth Regul.* 2010. V. 60. P. 35.
<https://doi.org/10.1007/s10725-009-9416-6>
 15. *Chen S., Liu Z., Cui J., Ding J., Xia X., Liu D., Yu J.* Alleviation of chilling-induced oxidative damage by salicylic acid pretreatment and related gene expression in eggplant seedlings // *Plant Growth Regul.* 2011. V. 65. P. 101.
<https://doi.org/10.1007/s10725-011-9579-9>
 16. *Hashempour A., Ghasemnezhad M., Fotouhi Ghaziyini R., Sohani M.M.* The physiological and biochemical responses to freezing stress of olive plants treated with salicylic acid // *Russ. J. Plant Physiol.* 2014. V. 61. P. 443.
<https://doi.org/10.1134/S1021443714040098>
 17. *Wang D.H., Li X., Su Z. K., Ren H. X.* The role of salicylic acid in response of two rice cultivars to chilling stress // *Biol. Plant.* 2009. V. 53. P. 545.
<https://doi.org/10.1007/s10535-009-0099-7>
 18. *Тумов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В.* Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. Москва: Наука, 2006. 143 с.
 19. *Grishenkova N.N., Lukatkin A.S.* Determination of plant tissue resistance to abiotic stresses using conductometric method // *Povolzh. Ekol. Zh.* 2005. № 1. P. 3.
 20. *Stewart R.R.C., Bewley J.D.* Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes // *Plant Physiol.* 1980. V. 65. P. 245.
<https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245>
 21. *Beauchamp C., Fridovich I.* Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // *Anal. Biochem.* 1971. V. 44. P. 276.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
 22. *Aebi H.* Catalase *in vitro* // *Methods in Enzymol.* 1984. V. 105. P. 121.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
 23. *Maehly A.C., Chance B.* The assay of catalase and peroxidase // *Meth. Biochem. Anal.* 1954. V. 1. P. 357.
<https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch14>
 24. *Bradford M.M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. V. 72. P. 248.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
 25. *Los D.A.* Molecular mechanisms of cold tolerance in plants // *Herald of the Russian Academy of Sciences.* 2005. V. 75. P. 149.
 26. *Sharma P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessarakli M.* Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions // *J. Bot.* 2012. 217037. P. 1.
<https://doi.org/10.1155/2012/217037>
 27. *Herrera-Vásquez A., Salinas P., Holuigue L.* Salicylic acid and reactive oxygen species interplay in the transcriptional control of defense genes expression // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6: 171.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00171>
 28. *Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О.* Стресс-протекторные эффекты салициловой кислоты и её структурных аналогов // *Физиология и биохимия культ. растений.* 2013. Т. 45. С. 113.
 29. *Kolupaev Yu.E., Yastreb T.O., Shvidenko N.V., Karpets Yu.V.* Induction of heat resistance in wheat coleoptiles by salicylic and succinic acids: connection of the effect with the generation and neutralization of active oxygen forms of reactive oxygen species // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2012. V. 48. P. 500.
<https://doi.org/10.1134/S0003683812050055>
 30. *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.
<https://doi.org/10.1007/bf01289421>