

ORIGINAL ARTICLE



Effect of Temperature on Lipoxygenase Activity in Varieties of *Triticum aestivum* L. Differing in Resistance to Abiotic Stressors

L.M. Babenko

M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2 Tereshchenkivska str., Kyiv, Ukraine

*E-Mail: lilia.babenko@gmail.com

Received October 09, 2017

Effects of high (+40°C, 2 h) and low positive (+4°C, 2 h) temperatures on lipoxygenase activity in varieties of *Triticum aestivum* L. differing in their resistance to abiotic stressors have been analyzed. For the first time 9-lipoxygenase activity was identified in the overground part and roots of 14-day-old plants of the three new winter wheat varieties selected in Ukraine. Increase in lipoxygenase activity both in the plant overground and root parts turned out to be a non-specific response to hyperthermia and hypothermia. Intensity of response to a heat stress was significantly higher than that of cold effects. In the overground part of the heat-resistant variety Yatran 60 a short-term hyperthermia caused a fourfold increase in the activity of lipoxygenase with $pH_{onp} 5.5$ and six-fold increase in lipoxygenase activity with $pH_{ont} 6.3$. The activity of lipoxygenase with pH_{onp} in roots increased one and the half times. The activity of lipoxygenase with $pH_{ont} 7.0$ in the overground part of the cold-resistant variety Volodarka exposed to hyperthermia increased one and a half times and that of lipoxygenase with $pH_{ont} 6.0$ – 1.3 times, and in roots the activity of lipoxygenase with $pH_{ont} 6.5$ increased three times. In the overground part of the ecologically flexible variety Podolyanka exposed to a short-term hyperthermia the activity of lipoxygenase with $pH_{ont} 7.5$ increased one and the half times, lipoxygenase with $pH_{ont} 5.5$ – 1.7 times, and in roots the activity of lipoxygenase with $pH_{ont} 6.5$ – almost two times. The most pronounced response to hyperthermia occurred in the heat-resistant variety Yatran 60. Prospects for use of lipoxygenase as a plant resistance marker as well as possible involvement of lipoxygenase activity in the formation of cell adaptation mechanisms are discussed.

Key words: *Triticum aestivum* L., lipoxygenase, temperature stress

Одной из центральных проблем современной теоретической и практической биологии является изучение молекулярных и клеточных механизмов адаптации растений к абиотическим стрессам. Глобальные изменения климата, усиление антропогенной нагрузки на биосферу, которое сопровождается снижением агроэкологической надежности растениеводства, придает особое значение таким исследованиям. Экстремальные температуры являются одним из самых распространенных природных стрессоров, которые провоцируют нарушение водного режима, замедляют рост, влияют на урожайность аграрных культур (Hurkman, Wood, 2011; Barlow *et al.*, 2015; Hatfield, Prueger, 2015). Среди компонентов, задействованных в формировании адаптивных реакций, важное место занимают сигнальные соединения, к которым относятся ферменты липоксигеназы (ЛОГ) (Porta, Rocha-Sosa, 2002; Feussner, Wasternack, 2002). Липоксигеназный каскад является источником физиологически активных соединений – оксипинов (Stumpe, Feussner, 2006; Mosblech *et al.* 2009; Savchenko *et al.*, 2014; Babenko *et al.*, 2017). Ключевой фермент каскада – ЛОГ (линолеат: оксидоредуктаза кислорода, ЕС 1.13.11.12) – металлопротеин, катализирующий гидроперекисление полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в липидах, содержащих цис, цис-1,4-пентадиеновые фрагменты. Образование гидропероксидов конъюгированных диенов – основная реакция в каскаде, приводящая к образованию семи энзиматических ветвей (Feussner, Waster, 2002; Andreou, Feussner, 2009; Ivanov *et al.*, 2010; Joo, Oh, 2012; Babenko *et al.*, 2017), конечными продуктами которых являются биологически активные метаболиты (Feussner, Waster, 2002; Meng *et al.*, 2017), вовлекаемые в регуляцию процессов роста, развития а также в формирование соответствующих реакций на сигналы внешней среды и обеспечивающие определенную связь между царствами живых организмов (Van der Ent *et al.*, 2009; Christensen, Kolomiets 2011; Savchenko *et al.*, 2014; Borrego, Kolomiets, 2012, 2016; Babenko *et al.*, 2014, 2017; Wasternack, 2007). Семейство ЛОГ

можно разделить на две группы: 9-ЛОГ и 13-ЛОГ. 9-ЛОГ катализирует реакцию образования 9-гидропероксидов, а 13-ЛОГ – 13-гидропероксидов ПНЖК (Ivanov *et al.*, 2010; Borrego, Kolomiets, 2016). Существование множественных изоформ липоксигеназы и различная субклеточная локализация предполагают полифункциональность этого фермента и вовлечение его в различные процессы в клетке (Kulkarni *et al.*, 2002; Braido *et al.*, 2004; Pokotylo *et al.*, 2015; Babenko *et al.*, 2017). Липоксигеназа найдена более чем у 60 видов живых организмов (Ivanov *et al.*, 2010; Borrego, Kolomiets, 2016). Фермент задействован в образовании вторичных метаболитов, в том числе летучих альдегидов и жасмонатов, выполняющих ключевую роль в формировании защитных реакций растений (Savchenko *et al.*, 2014; Roy *et al.* 2011; Babenko *et al.*, 2015; Tiwari *et al.*, 2016; Babenko *et al.*, 2017; Meng *et al.*, 2017 Wasternack, Song, 2017). Роль других оксипинов в качестве продуктов каскада ЛОГ, так же изучена достаточно подробно. Как электрофильные соединения оксипинов образуют конъюгаты с клеточными нуклеофилами, среди которых тиолы, аминокислоты, нуклеиновые кислоты и протеины (Davoine *et al.*, 2008, Chan *et al.*, 2012). Принимая во внимание, что липоксигеназа как сигнальная молекула участвует в формировании реакций-ответов на стрессорные воздействия, целью настоящей работы было изучение эффектов кратковременной гипо- и гипертермии на активность энзима сортов *Triticum arstivum* L. с различной устойчивостью к абиотическим стрессам.

MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили с 14-дневными растениями озимой пшеницы *Triticum aestivum* L. новых высокопродуктивных сортов украинской селекции Ятрань 60, Володарка и Подольянка (Morgun *et al.*, 2008). Сорт Володарка короткостебельный, высокоинтенсивного типа отличается морозо- и засухоустойчивостью, выращивается в Лесостепи и Полесье. Сорт Ятрань 60 – короткостебельный, интенсивного типа, характеризуется высокой жаро- и засухоустойчивостью, выращивается в Лесостепи,

Полесье и Степной зоне Украины. Экологически пластичный сорт Подолянка – среднерослый, интенсивного типа, универсального использования, характеризуется множественной устойчивостью к абиотическим стрессорам. Откалиброванные семена, промытые в дистиллированной воде, помещали в чашки Петри на увлажненную раствором Кнопа фильтровальную бумагу и переносили в термостат, где они находились в темноте при температуре +24°C в течение суток. Затем чашки Петри с проросшими семенами помещали на 14 суток в камеру искусственного климата при температуре +24°C, освещении 180 мкмоль/м²×сек. Фотопериод составлял 16/8 ч (день/ночь). Для создания условий теплового и холодового стрессов 14-дневные растения подвергали кратковременному (в течение 2 ч) воздействию температур +40°C и +4°C при указанном ранее режиме освещения. Для выделения препарата ЛОГ навески растительного материала гомогенизировали в охлажденном до +4°C 0,1 М фосфатном буфере (рН 6,3), содержащем 2 мМ фенилметилсульфоилфторид (ФМСФ), 0,04% метабисульфит натрия (вес/объем). Гомогенат центрифугировали в течение 30 мин при 4000 x g при температуре + 4°C. Полученный супернатант использовали для определения активности ЛОГ. Для построения кривых рН-зависимости стационарных скоростей реакции липоксигеназного окисления линолевой кислоты использовали 0,1 М натрий-ацетатный (рН 4,0-5,5), 0,1 М натрий-фосфатный (рН 6-8) и 0,1 М боратный (рН 8,0-9,5) буферные растворы. Концентрации линолевой кислоты в реакционной смеси общим объемом 2,5 мл составила 100 мкМ в присутствии 0,02% луброл РХ (вес/объем). Определение активности ЛОГ проводили на спектрофотометре Specord M-40 (Gibian, Vandenberg; 1987). Реакцию инициировала путем добавления 50-100 мкл фермента (концентрация белка составляла 0,5-1,5 мг/мл) и проводили в условиях постоянной температуры 25 ± 0,1°C. За ходом реакции наблюдали, учитывая увеличение оптической плотности реакционной смеси при λ = 235 нм, соответствующей максимальному поглощению сопряженного диенового хромофора в молекуле гидропероксида

линоленовой кислоты, молярный коэффициент экстинкции которого составляет 23000 М⁻¹ см⁻¹ (Gibian, Vandenberg, 1987). Содержание белка определяли по методу (Bradford, 1976). Опыты проводили в двух биологических и трех аналитических повторностях. В каждую биологическую повторность отбирали по 40 растений. При построении кинетических зависимостей использовали средние значения Vst, которые определяли в трех измерениях (разница между величинами составляла не более 5%). Статистическую обработку результатов проводили t-тестом Стьюдента, статистически достоверной считали разницу при p ≤ 0,05. На графиках и диаграммах представлены средние арифметические и их стандартные ошибки.

RESULTS AND DISCUSSION

Синтез сигнальных соединений, задействованных в адаптации растений к стрессам, рассматривается как одна из главных физиологических функций липоксигеназ (Savchenko *et al.*, 2014; Babenko *et al.*, 2017). Изменение липоксигеназной активности, происходящее в процессе онтогенеза, указывает на существование тонких механизмов ее регуляции (Lohelaid *et al.*, 2008, Ghanem *et al.*, 2012). Показано, что управление ЛОГ активностью осуществляется на трансляционном и посттрансляционном уровнях (Pokotylo *et al.*, 2015). Изоформы липоксигеназы являются растворимыми протеинами, которые находятся в строме хлоропластов, вакуолях, цитозоле, митохондриях или липидных телах (Braidot *et al.*, 2004; Pokotylo *et al.*, 2015; Babenko *et al.*, 2017). В противовес этому, субстраты ЛОГ плохо растворимы в водной среде при физиологическом значении рН. Предполагается, что возможным механизмом активации растворимых ЛОГ является их факультативная Ca²⁺-зависимая ассоциация с клеточными мембранами (Youn *et al.*, 2006) Известно, что активность ЛОГ регулируется при помощи фосфорилирования (Thivierge *et al.*, 2010), а также высвобождением больших количеств субстрата ЛОГ – ПНЖК.

В результате проведенных исследований было показано, что в надземной части 14-дневных

растений жароустойчивого сорта Ятрань 60 содержится две изоформы 9-липоксигеназы: ЛОГ-1 со значением pH_{opt} 6,3 и ЛОГ-2 со значением pH_{opt} 5,5, тогда как в корнях локализована одна изоформа со значением pH_{opt} 6,5 (рис. 1).

Активность изоформ ЛОГ-1 и ЛОГ-2 в надземной части растений существенно увеличивалась после кратковременной гипертермии (рис. 2).

Реакция на кратковременное действие низкой температуры была менее выраженной (рис. 2). Рост активности ЛОГ после теплового стресса косвенно указывает на возможность вовлечения продуктов липоксигеназного каскада в процессы формирования адапционных и стабилизационных защитных механизмов у жароустойчивого сорта Ятрань 60.

В надземной части 14-дневных растений морозоустойчивого сорта Володарка также были выявлены две изоформы 9-ЛОГ: ЛОГ-1 (pH_{opt} 7,0) и ЛОГ-2 (pH_{opt} 6,0), в корнях — одна 9-ЛОГ (pH_{opt} 6,5) (рис. 3).

Активность ЛОГ в надземной части и корнях 14-дневных растений морозоустойчивого сорта Володарка значительно увеличивалась после

кратковременной гипертермии. Эффект кратковременного действия низкой температуры был менее выраженным (рис. 4). Рост активности ЛОГ после теплового стресса наблюдался на фоне определённых ультраструктурных изменений, среди которых формированием многочисленных липидных капель в цитоплазме клеток мезофилла листьев (Babenko *et al.*, 2014). Липидные капли, которые до последнего времени рассматривались как депо запасных липидов, согласно новым сведениям позиционируются в качестве участников цитоплазматического сигналинга, осуществляемого благодаря наличию в них целого ряда протеинов, среди которых ЛОГ (Van der Schoot *et al.*, 2011; Rokotylo *et al.*, 2015). У морозоустойчивого сорта Володарка прослеживается определенная связь между увеличением количества липидных капель и ростом ЛОГ активности после гипертермии.

В надземной части 14-дневных растений экологически пластичного сорта Подольянка также были выявлены две изоформы 9-ЛОГ: ЛОГ-1 (pH_{opt} 7,5) и ЛОГ-2 (pH_{opt} 5,5), в корнях — одна 9-ЛОГ (pH_{opt} 6,5) (рис. 5).

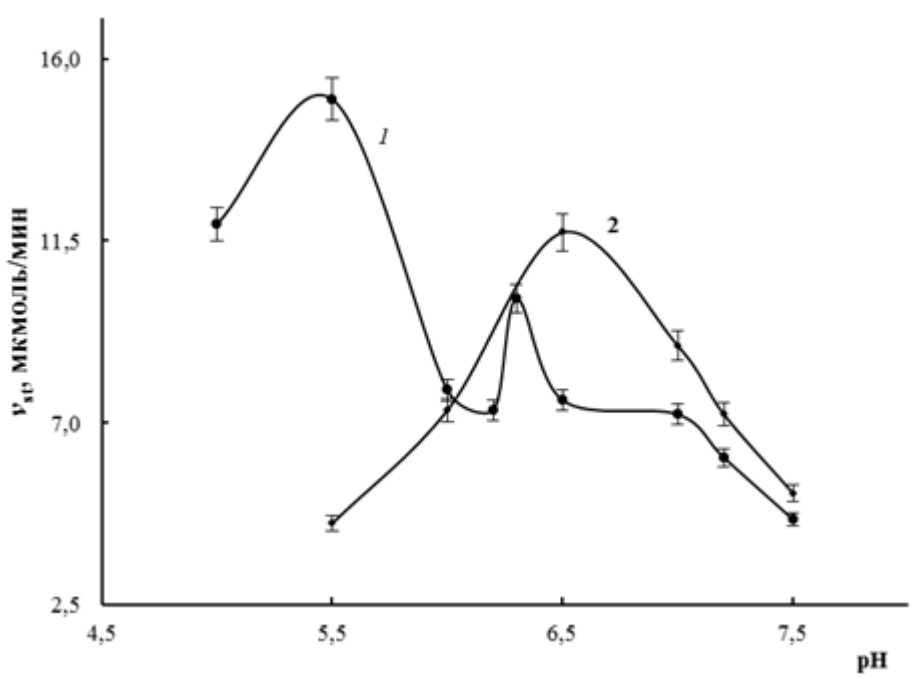


Figure 1. Зависимость стационарной скорости реакции (V_{st}) окисления линолевой кислоты от pH инкубационной среды в надземной части (1) и корнях (2) 14-дневных растений *Triticum aestivum* сорта Ятрань 60.

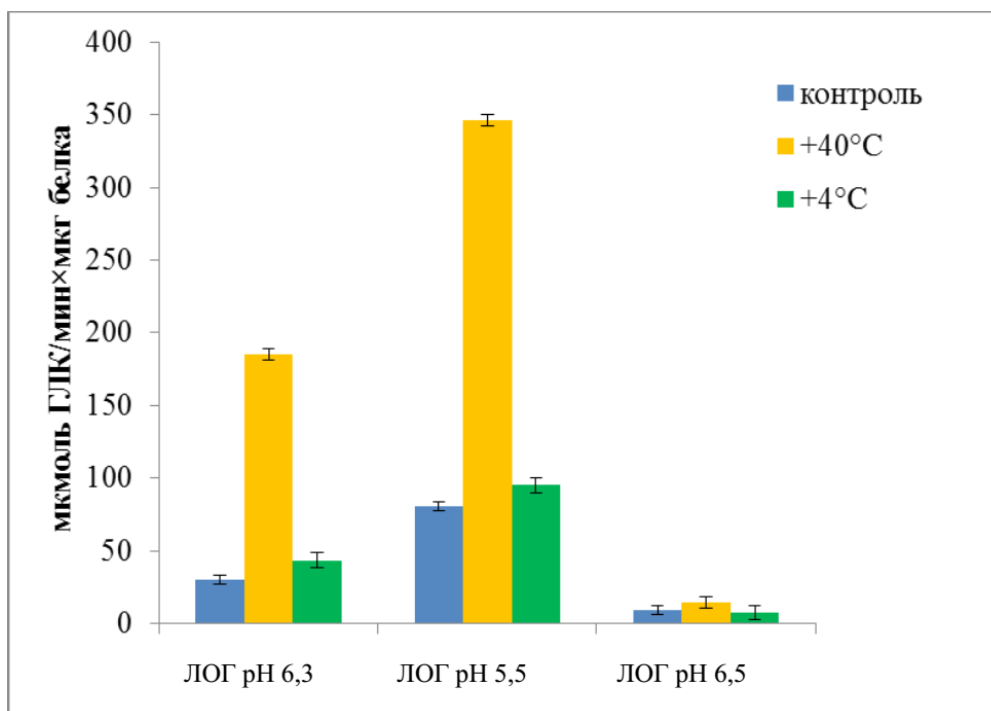


Figure 2. Активность изоформ 9-ЛОГ в надземной части и корнях 14-дневных проростков *Triticum aestivum* сорта Ятрань 60 в контроле и после кратковременного действия высокой и низкой положительной температуры.

*Примечание – тут и в последующих упоминаниях ГЛК – гидропероксид линолевой кислоты.

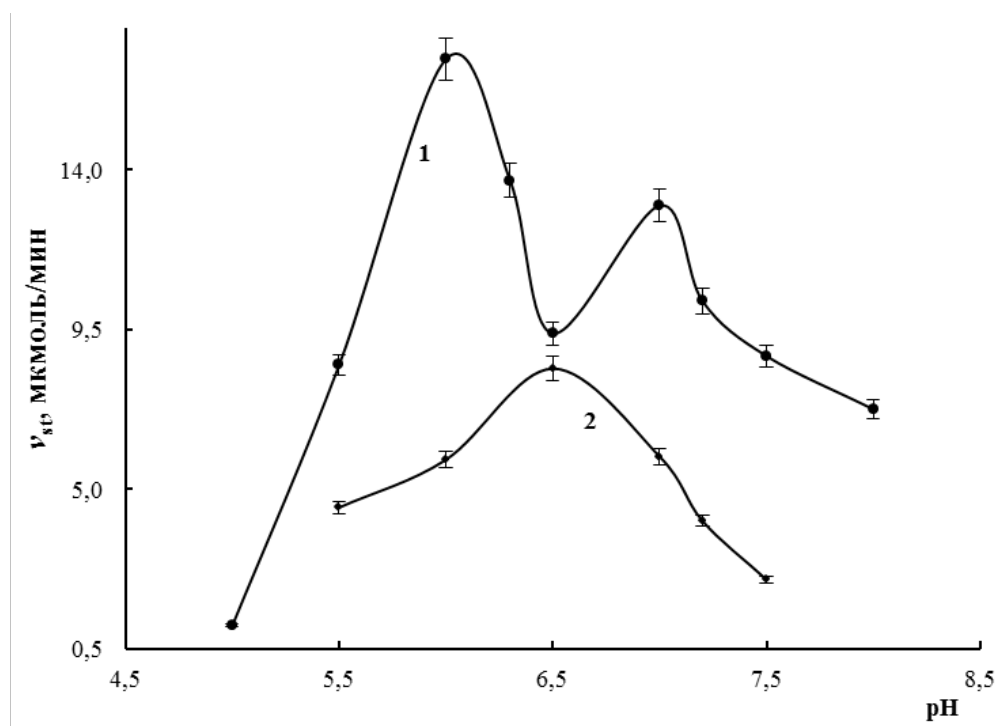


Figure 3. Зависимость стационарной скорости реакции (V_{st}) окисления линолевой кислоты от pH инкубационной среды в надземной части (1) и корнях (2) 14-дневных растений *Triticum aestivum* сорта Володарка.

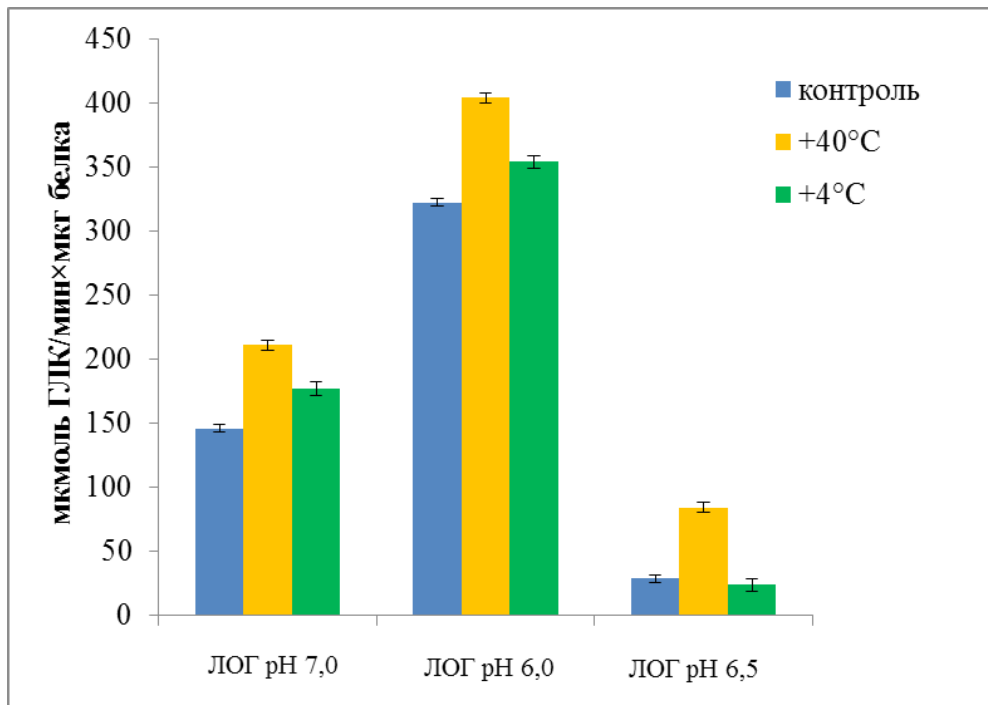


Figure 4. Активность изоформ 9-ЛОГ в надземной части и корнях 14-дневных растений *Triticum aestivum* сорта Володарка в контроле и после кратковременного действия высокой и низкой положительной температуры.

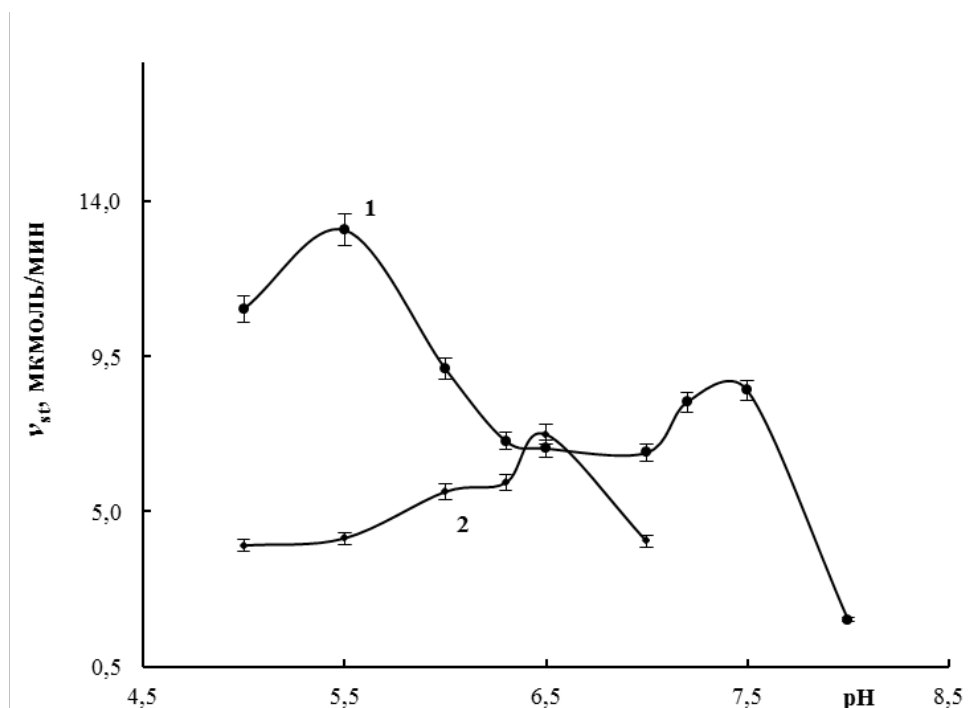


Figure 5. Зависимость стационарной скорости реакции (V_{st}) окисления линолевой кислоты от pH инкубационной среды в надземной части (1) и корнях (2) проростков *Triticum aestivum* сорта Подольянка.

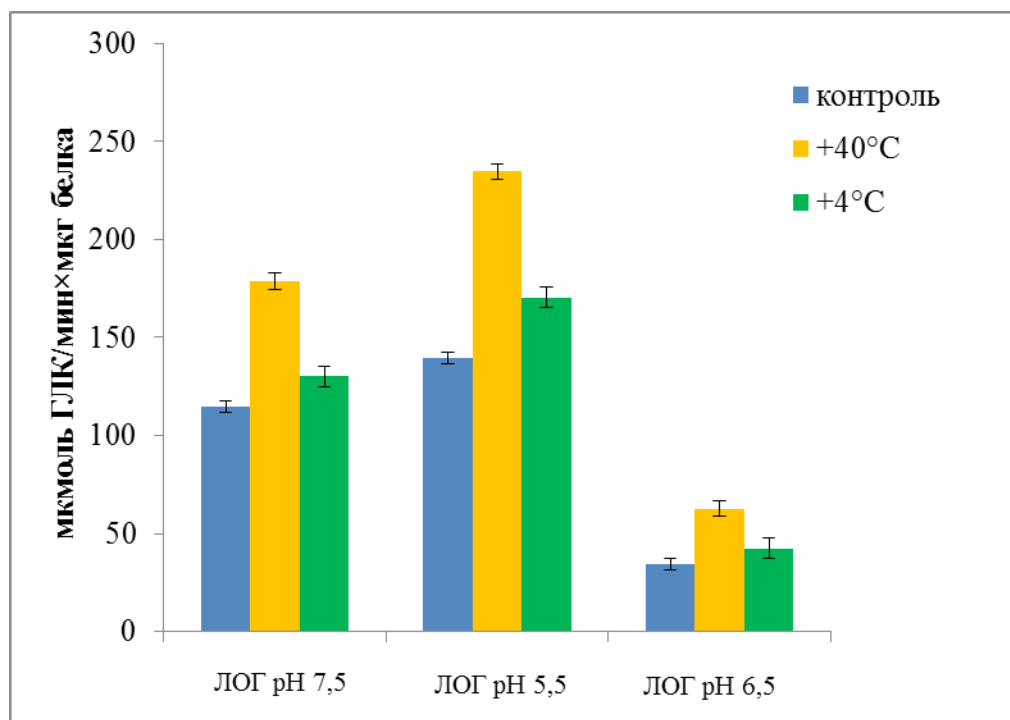


Figure 6. Активность изоформ 9-ЛОГ в надземной части и корнях 14-дневных растений *Triticum aestivum* сорта Подольяна в контроле и после кратковременного действия высокой и низкой положительной температуры.

Так же как и у растений сорта Володарка и сорта Ятрань 60 активность ЛОГ в надземной части и корнях растений универсального сорта Подольянка значительно возрастала после кратковременной гипертермии (рис. 6). Такие изменения в метаболизме наблюдались на фоне изменений ультраструктуры. В строме хлоропластов клеток мезофила листьев при кратковременной гипертермии происходило значительное накопление пластоглобул (данные не опубликованы). Протеомные и ультраструктурные исследования пластоглобул свидетельствуют об их участии в стабилизации тилакоидных мембран при окислительных повреждениях в результате различных стрессов, они являются местом хранения липидообразных веществ (таких как каротиноиды, токоферол, пластохинон) и специфичных для пластоглобул протеинов с энзимными и структурными функциями (Austin *et al.*, 2006; Vidi *et al.*, 2006).

Функционирование 9-ЛОГ ассоциируется преимущественно с цитоплазматической мембраной

(Porta, Rocha-Sosa, 2002). В тоже время 9-ЛОГ активность локализована на мембранах хлоропластов, тонопласте, мембранах липидных капель и митохондрий (Braidot *et al.*, 2004; Pokotylo *et al.*, 2015; Babenko *et al.*, 2017). Активность ЛОГ рассматривают как биологический маркер физиологического состояния растения (Braidot *et al.*, 2004; Babenko *et al.*, 2014). Выявленные в настоящем исследовании изменения в активности ЛОГ позволяют сделать следующие выводы. Неспецифической реакцией на гипертермию и гипотермию оказалось увеличение липоксигеназной активности, как в надземной, так и корневой части растений. Интенсивность реакции на тепловой стресс значительно превышала такую на холодное воздействие. Наиболее выраженной была реакция на гипертермию у жароустойчивого сорта Ятрань 60. Выявленная нами ранее связь между активностью липоксигеназы и теплоустойчивостью сортов *Brassica napus* var. *Oleifera* (Kosakivska *et al.*, 2012), а также представленные в настоящей публикации результаты позволяют рассматривать ЛОГ в качестве возможного маркера теплоустойчивости растений.

ACKNOWLEDGEMENT

Робота виконана в рамках проекту «Фітогормональна система нових генотипів *Triticum aestivum* L. и её диких предков при действии экстремальных климатических факторов», финансированного Национальной академией наук Украины.

REFERENCES

- Andreou A, Feussner I. (2009) Lipoxygenases – Structure and reaction mechanism. *Phytochemistry*, **70(13-14)**, 1504-1510.
- Austin J.R., Frost E., Vidi P.A, Kessler F., Staehelin L.A. (2006) Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes. *PlantCell*, **18**, 1693-1703.
- Babenko L.M., Kosakivska I.V., Skaterna T.D. (2015) Jasmonic acid: a role in the regulation of biotechnology and biochemical processes in plants. *Biotechnologia acta*, **8(2)**, 36-51
- Babenko L.M., Kosakivska I.V., Akimov Yu.A., Klymchuk D.O., Skaternya T.D.(2014) Effect of temperature stresses on pigment content, lipoxygenase activity and cell ultrastructure of winter wheat seedlings. *Genetics and plant physiology*, **4 (1-2)**, 117–125
- Babenko L.M., Shcherbatiuk M.M., Skaterna T.D., Kosakivska I.V. (2017) Lipoxygenases and their metabolites in formation of plant stress tolerance. *Ukr. Biochem. J.*, **89(1)**, 5-21.
- Barlow K.M., Christy B.P., O'Leary G.J., Riffkin P.A., Nuttall J.G. (2015) Simulating the impact of extreme heat and frost events on wheat crop production: a review. *Field Crops Res.*, **17**, 109–119
- Borrego E.J., Kolomiets M.V. 2016 Synthesis and Functions of Jasmonates in Maize. *Plants.*, **5(4)**, 41–69.
- Borrego E.J., Kolomiets M.V. (2012) Lipid-mediated signaling between fungi and plants. In *Biocommunication of Fungi*; Springer: New York, NY, USA, 249–260.
- Bradford M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72(2)**, 248 – 254.
- Braidot E., Petrusa E., Micolini S. (2004) Biochemical and immunochemical evidences for the presence of lipoxygenase in plant mitochondria. *J. Exp. Bot.*, **55(403)**, 1655–1662
- Chan T., Shimizu Y., Pospíšil P., Nijo N., Fujiwara A., Taninaka Y. (2012) Control of photosystem II: Lipid peroxidation accelerates photoinhibition under excessive illumination. *PLoS ONE.*, **7(12)**, 52100.
- Christensen S.A., Kolomiets M.V. (2011) The lipid language of plant-fungal interactions. *Fungal Genet. Biol.*, **48**, 4–14.
- Davoine C., Falletti O., Douki T., Iacazio G., Ennar N., Montillet J.-L., Triantaphylidès C. (2006) Adducts of oxylipin electrophiles to glutathione reflect a 13 specificity of the downstream lipoxygenase pathway in the tobacco hypersensitive response. *Plant Physiol.*, **140(4)**, 1484-1493.
- Feussner I., Wasternack C. (2002) The lipoxygenase pathway. *Annu. Rev. Plant Biol.* **53**, 275–297.
- Ghanem M. E., Ghars M. A., Frettinger P., PérezAlfocea F., Lutts S., Wathelet J.-P., du Jardin P., Fauconnier M.-L. (2012) Organ-dependent oxylipin signature in leaves and roots of salinized tomato plants (*Solanum lycopersicum*). *J. Plant Physiol.*, **169(11)**, 1090-1101.
- Gibian M.J., Vandenberg P. (1987) Product yield in oxygenation of linoleate by soybean lipoxygenase: The value of the molar extinction coefficient in the spectrophotometric assay. *Anal. Biochem.*, **163(2)**, 343–349.
- Hatfield J., Prueger J. (2015) Temperature extremes: Effect on plant growth and development. *Weather and Climate Extremes.*, **10**, 4–10.
- Hurkman W.J., Wood D.F. (2011) High temperature during grain fill alters the morphology of protein and starch deposits in the starchy endosperm cells of developing wheat (*Triticum aestivum* L.) grain. *J. Agric. Food Chem.* **59(9)**, 4938–4946.
- Ivanov I, Heydeck D, Hofheinz K, Roffeis J, O'Donnell VB, Kuhn H, Walther M. (2010) Molecular

- enzymology of lipoxygenases. *Arch Biochem Biophys.* **503(2)**, 161-174.
- Joo Y-C., Oh D-K. (2012) Lipoxygenases: Potential starting biocatalysts for the synthesis of signaling compounds. *Biotechnol. Advances.* **30**, 1524–1532.
- Kosakivska I.V., Babenko L.M., Ystinova A.U., Skaterna T.D., Demievska K. (2012) The influence of temperature conditions on lipoxygenase activity in seedling of rape *Brassica napus* var. Oleifera. *Dopovidi Nats. Acad. Nauk Ukrainy.*, **6**, 134–137 (In Ukrainian).
- Kulkarni S., Das S., Funk C. (2002) Molecular basis of the specific subcellular localization of the C2-like domain of 5-lipoxygenase. *J. Biol. Chem.*, **277(15)**, 13167–13174.
- Lohelaid H., Järving R., Valmsen K., Varvas K., Kreen M., Järving I., Samel N. (2008) Identification of a functional allene oxide synthase–lipoxygenase fusion protein in the soft coral *Gersemia fruticosa* suggests the generality of this pathway in octocorals. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1780(2)**, 315-321. (In Ukrainian).
- Meng K., Hou Y., Han Y, Ban Q., He Y., Suo J., Rao J. (2017) Exploring the Functions of 9-Lipoxygenase (*DkLOX3*) in Ultrastructural Changes and Hormonal Stress Response during Persimmon Fruit Storage *Int. J. Mol. Sci.*, **18(3)**, 589-592.
- Morgun V.V., Sanin E.V., Shvartau V.V. (2009) The club has 100 centners. Varieties and technologies of cultivation of high harvests of winter wheat. Kyiv: Logos.: 87p. (In Ukrainian).
- Mosblech A., Feussner I., Heilmann I. (2009) Oxylipins: structurally diverse metabolites from fatty acid oxidation. *Plant Physiol. Biochem.*, **47**, 511–517.
- Pokotylo IV, Kolesnikov YS, Derevyanchuk MV, Kharitonenko AI, Kravets V.S. (2015) Lipoxygenases and plant cell metabolism regulation. *Ukr Biochem J.* **87(2)**, 41-55. (In Russian).
- Porta H., Rocha-Sosa M. (2002) Plant lipoxygenases. Physiological and molecular features. *Plant Physiol.*, **130(1)**, 15–21.
- Roy S., Maheshwari N, Chauhan R., Kumar Sen N. (2011) Structure prediction and functional characterization of secondary metabolite proteins of *Ocimum*. *Bioinformation.* **6(8)**, 315–319.
- Savchenko T.V., Zastrijnaja O.M., Klimov V.V. (2014) Oxylipins and Plant Abiotic Stress Resistance. *Biochemistry (Mosc.)*, **79(4)**, 362-375.
- Stumpe M, Feussner I. (2006) Formation of oxylipins by CYP74 enzymes. *Phytochemical Reviews*, **5**, 347–357.
- Thivierge K., Prado A., Driscoll B. T., Bonneil É., Thibault P., Bede J. C. (2010) Caterpillar and salivary-specific modification of plant proteins. *J. Proteome Res.*, **9(11)**, 5887-5895.
- Tiwari A., Avashthi H, Jha R., Srivastava A., Garg V., Pramod Ramteke W., Kumar A. (2016) Insights using the molecular model of Lipoxygenase from Finger millet (*Eleusine coracana* (L.)) *Bioinformation*, **12(3)**, 156–164.
- Van der Ent S., Van Wees S. C., Pieterse C. M. (2009) Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbe. *Phytochemistry*, **70**, 1581-1588
- Van der Schoot C., Paul L., Paul S., Rinne P. (2011) Plant lipid bodies and cell-cell signaling. A new role for an old organelle? *Plant Signal Behav.*, **6(11)**, 1732–1738.
- Vidi P.A, Kanwischer M., Baginsky S., Austin J.R., Csucs G., Dormann P., Kessler F, Brehein C. (2006) Tocopherol cyclase (VTE1) localization and vitamin E accumulation in chloroplast plastoglobule lipoprotein particles. *J Biol Chem.*, **281(16)**, 11225-11234.
- Wasternack C. (2007) Jasmonates: an update on biosynthesis, metabolism, and signaling by proteins activating and repressing transcription. *Ann Bot.*, **100(4)**, 681-697.
- Youn B., Sellhorn G. E., Mirchel R. J., Gaffney B. J., Grimes H. D., Kang C. (2006) Crystal structures of vegetative soybean lipoxygenase VLX-B and VLX-D, and comparisons with seed isoforms LOX-1 and LOX-3. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics.*, **65(4)**, 1008-1020.