

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕНИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ *SOLANUM TUBEROSUM* L. БРАССИНОСТЕРОИДАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ВОЗДЕЙСТВИЯ

М.В. Ефимова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия, stevmv555@gmail.com

Аннотация. Исследовали способность brassinosteroidов (на примере brassinolidа, 24-эпибрасинолида и 28-гомобрасинолида) повышать устойчивость растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) к солевому стрессу и возможные механизмы их защитного действия. Впервые установлена специфика протекторного эффекта brassinosteroidов в зависимости от химической структуры, концентрации используемых гормонов и продолжительности воздействия.

Ключевые слова: brassinolid, 24-эпибрасинолид, 28-гомобрасинолид, продолжительность воздействия, гидропонная культура картофеля

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-316-320

В последнее время отмечается существенное снижение продуктивности сельскохозяйственных культур, связанное с расширением засоленных территорий. Значительная часть засоленных площадей возникла естественным путем в зонах с засушливым климатом в результате накопления солей, главным образом, за счет выветривания родительских пород. Другой причиной избыточного засоления почв является интенсивная антропогенная деятельность, в первую очередь, орошение [Shahid, Rahman, 2011]. Наиболее распространено засоление, вызываемое хлоридом натрия; оно же оказывает наибольший негативный эффект на растения [Munns, Tester, 2008].

В основе негативного действия высоких концентраций солей лежит нарушение осмотического статуса и ионного гомеостаза растений, а также проявление токсического действия неорганических ионов на клеточный метаболизм [Zhang, Shi, 2013; Gupta, Huang, 2014]. Помимо этого, засоление вызывает генерацию активных форм кислорода и развитие окислительного стресса [Ефимова и др., 2014; Schmitt et al., 2014].

Важную роль в регуляции клеточного гомеостаза в оптимальных условиях произрастания и при стрессе играют вещества гормональной природы. Одним из способов защиты растений от избыточного засоления может быть использование экзогенных фитогормонов, среди которых наибольший интерес представляют стероидные гормоны растений – brassinosteroidы (БС). Среди преимуществ БС можно отметить их экологическую безопасность и способность вызывать биологические эффекты в очень низких концентрациях по сравнению с другими группами растительных гормонов [Khrirach et al., 2003]. Brassinosteroidы оказывают всестороннее влияние на развитие растений в процессе их онтогенеза. Известно, что они изменяют активность ферментов, мембранный потенциал, активируют синтез белков и нуклеиновых кислот, регулируют экспрессию пластидных генов, метаболизм аминокислот и жирных кислот, влияют на гормональный статус организма. Эти сдвиги на клеточном уровне отражаются на уровне целого растения усилением роста и повышением продуктивности [Choudhary et al., 2012; Efimova et al., 2017; Fridman, Savaldi-Goldstein, 2013; Siddiqui et al., 2018]. Весьма существенно, что brassinosteroidы увеличивают устойчивость ряда растений к неблагоприятным

температурам, высокому содержанию в почве тяжелых металлов, избыточному засолению и др. [Ефимова и др., 2014; Fariduddin et al., 2014]. Вместе с тем, механизмы стресс-протекторного, в том числе, и солезакщитного действия стероидных фитогормонов в настоящее время изучены недостаточно. Кроме того, защитный эффект гормонов обычно оценивают при его совместном действии с повреждающим фактором [Fariduddin et al., 2014; Siddiqui et al., 2018]. Имеются немногочисленные работы, в которых предпринимаются попытки более фундаментального подхода при изучении гормональной регуляции физиологических процессов при стрессе у растений [Ефимова и др., 2016, 2018a; Кузнецов и др., 2016].

В качестве объектов исследования использовали растения *Solanum tuberosum* L., отличающиеся сроками созревания – раннеспелые (Жуковский ранний и Ред Скарлетт) и среднеспелые (Луговской и Накра) сорта. Исходные оздоровленные материнские микроклоны *S. tuberosum* были получены из Всероссийского научно-исследовательского института картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха (п. Коренёво, Россия). Культивирование микрочеренков *in vitro* осуществляли на модифицированной агаризованной безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга (рН=5.8) с добавлением витаминов и сахарозы. Продолжительность культивирования для сортов Жуковский, Луговской и Ред Скарлетт составляла 23 дня, для сорта Накра – 30 суток. Микроклоны выращивали под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой 16±2 °С. Корни растений отмывали от агаризованной среды и проводили двухнедельную адаптацию микроклонов к жидкой среде МС и условиям воздушной среды под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой 20±3 °С.

Нами проведена серия экспериментов по влиянию трех основных БС (брасинолид, 24-эпибрасинолид и 28-гомобрасинолид), отличающихся как по количеству атомов углерода в молекуле, так и по конфигурации заместителей в боковой цепи, на рост и развитие растений картофеля. В первой серии экспериментов оценивали эффекты, достигаемые от воздействия стероидных гормонов на разных этапах адаптационного процесса – до начала действия стрессора (этап преадаптации), одновременно с началом действия стрессора (период стресса) или после действия стрессора (этап восстановления). Продолжительность каждого этапа составляла 4 суток. Во второй серии экспериментов анализировали эффект кратковременного (4 ч) воздействия гормонами до начала действия стрессора. Стероидные гормоны растений были любезно предоставлены академиком В.А. Хрипачом (Институт биоорганической химии НАН Беларуси).

Ответные реакции растений картофеля на воздействие экзогенных стероидных гормонов оценивали по общепринятым ростовым критериям – сырой и сухой биомассе, линейным размерам побега и корня, суммарной площади ассимилирующей поверхности, количеству столонов. Кроме того, определяли ряд физиологических показателей – содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов), уровень осмотического стресса (содержание осмолитов и осмотический потенциал клеточного экссудата), интенсивность окислительного стресса (уровень перекисного окисления липидов, содержание низкомолекулярных антиоксидантов и активность антиоксидантных ферментов), накопление ионов натрия, калия и кальция в надземных и подземных частях растений.

Подробное описание отрицательного воздействия хлоридного засоления на ростовые и физиологические показатели *S. tuberosum* приводится в публикации [Ефимова и др., 2018b].

Эффективность стероидных гормонов при хлоридном засолении определялась их химической структурой и способом воздействия. Введение стероидных гормонов в питательную среду при стрессе или после действия стрессора приводило к увеличению количества столонов по сравнению с действием одного стрессора; содержание фотосинтетических пигментов при этом увеличивалось, показатели осмотического потенциала клеточного экссудата приближались к контрольным значениям. Содержание совместимого осмолита пролина, обладающего выраженными свойствами антиоксиданта и химического шаперона, при стрессе в ответ на экзогенное воздействие brassinosteroidов или увеличивалось (в случае внесения brassinolidа или гомобрассинолида в среду на этапе восстановления), или снижалось (если гомобрассинолид или эпибрассинолид добавляли в питательную среду на этапе преадаптации). Вероятно, протекторный эффект brassinosteroidов реализовался на уровне регуляции ионного гомеостаза. Стероидные гормоны снижали накопление натрия в корнях в 1.5-2 раза в зависимости от химической структуры и способа обработки, при этом, в побегах концентрация ионов натрия уменьшалась не значительно. Скорее всего, БС регулировали поступление ионов натрия в растение и/или их перераспределение по органам.

При хлоридном засолении для раннеспелых сортов картофеля наиболее эффективным гормоном в снижении негативного влияния соли был эпибрассинолид. Для среднеспелых сортов максимальный протекторный эффект проявляли эпибрассинолид и brassinolid. Возможно, выраженный защитный эффект для brassinolidа и эпибрассинолида связан с тем, что они имеют сходную структуру – количество атомов углерода в молекуле (28) и заместители в боковой цепи (метильная группа в 24 положении углерода), в то время как 28-гомобрассинолид отличается большим количеством атомов углерода (29) и иным заместителем в боковой цепи (этильная группа в 24 положении углерода).

Наибольший положительный эффект brassinolidа при интенсивном хлоридном засолении для среднеспелых сортов картофеля отмечен при продолжительном воздействии гормона на этапах стрессорного воздействия или восстановления.

Кратковременное (4 ч) внесение стероидных гормонов в питательную среду в значительной степени снижало отрицательное воздействие засоления на ростовые показатели, такие как: число столонов, суммарная листовая поверхность и сырая масса растений, что свидетельствует о повышении солеустойчивости растений. Экзогенное внесение гормонов во всем диапазоне исследуемых концентраций на фоне засоления (100 мМ NaCl) снижало уровень малонового диальдегида, что свидетельствует о замедлении процесса перекисного окисления липидов и падении интенсивности окислительного стресса и является одной из вероятных причин повышения солеустойчивости растений. Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и каротиноидов) также возрастало при обработке растений эпибрассинолидом (от 10^{-10} до 10^{-8} М) и ГБЛ (10^{-9} и 10^{-8} М) в условиях засоления, достигая в ряде случаев контрольных значений.

Таким образом, нами впервые была установлена специфика защитного действия brassinosteroidов при хлоридном засолении в зависимости от химической структуры, концентрации используемых гормонов и продолжительности воздействия.

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда (РНФ) №16-16-04057.

Литература

Ефимова М.В., Савчук А.Л., Хасан Дж.А.К., Литвиновская Р.П., Хрипач В.А., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы повышения

солеустойчивости растений рапса brassиностероидами // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 6. – С. 778–789.

Ефимова М.В., Хрипач В.А., Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Мурган О.К., Видершпан А.Н., Мухаматдинова Е.А., Кузнецов Вл.В. Индуцированный brassиностероидами прайминг растений картофеля снижает окислительный стресс и повышает солеустойчивость // Доклады Академии Наук. Общая биология. – 2018а. – Т. 478, № 6. – С. 723–726.

Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Головацкая И.Ф., Мурган О.К., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // Физиология растений. – 2018b. – Т. 65, № 3. – С. 196–206.

Кузнецов Вл.В., Ефимова М.В., Хасан Ж., Холодова В.П., Хрипач В.А. Способ повышения устойчивости растений рапса к интенсивному хлоридному засолению 24-эпибрассинолидом // Патент РФ № 2603091. – 2016 г.

Choudhary S.P., Yu J.Q., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., Lam-Son P.T. Benefits of brassinosteroid crosstalk // Trends in Plant Sci. – 2012. – V. 17. – P. 594–605.

Efimova M.V., Vankova R., Kusnetsov V.V., Litvinovskaya R.P., Zlobin I.E., Dobrev P., Vedenicheva N.P., Sauchuk A.L., Karnachuk R.A., Kudryakova N.V., Kuznetsov V.V. Effects of 24-epibrassinolide and green light on plastid gene transcription and cytokinin content of barley leaves // Steroids. – 2017. – V. 120. – P. 32–40.

Fariduddin Q., Yusuf M., Ahmad I., Ahmad A. Brassinosteroids and their role in response of plants to abiotic stresses // Biol. Plant. – 2014. – V. 58. – P. 9–17.

Fridman Y., Savaldi-Goldstein S. Brassinosteroids in growth control: How, when and where // Plant Sci. – 2013. – V. 209. – P. 24–31.

Gupta B., Huang B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization // Int. J. Genom. – 2014. – P. 1–18.

Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Khripach N.B. New practical aspects of brassinosteroids and results of their ten-year agricultural use in Russia and Belarus // Brassinosteroids. Bioactivity and Crop Productivity / Eds. Hayat S., Ahmad A. Dordrecht: Kluwer, 2003. – P. 189–230.

Munns R., Tester, M. Mechanisms of salinity tolerance // Annu. Rev. Plant Biol. – 2008. – V. 59. – P. 651–681.

Schmitt Fr.J., Renger G., Friedrich T., Kreslavski V.D., Zharmukhamedov S.K., Los D.A., Kuznetsov V.I., Allakhverdiev S.I. Reactive oxygen species: re-evaluation of generation, monitoring and role in stress-signaling in phototrophic organisms // Biochim. Biophys. Acta. – 2014. – V. 1837. – P. 835–848.

Siddiqui H., Hayat S., Bajguz A. Regulation of photosynthesis by brassinosteroids in plants // Acta Physiologiae Plantarum. – 2018. – V. 40:59.

Shahid S.A., Rahman K. Soil salinity development, classification, assessment, and management in irrigated agriculture // Handbook of Plant and Crop Stress / Ed. Pessarakli M. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011. – P. 23–38.

Zhang J.L., Shi H. Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance // Photosynth. Res. – 2013. – V. 115. – P. 1–22.

**PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF INCREASING THE SALT RESISTANCE
OF *SOLANUM TUBEROSUM* L. PLANTS BY BRASSINOSTEROIDS
AS DEPENDENT FROM THE EXPOSURE PATHWAYS**

M.V. Efimova

Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation, *stevmv555@gmail.com*

Abstract. The ability of brassinosteroids, such as brassinolide, 24-epibrassinolide and 28-homobrassinolide to increase the resistance of potato plants (*Solanum tuberosum* L.) to salt stress was investigated along with the possible mechanisms of their protective action. For the first time, the specificity of the protective effect of brassinosteroids from their chemical structure, the concentration of them and the duration of the exposure was established.

Keywords: *brassinolide, 24-epibrassinolide, 28-homobrassinolide, duration of the exposure, hydroponic culture of potato*