

## БРАССИНОСТЕРОИДЫ. НОВЫЙ АСПЕКТ В РЕГУЛЯЦИИ ФИТОИММУНИТЕТА

Е.О. Федина, А.Ю. Ярин, И.Р. Чечёткин

Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия, [solo\\_nika@mail.ru](mailto:solo_nika@mail.ru)

**Аннотация.** В работе изучалось влияние стероидного фитогормона 24-эпибрассинолида на содержание и состав сложных оксипиринов в листьях льна. В растениях, обработанных фитогормоном, а также инфицированных *Pectobacterium atrosepticum*, происходило увеличение содержания линолипинов (галактолипидов, содержащих остатки дивиниловых эфиров). Гормональная предобработка растений с последующим их инфицированием вызывала существенное накопление линолипинов по сравнению с другими вариантами. Полученные данные предполагают, что брассиностероиды могут участвовать в процессах формирования фитоиммунитета через регуляцию дивинилэфирсинтазного пути липоксигеназного каскада.

**Ключевые слова:** линолипины, галактолипиды, брассиностероиды, фитоиммунитет

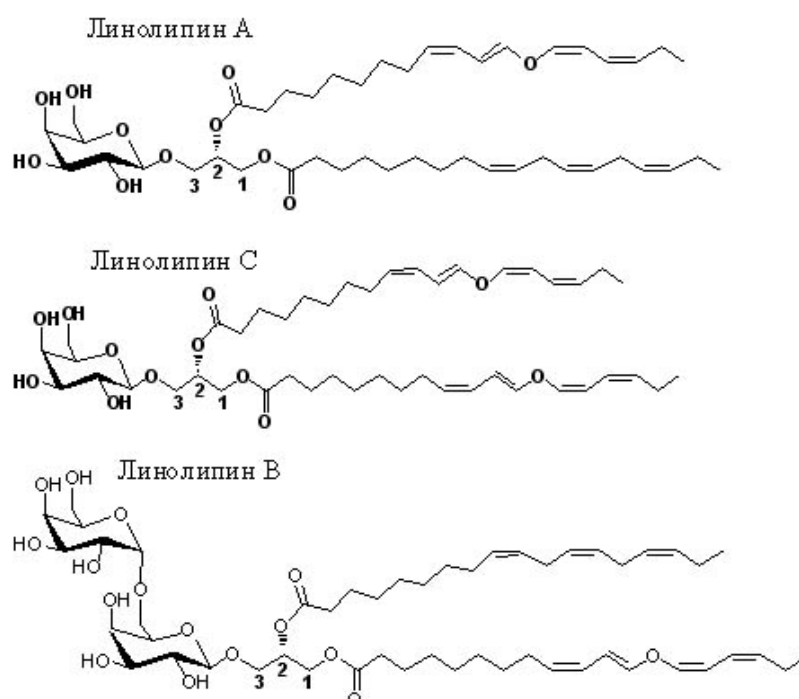
**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-769-772

Растения выработали ряд защитных механизмов, в которых фитогормоны играют важную роль в защите от патогенов. В настоящее время показано, что существенными регуляторами растительно-микробных взаимодействий могут быть такие фитогормоны, как брассиностероиды (БС). Предлагается, что эти гормоны оказывают положительную или отрицательную роль в возникновении болезни и взаимодействуют с СА-ЖК-этилен сигнальной системой. Однако, их общий механизм действия не совсем понятен.

БС – группа стероидных гормонов растений, обладающая широким спектром физиологических ответов. В последнее время показано их участие в защите растений на широкий спектр стрессоров. Было продемонстрировано, что экзогенная обработка биологически наиболее активным БС, брассинолидом (БЛ), повышает устойчивость растений табака к вирусу табачной мозаики, бактериальному возбудителю рода *Pseudomonas syringae*, грибковой инфекции *Oidium sp.*, а также к патогенам *Magnaporthe grisea* и *Xanthomonas oryzae* в растениях риса [Nakashita et al., 2003]. Результаты полевых и тепличных опытов продемонстрировали защитные эффекты экзогенных БС к широкому спектру грибковых, вирусных и бактериальных патогенов [Bajguz and Najat, 2009]. Молекулярные изменения, связанные с БС-индуцированными защитными реакциями растений не отображают первичные ответы, исключительно связанные только с БС. Результаты исследований убедительно свидетельствуют, что механизм, с помощью которого БС вызывает чувствительность или устойчивость растения к возбудителю зависит от концентрации гормона и времени воздействия, и включает в себя активацию или подавление путей других гормонов. В целом, вопросы взаимодействия и общего механизма гормонального пути БС, а также его роли в механизмах системной и локальной (очаговой) защиты остаются открытыми для дальнейшего изучения у растений.

В процессе совместной эволюции растений и окружающих их микроорганизмов растения выработали механизмы распознавания чужеродных организмов, включающие запуск сигнальных систем, оповещающих растение о присутствии патогенов, а также индукцию синтеза антипатогенных метаболитов. Активация окислительного метаболизма мембранных липидов приводит к образованию оксипиринов и является одной из стратегий, используемых растениями при инфицировании патогенами. За последние годы в листьях ряда растений обнаружили и охарактеризовали так

называемые сложные оксилипины, т.е. оксилипины, входящие в состав галактолипидов мембран хлоропластов – моногалактозилдиацилглицеринов (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицеринов (ДГДГ). Ранее в нашей лаборатории обнаружили новую группу сложных оксилипинов льна – линолипины, определили их строение, а также изучили пути биосинтеза и катаболизма. Показано, что линолипины С и D представляют собой ДГДГ, а линолипины В и А – МГДГ, этерифицированные одним или двумя остатками ( $\omega 5Z$ )-этероленовой кислоты и являются запасной формой соединений, обладающих антибактериальной активностью [Chechetkin et al., 2009, 2013] (рис. 1). В настоящее время остается открытым вопрос гормональной регуляции биосинтеза сложных оксилипинов. Показано, что экспрессия одного из ферментов, катализирующих синтез сложных оксилипинов может регулироваться brassinosteroids.



**Рис. 1.** Линолипины листьев льна – сложные галактолипиды, содержащие в своей структуре этерифицированные остатки дивинилового эфира ( $\omega 5Z$ )-этероленовой кислоты [Chechetkin et al., 2009, 2013].

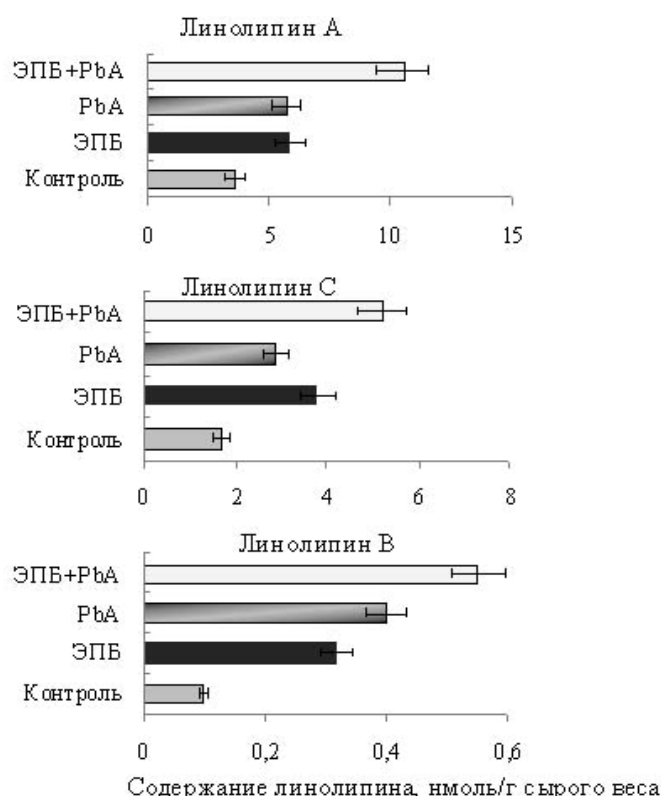
В работе изучалось влияние стероидного фитогормона 24-эпибрасинолида (ЭПБ) на профили линолипинов при инфицировании растений льна бактерией *Pectobacterium atrosepticum*.

Объектом исследования являлись растения льна (*Linum usitatissimum* L.), выращенные в условиях вегетативного опыта на площадке Казанского института биохимии и биофизики КазНЦ РАН. За 24 ч до инфицирования опытные растения опрыскивали 24-эпибрасинолидом в концентрации 0.1 мкМ. Затем растения инфицировали патогенной энтеробактерией *Pectobacterium atrosepticum* (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* штамм SCRI1043). Листья льна фиксировали в жидком азоте через 4 ч после инфицирования. Контрольными растениями являлись неинфицированные и необработанные фитогормоном растения.

Для получения гликолипидной фракции листья льна кипятили в изопропанол с добавлением бутилгидрокситолуола (0.025%) 10 мин, затем гомогенизировали. Гомогенат центрифугировали при 6000g 5 мин. Фракцию гликолипидов отделяли от

остальных классов липидов методом колоночной хроматографии с использованием силикагеля (размер пор 0,06-0,2 мм). Гликолипиды элюировали смесью ацетон:метанол (9:1). Разделение гликолипидов осуществляли с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ. Линолипины имели максимум поглощения в области 268 нм.

Было выявлено, что в контрольных растениях наибольшим содержанием среди выявленных оксипинов отличался линолипин А. Содержание линолипина В было наименьшим по сравнению с другими идентифицированными линолипинами (рис. 2). Инфицирование листьев бактерией приводило к увеличению содержания всех идентифицированных оксипинов. Особенно сильно по сравнению с контролем повышалось содержание линолипина В (рис. 2). Фитогормон проявлял эффект, сходный с инфицированием: вызывал увеличение содержания всех линолипинов. Гормональная предобработка растений с последующим их инфицированием вызвала существенное накопление линолипинов по сравнению с другими вариантами (рис. 2).



**Рис. 2. Влияние 24-эпибрассинолида на содержание линолипинов в листьях растений льна. За 24 ч до инфицирования опытные растения опрыскивали ЭПБ в концентрации 0.1 мкМ. Затем растения инфицировали патогенной энтеробактерией *Pectobacterium atrosepticum* (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* штамм SCRI1043). Контрольными растениями являлись неинфицированные и необработанные фитогормоном растения.**

Полученные нами данные о повышении содержания сложных оксипинов, содержащих дивиниловые эфиры, под влиянием ЭПБ в инфицированных растениях впервые выявили, что брассиностероиды могут участвовать в процессах формирования фитоиммунитета через регуляцию дивинилэфирсинтазного пути липоксигеназного каскада. Повышение содержания линолипинов при действии ЭПБ может свидетельствовать о положительном влиянии стероидных фитогормонов на содержание и/или активность ферментов, катализирующих образование сложных оксипинов. Более того, резкое повышение содержания линолипина В в гормон-индуцированных и

инфицированных листьях по сравнению с контролем, вероятно, указывает на активацию фитогормоном и *P. atrosepticum* липаз/ацилтрансфераз, катализирующих встраивание этеролоеновой кислоты в МГДГ в sn-2 положении. Однако, в литературе информация о потенциальных ферментах-кандидатах, участвующих в этерификации дивиниловых эфиров с образованием сложных оксипинов, отсутствует. Также не изучены механизмы регуляции образования сложных оксипинов, содержащих дивиниловые эфиры.

Полученные нами первичные данные о повышении содержания линолипинов под влиянием стероидного фитогормона 24-эпибрассинолида предполагают регуляторную роль этих фитогормонов в механизмах образования сложных оксипинов при патогенезе растений.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №16-04-01553.*

#### Литература

Bajguz A., Hajat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses // Plant Physiol Biochem. – 2009. – V. 47 – P. 1–8.

Chechetkin I.R., Blufard A.S., Khairutdinov B.I., Mukhitova F.K., Gorina S.S., Yarin A.Y., Antsygina L.L., Grechkin A.N. Isolation and structure elucidation of linolipins C and D, complex oxylipins from flax leaves // Phytochemistry. – 2013. – V. 96. – P. 110–116.

Chechetkin I.R., Mukhitova F.K., Blufard A.S., Yarin A.Y., Antsygina L.L., Grechkin A.N. Unprecedented pathogen-inducible complex oxylipins from flax – linolipins A and B // FEBS J. – 2009. – V. 276. – P. 4463–4472.

Nakashita H.I., Yasuda M., Nitta T., Asami T., Fujioka S., Arai Y., Sekimata K., Takatsuto S., Yamaguchi I., Yoshida S. Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice // Plant J. – 2003. – V. 33. – P. 887–898.

### BRASSINOSTEROIDS: A NEW ASPECT OF PHYTOIMMUNITY REGULATION

E.O. Fedina, A.Yu. Yarin, I.R. Chechetkin

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Center of the Russian Academy of sciences, Kazan, Russia, *solo\_nika@mail.ru*

**Abstract.** It was studied the effect of steroid phytohormone 24-epibrassinolide on the content and composition of complex oxylipins in flax leaves. The increase in content of linolipins, i.e. galactolipids containing divinyl ether residues, was observed in plants treated with the plant hormone as well as inoculated with *Pectobacterium atrosepticum*. The treatment of plants with phytohormone prior to their inoculation resulted in the significant accumulation of linolipins compared to other variants. These data revealed that brassinosteroids can participate in the processes of the formation of phytoimmunity through the regulation of divinyl ether synthase branch of lipoxygenase pathway.

**Keywords:** *linolipins, galactolipids, brassinosteroids, phytoimmunity*