



УДК 577.17.05

М. В. Деревянчук, Р. П. Литвиновская, А. Л. Савчук,
академик НАН Беларуси В. А. Хрипач, В. С. Кравец

Влияние ауксинового производного брассиностероида на регуляцию роста и развития растений в условиях солевого стресса

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины А. И. Вовком)

Установлено влияние нового синтетического производного брассиностероидов, модифицированного остатком индолилуксусной кислоты, на регуляцию роста и развития растений *Arabidopsis thaliana* и *Triticum aestivum* в условиях солевого стресса. Показано, что новый эфир обладает повышенной способностью стимулировать рост и развитие клеток растений в условиях засоления, что может быть обусловлено кроссгормональными взаимодействиями.

Брассиностероиды (БС) являются одними из наиболее интенсивно исследуемых фитогормонов, что связано с их участием в регуляции широкого спектра клеточных процессов — пролиферации и дифференциации клеток [1], развитии органелл [2], регуляции защитных механизмов [3]. Ключевым аспектом реализации БС в клетке являются кроссгормональные взаимодействия, с помощью которых может достигаться специфичность ответа клетки растения на разных этапах ее развития и при адаптации к стрессовому воздействию [4]. Ауксины способны индуцировать транскрипцию генов биосинтеза БС, что, в свою очередь, влияет на регуляцию процессов их транспорта [5, 6]. Кроме того, ауксины способны регулировать чувствительность клетки к действию БС путем регуляции экспрессии генов рецептора БС [7]. БС и ауксины тесно связаны в процессах регуляции актинового цитоскелета [8], развития проводящих тканей растений [9], роста гипокотелей [10], элонгации черешков листа [11], восприятия гравитации [12].

Принимая во внимание результаты исследований кроссгормональных взаимодействий БС и ауксинов [12] при регуляции внутриклеточных процессов *in vivo*, мы задались целью изучить влияние индолилуксусного производного 24-эпибрассинолида (ЭБЛ) на регуляцию ростовых процессов растений, в частности, при действии стресса.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования были растения *Arabidopsis thaliana col1* дикого типа, трансгенные растения *det2-1* со сниженным эндогенным уровнем БС, а также растения пшеницы *Triticum aestivum*. Для воздействия солевого

© М. В. Деревянчук, Р. П. Литвиновская, А. Л. Савчук, В. А. Хрипач, В. С. Кравец, 2015

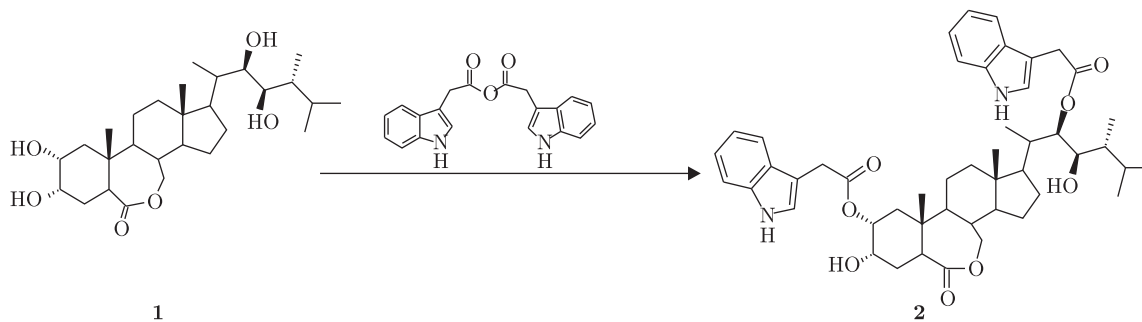


Рис. 1. ЭБЛ (1) и эфир индолилуксусной кислоты, содержащий фрагмент ЭБЛ (2)

стресса растения арабидопсиса выращивались на стерильной твердой питательной 1/2 среде Мурашига–Скуга с добавлением 1% сахарозы, соли (125 мМ) и гормонов ($1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-9}$ М).

Использованные соединения: ЭБЛ и ауксиновое производное ЭБЛ (рис. 1), синтезированные в лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси, остальные реактивы были производства России и Украины квалификации “х. ч.”.

Результаты и обсуждение. В проведенных исследованиях ЭБЛ проявлял высокую биологическую активность на развитие разных частей растения в зависимости от выбранной концентрации. Так, при выращивании растений на стерильной питательной среде с $1 \cdot 10^{-9}$ М ЭБЛ стимулировали увеличение длины корней (табл. 1). При повышении концентрации в среде до $1 \cdot 10^{-8}$ М ЭБЛ мы наблюдали резкое увеличение количества корней в 3 раза с одновременным уменьшением их длины в 2 раза, что способствует формированию корневой системы с более эффективной зоной всасывания (см. табл. 1).

При дальнейшем повышении концентрации ЭБЛ ($1 \cdot 10^{-7}$ М) происходило ингибирование роста корневой системы растений *A. thaliana* по сравнению с контролем, а с другой стороны, наблюдалось значительное стимулирование роста гипокотыля (увеличение элонгации в 2 раза) (см. табл. 1). Однако в растениях *T. aestivum* повышенные концентрации ЭБЛ не ингибировали рост корневой системы, а, напротив, оказывали стимулирующий эффект на формирование боковых и адвентивных корней, что, вероятно, связано с разной чувствительностью клеток *A. thaliana* и *T. aestivum* к фитогормону.

Эфир **2** характеризовался выраженной стимулирующей активностью по отношению к росту боковых и дополнительных корней, при этом одновременно увеличивалась длина корней и гипокотыля (рис. 2). При сравнении влияния синтезированного эфира и исходного

Таблица 1. Влияние ЭБЛ на рост растений *A. thaliana* (7 сут) и *T. aestivum* (4 сут)

Параметр	Контроль	ЭБЛ, $1 \cdot 10^{-9}$ М	ЭБЛ, $1 \cdot 10^{-8}$ М	ЭБЛ, $1 \cdot 10^{-7}$ М
<i>Arabidopsis thaliana</i>				
Длина корней, мм	$16,0 \pm 1,2$	$19,0 \pm 1,0$	$8,0 \pm 0,7$	$3,1 \pm 0,7$
Длина гипокотыля, мм	$5,1 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,2$	$6,2 \pm 0,4$	$10,3 \pm 0,7$
Количество корней	$1,0 \pm 0,01$	$1,1 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,01$
<i>Triticum aestivum</i>				
Длина первого корня, мм	$110,6 \pm 8,0$	$119,0 \pm 6,6$	$98,4 \pm 6,6$	$72,8 \pm 3,0$
Длина второго корня, мм	$109,7 \pm 7,1$	$101,3 \pm 5,7$	$85,7 \pm 6,7$	$61,5 \pm 2,5$
Длина третьего корня, мм	$108,5 \pm 9,2$	$83,0 \pm 6,1$	$57,0 \pm 7,4$	$48,6 \pm 6,5$
Количество корней	$2,5 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,2$	$4,5 \pm 0,2$

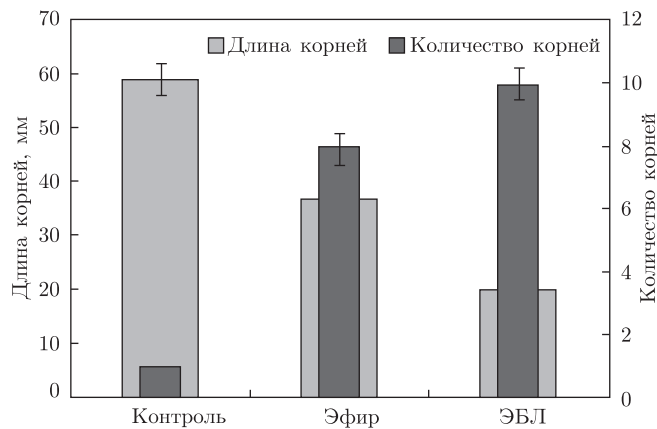


Рис. 2. Влияние эфира **2** и ЭБЛ в концентрации $1 \cdot 10^{-8}$ М на процессы корнеобразования у растений *A. thaliana* в контрольных условиях

ЭБЛ в контрольных условиях было отмечено, что в эквимольных концентрациях эфир более активно, чем ЭБЛ, стимулирует элонгацию корневой системы, увеличивая при этом в 6–7 раз количество корней по сравнению с контролем.

Определено, что наиболее эффективной для стимуляции процессов корнеобразования была концентрация $1 \cdot 10^{-8}$ М. Наиболее выраженный эффект на ростовые процессы эфир ЭБЛ и ауксина проявил в условиях солевого стресса. Так, ЭБЛ и синтезированный эфир способствовали восстановлению прорастания семян и роста растений *A. thaliana* в условиях сильного и продолжительного солевого стресса (рис. 3).

Из рис. 3 видно, что при действии ЭБЛ и синтезированного эфира значительно увеличивалась площадь листовой пластинки (в 5–6 раз). Эфир был более эффективен (>30%) по сравнению с ЭБЛ в стимуляции ростовых процессов при действии стресса. Исследованные гормоны также значительно повышали процент прорастания семян в условиях солевого стресса. Трансгенные *det2* растения с мутациями в генах биосинтеза гормона характеризовались резким ингибированием всех ростовых показателей при действии соли и низким процентом прорастания, что указывает на значительную роль эндогенных БС в формировании адаптивных реакций к действию абиотических стрессов. Увеличение устойчивости растений к различным стрессовым факторам внешней среды является актуальным направлением исследования роли БС в регуляции метаболизма клетки. С использованием иммунохимических методов нами уже было показано [13], что низкотемпературный стресс способствует накоплению БС в тканях растений, что, вероятно, связано с реорганизацией метаболизма и активацией сигнализации БС. Таким образом, было обнаружено, что БС и ауксиновое производное ЭБЛ способствуют значительному стимулированию роста растений при действии стрессового фактора, в частности солевого.

Работа выполнена при поддержке Государственного фонда фундаментальных исследований Украины (проект № 54.4/026-2013), Национальной академии наук Украины (проект № 2.1.10.32-10) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № X13 K-094).

1. Goda H., Sawa S., Asami T. et al. Comprehensive comparison of auxin-regulated and brassinosteroid-regulated genes in arabidopsis // Plant Physiol. – 2004. – **134**. – P. 1555–1573.
2. Efimova M. V., Kusnetsov V. V., Kravtsov A. K. et al. Regulation of the transcription of plastid genes in plants by brassinosteroids // Dokl. Biol. Sci. – 2012. – **445**. – P. 272–275.

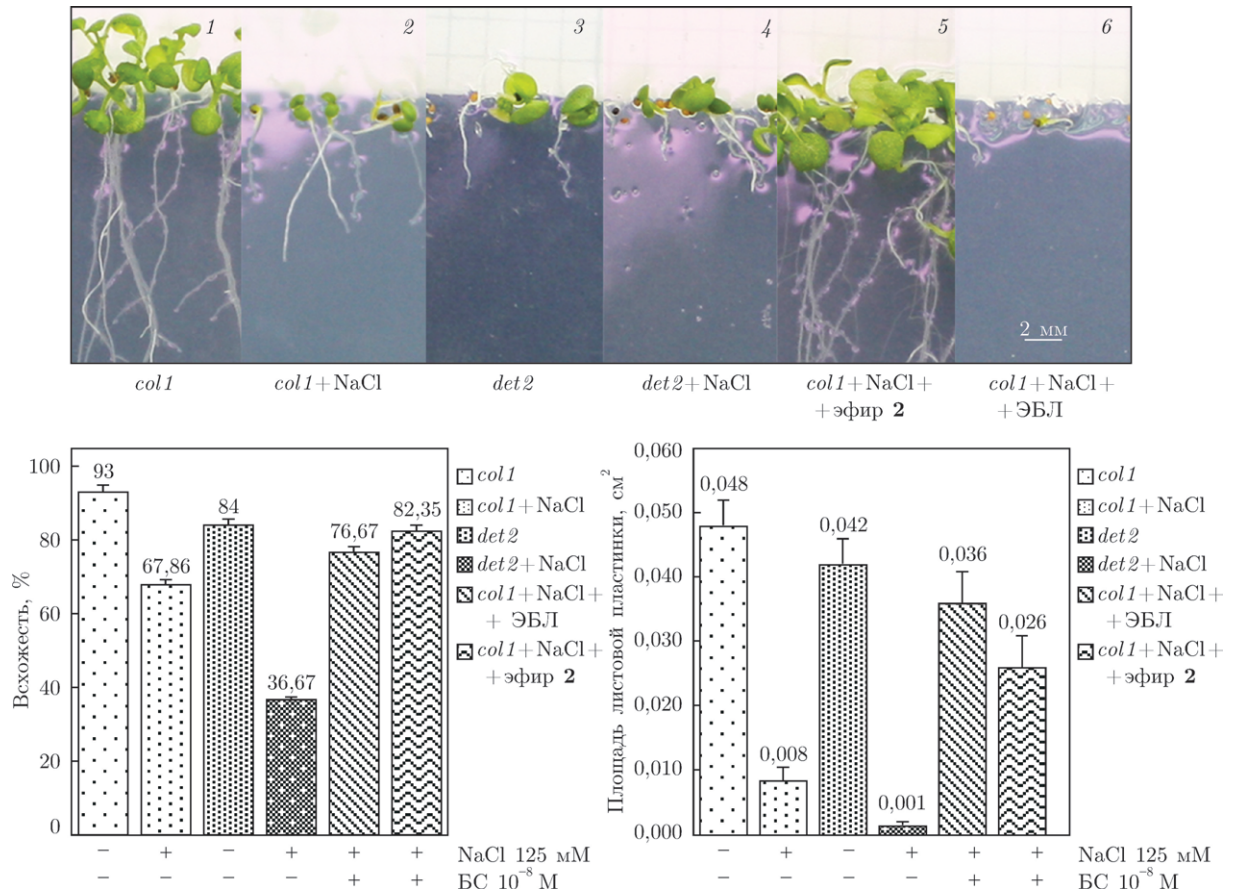


Рис. 3. Влияние ЭБЛ и его ауксинового производного на рост растений дикого типа *col1* и дефицитных по эндогенному уровню БС *det2* растений при оптимальных и стрессовых условиях (18 сут). 1 — *col1*; 2 — *col1* + NaCl 125 мМ; 3 — *det2* контроль; 4 — *det2* + NaCl 125 мМ; 5 — *col1* + NaCl 125 мМ + эфир 2 10^{-8} М; 6 — *col1* + NaCl 125 мМ + ЭБЛ 10^{-8} М

3. Wang Z.-Y. Brassinosteroids modulate plant immunity at multiple levels // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2012. – **109**. – P. 7–8.
4. Hacham Y., Sela A., Friedlander L. et al. BRI1 activity in the root meristem involves post-transcriptional regulation of PIN auxin efflux carriers // Plant Signal. Behav. – 2012. – **7**. – P. 68–70.
5. Chung Y., Maharjan P. M., Lee O. et al. Auxin stimulates DWARF4 expression and brassinosteroid biosynthesis in Arabidopsis // Plant J. – 2011. – **66**. – P. 564–578.
6. Yoshimitsu Y., Tanaka K., Fukuda W. et al. Transcription of DWARF4 plays a crucial role in auxin-regulated root elongation in addition to brassinosteroid homeostasis in Arabidopsis thaliana // PLoS ONE. – 2011. – **6**. – P. e23851.
7. Sakamoto T., Fujioka S. Auxins increase expression of the brassinosteroid receptor and brassinosteroid-responsive genes in Arabidopsis // Plant Signal. Behavior. – 2013. – **8**. – P. e23509.
8. Lanza M., Garcia-Ponce B., Castrillo G. et al. Role of Actin Cytoskeleton in Brassinosteroid Signaling and in Its Integration with the Auxin Response in Plants. – Dev. Cell. – 2012. – **22**. – P. 1275–1285.
9. Ibañes M., Fàbregas N., Chory J. et al. Brassinosteroid signaling and auxin transport are required to establish the periodic pattern of Arabidopsis shoot vascular bundles // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2009. – **106**. – P. 13630–13635.
10. Zhou X. Y., Song L., Xue H. W. Brassinosteroids regulate the differential growth of Arabidopsis hypocotyls through auxin signaling components IAA19 and ARF7 // Mol. Plant. – 2013. – **6**. – P. 887–904.
11. Kozuka T., Kobayashi J., Horiguchi G. et al. Involvement of auxin and brassinosteroid in the regulation of petiole elongation under the shade // Plant Physiol. – 2010. – **153**. – P. 1608–1618.
12. Vandebussche F., Callebert P., Zadnikova P. et al. Brassinosteroid control of shoot gravitropism interacts with ethylene and depends on auxin signaling components // Am. J. Bot. – 2013. – **100**. – P. 215–225.
13. Кравец В. С., Кретинин С. В., Дерев'янчук М. В., Драч С. В., Литвіновська Р. П., Хрипач В. А. Влияние низких температур на уровень эндогенных брассиностероидов // Доп. НАН України. – 2011. – № 8. – P. 155–159.

*Институт биоорганической химии
и нефтехимии НАН Украины, Киев
Институт биоорганической химии
НАН Беларуси, Минск*

Поступило в редакцию 09.10.2014

**М. В. Дерев'янчук, Р. П. Литвіновська, А. Л. Савчук,
академік НАН Білорусі В. О. Хрипач, В. С. Кравець**

Вплив ауксинового похідного брассиностероїду на регуляцію росту і розвитку рослин при дії сольового стресу

Встановлено вплив нового синтетичного похідного брассиностероїдів, модифікованого залишком індолілоцтової кислоти, на регуляцію росту і розвитку рослин Arabidopsis thaliana і Triticum aestivum в умовах дії сольового стресу. Показано, що новий ефір виявляє підвищену здатність стимулювати ріст і розвиток клітин рослин при дії сольового стресу, що, вірогідно, обумовлено можливими кросгормональними взаємодіями.

**M. V. Derevyanchuk, R. P. Litvinovskaya, A. L. Sauchuk,
Academician of the NAS of Belarus V. A. Khripach, V. S. Kravets**

Influence of brassinosteroid modified with auxin on the regulation of plant growth and development under salt stress

Biological activity of new synthetic brassinosteroid modified with auxin residue on the regulation of the Arabidopsis thaliana and Triticum aestivum growth and development under salt stress conditions is investigated. It is observed that this new ester is more efficient in the promotion of plant cell growth and development under salinity. These effects might be mediated by hormonal crosstalk.