

ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА РАСТЕНИЯ ПРОСА ПРИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССАХ

А. А. Вайнер¹
Ю. Е. Колупаев¹
Н. В. Швиденко¹
В. А. Хрипач²

¹Харьковский национальный аграрный университет
им. В. В. Докучаева, Украина
E-mail: plant_biology@mail.ru

²Институт биоорганической химии
Национальной академии наук Беларуси, Минск
khripach@iboch.bas-net.by

Получено 12.08.2014

Исследовали влияние brassinosteroidов на устойчивость растений проса (*Panicum miliaceum* L.) к повреждающему прогреву и почвенной засухе. Предпосевная обработка семян 20 нМ растворами 24-эпибрасинолида и 28-гомобрасинолида увеличивала процент выживаемости проростков после воздействия гипертермии (прогрев в водяном термостате при 47 °С в течение 10 мин). Под влиянием brassinosteroidов отмечалось повышение активности антиоксидантных энзимов (супероксид-дисмутаза, каталаза и гваяколпероксидаза) и снижение содержания продукта пероксидного окисления липидов малонового диальдегида в проростках проса после теплового стресса. При этом протекторный эффект 24-эпибрасинолида был более существенным по сравнению с действием 28-гомобрасинолида. В условиях почвенной засухи (снижение влажности почвы до 25% от полной влагоемкости) у растений, выращенных из семян, обработанных 24-эпибрасинолидом, наблюдались сохранение способности к росту и более высокая активность антиоксидантных энзимов по сравнению с контрольными растениями. Сделан вывод о существенной роли индукции антиоксидантных энзимов в реализации протекторного действия brassinosteroidов на растения проса в условиях абиотических стрессов и перспективности практического применения предпосевной обработки ими семян для пролонгированной активации неспецифической устойчивости растений.

Ключевые слова: brassinosteroidы, гипертермия, почвенная засуха, *Panicum miliaceum* L.

Согласно современным климатическим моделям вследствие увеличения содержания углекислого газа в приземных слоях атмосферы температура земной поверхности может повышаться за каждое десятилетие XXI в. на 0,4–0,6 °С [1]. Ожидается также увеличение частоты, интенсивности и продолжительности засух [2]. В связи с этим особую актуальность приобретает поиск методов повышения неспецифической устойчивости растений к стрессорам. Эффективным средством для этого могут быть природные соединения и их искусственные аналоги [3, 4]. В последние десятилетия помимо «классических» стрессовых гормонов (абсцизовой кислоты и этилена) в мире интенсивно исследуется действие на растения салициловой кислоты, жасмонатов и brassinosteroidов (БС). Последние проявляют очень высокую активность в отношении различных физиологических процессов, их применение становится важным элементом агробиотехнологий [5, 6].

В настоящее время препараты на основе брасинолида, 24-эпибрасинолида (ЭБЛ), 28-гомобрасинолида (ГБЛ), 28-норбрасинолида и других БС под разными торговыми названиями производятся в Китае, Японии, Индии, Беларуси, России и других странах [7–9]. Перспективность БС как средства для повышения продуктивности и устойчивости растений обусловлена также их низкой токсичностью и экологической безопасностью [10].

Под действием БС индуцируется устойчивость к гипертермии растений разных таксономических групп. При обработке БС зарегистрировано как повышение выживаемости растений при потенциально летальном действии высоких температур [11–14], так и сохранение способности к росту при сублетальных высокотемпературных воздействиях [15, 16]. Показано также усиление под влиянием БС устойчивости различных видов растений к обезвоживанию. БС способствовали сохранению близкого к нормальному содержания воды в тканях в условиях

водного стресса [17, 18], положительно влияли на фотосинтетическую активность растений [19]. На растениях пшеницы продемонстрирована существенная сортоспецифичность позитивного влияния БС на засухоустойчивость [20].

Известно, что одной из стрессопротекторных систем, обеспечивающих перекрестную устойчивость растений к стрессовым факторам различной природы, является антиоксидантная активность соответствующих ферментов [21, 22]. В настоящее время накоплены многочисленные данные об увеличении активности ферментов растений под влиянием экзогенных БС [15, 19, 23, 24]. Есть основания полагать, что сигнал БС, воспринимаемый клеточными рецепторами, передается в генетический аппарат с участием активных форм кислорода (АФК). При этом усиление образования АФК, связанное, очевидно, прежде всего с повышением активности НАДФН-оксидазы, приводит к активации соответствующих ферментов [25].

В ряде работ сообщается о положительном влиянии БС на активность супероксиддисмутазы (СОД) [15, 19, 23, 26] — единственного фермента, обезвреживающего супероксидный анион-радикал [21]. В то же время на растениях риса показано снижение активности СОД под действием 24-ЭБЛ при засолении [27]. Авторы предполагают, что у этого вида БС индуцируют другие защитные системы. На растениях пшеницы выявлены сортовые различия в реакции на 24-ЭБЛ: у более солеустойчивого сорта отмечалось большее повышение активности СОД в ответ на обработку БС и при его действии на фоне солевого стресса [24].

В целом, несмотря на довольно продолжительное исследование стрессопротекторного действия БС на растения, результатов индуцирования антиоксидантных ферментов как важных элементов перекрестной устойчивости растений к стрессорам различной природы пока недостаточно. В частности, это касается видовых особенностей растений. К числу немногих видов культурных растений, на которых эффекты БС до сих пор не исследовали, относится просо (*Panicum miliaceum* L.) — высокоурожайная крупяная культура, отличающаяся достаточно высокой устойчивостью к недостатку влаги. В то же время при действии гипертермии и жесткой засухи отмечается значительное снижение его урожайности [28].

Целью работы было исследование возможности индуцирования экзогенными БС устойчивости растений проса к гипертермии

и почвенной засухе и выяснение участия антиоксидантных ферментов в реализации протекторного действия БС.

Материалы и методы

Биологическим объектом служили растения проса сорта Константиновское. Семена обеззараживали, погружая в 5%-й раствор пероксида водорода на 15 мин. После этого их ополаскивали дистиллированной водой и осуществляли предпосевную обработку путем погружения на 1 сут в растворы 24-ЭБЛ или 28-ГБЛ различных концентраций; контрольные семена обрабатывали дистиллированной водой. Затем семена просушивали на ситах в течение 1 сут. Для исследований использовали БС, синтезированные в лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Действие БС на теплоустойчивость изучали в модельном эксперименте на этиолированных проростках. После обработки семян БС их проращивали в течение 5 сут при температуре 22 °С. Проростки подвергали повреждающему прогреву в водном ультратермостате при 47 °С в течение 10 мин [28]. Через 4 и 24 ч после повреждающего прогрева часть проростков использовали для биохимических анализов. Остальную часть выставляли на свет (5 000 лк) и через 4 сут оценивали относительное количество выживших растений по их способности к росту.

Влияние БС на засухоустойчивость растений исследовали в почвенной культуре. Контрольные и обработанные БС семена высевали в пластиковые кюветы (почва — чернозем типичный тяжелосуглинистый). Влажность субстрата поддерживали на уровне 70% от полной влагоемкости (ПВ), освещение — 7 клк, фотопериод — 15 ч, температура 23/19 °С (день/ночь). Засуху создавали в течение 6 сут, начиная с 10-го дня выращивания растений, прекращением полива с постепенным уменьшением влажности почвы до 25% от ПВ. После этого возобновляли полив.

На 6-е сут засухи, а также через 2 сут после возобновления полива растений измеряли длину их надземной части и отбирали пробы для биохимических анализов.

Активность антиоксидантных ферментов определяли по методикам, описанным ранее [29]. Навески этиолированных проростков или зеленых листьев (200 мг) гомогенизировали на холоду в 10 мл 0,15 М К, Na-фосфатного буфера (рН 7,6) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ) и дитиотреитола (1 мМ). Для анализа использовали супернатант после

центрифугирования гомогената при 8 000 g в течение 10 мин при 4 °С.

Активность СОД (КФ 1.15.1.1) устанавливали при рН реакционной смеси 7,6, используя метод, основанный на способности энзима конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметасульфата. Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) анализировали при рН реакционной смеси 7,0 по количеству разложившегося пероксида водорода за единицу времени. Активность гваяколпероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли, используя в качестве донора водорода гваякол, а субстрата — пероксид водорода. С помощью К-, Нафосфатного буфера рН реакционной смеси доводили до 6,2.

Содержание продуктов пероксидного окисления липидов (ПОЛ) (в расчете на малоновый диальдегид — МДА) определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [30].

Опыты проводили в трехкратной биологической повторяемости и воспроизводили независимо не менее трех раз. При проведении биохимических анализов одна повторяемость представляла собой среднюю пробу из 10 растений, при оценке выживаемости и определении длины надземной части она включала 30 растений. На рисунках представлены средние значения и их стандартные отклонения. Достоверность различий рассчитывали по *t*-критерию Стьюдента. Кроме случаев, оговоренных специально, обсуждаются различия, достоверные при $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Предпосевная обработка семян БС в концентрациях порядка 10^{-9} – 10^{-6} М вызывала повышение устойчивости проростков прося к гипертермии (рис. 1). Позитивные эффекты 24-ЭБЛ были несколько выше по сравнению с действием 28-ГБЛ, однако это различие было достоверным только при использовании наномолярных концентраций. При этом оба БС наиболее эффективно влияли при концентрации $2 \cdot 10^{-8}$ М.

В 5–6-дневных проростках, выращенных из семян, обработанных 24-ЭБЛ и 28-ГБЛ, отмечалось повышение активности СОД (рис. 2, А). Через 4 ч после прогрева происходило увеличение активности СОД как в контроле, так и в вариантах с БС, такие же эффекты наблюдались и через 24 ч после действия гипертермии.

Активность каталазы в 5–6-дневных проростках в вариантах с обработкой семян БС

была несколько выше, чем в контроле, однако это различие не было достоверным при $P \leq 0,05$ (рис. 2, Б). Через 4 ч после прогрева активность энзима в проростках контрольного варианта несколько уменьшалась, а в вариантах с обработкой БС сохранялась на прежнем уровне. При этом различия между вариантами были достоверны при $P \leq 0,05$. Через 24 ч после прогрева активность каталазы повышалась как в контроле, так и в вариантах с БС, но в последних абсолютные величины были на 10–12% больше (рис. 2, В).

В проростках, выращенных из семян, обработанных БС, наблюдалось изменение активности гваяколпероксидазы (рис. 2, В). Через 4 ч после действия гипертермии активность энзима снижалась во всех вариантах опыта на 10–14%, однако абсолютные значения в вариантах с обработкой семян БС были выше, чем в контроле. Через 24 ч после прогрева активность энзима в контроле и вариантах с БС восстанавливалась до исходных (дострессовых) величин. При этом абсолютные значения в вариантах с обработкой семян БС были на 10–16% выше, чем в контроле.

Таким образом, предобработка семян БС способствовала проявлению более высокой активности изученных антиоксидантных энзимов после действия на проростки повреждающего прогрева. О более эффективном действии их в проростках, выращенных из семян, обработанных БС, свидетельствуют и величины содержания МДА. Количество МДА в 5–6-дневных проростках в вариантах с БС было ниже, чем в контроле (рис. 2, Г). Через 4 ч после прогрева содержание МДА

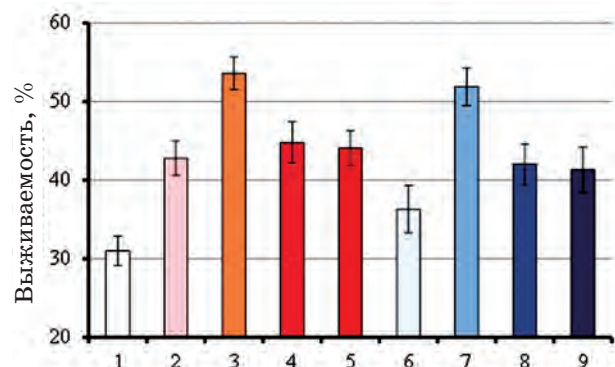


Рис. 1. Выживаемость проростков проса после повреждающего прогрева (47 °С, 10 мин): 1 — контроль; 2–5 — 24-ЭБЛ в концентрациях $2 \cdot 10^{-9}$; $2 \cdot 10^{-8}$; $2 \cdot 10^{-7}$; $2 \cdot 10^{-6}$ М соответственно; 6–9 — 28-ГБЛ в концентрациях $2 \cdot 10^{-9}$; $2 \cdot 10^{-8}$; $2 \cdot 10^{-7}$; $2 \cdot 10^{-6}$ М соответственно

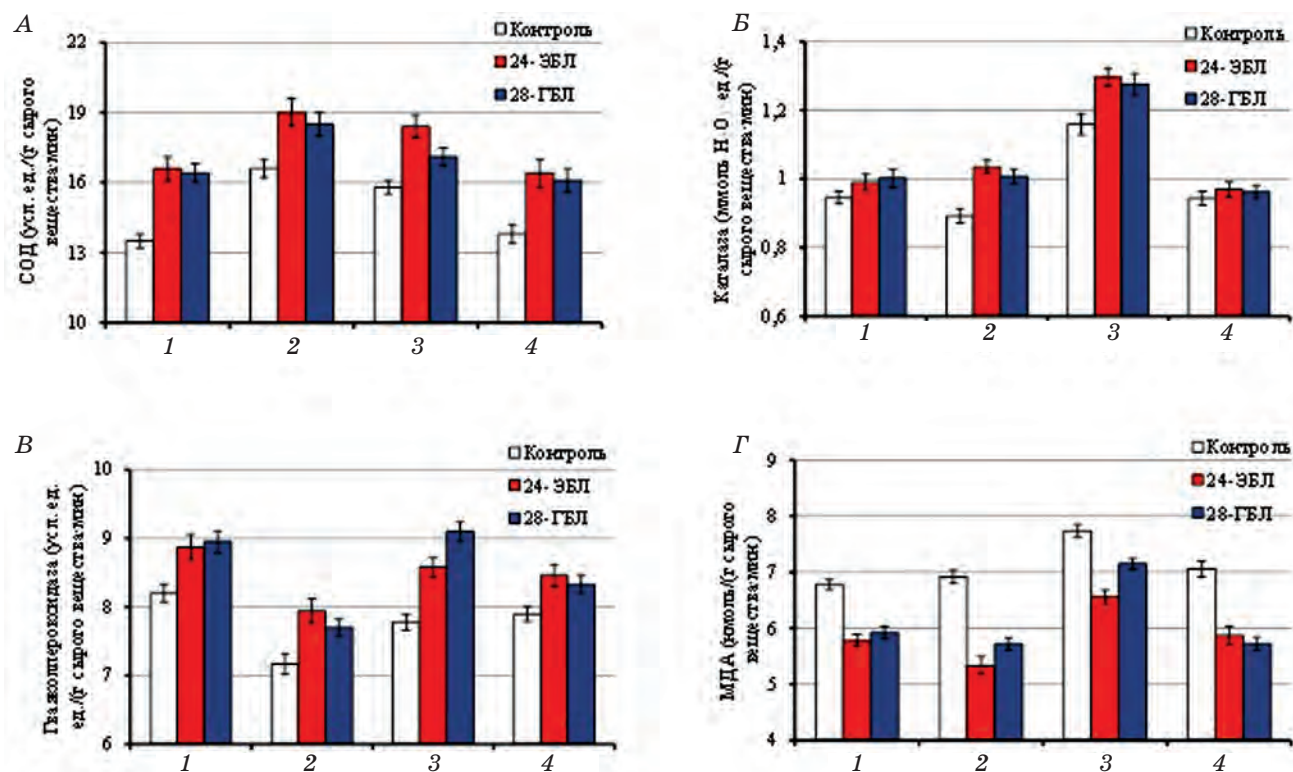


Рис. 2. Активность СОД (А), каталазы (Б), гваяколпероксидазы (В) и содержание МДА (Г) в этилированных проростках проса при действии БС и повреждающего прогрева:

1 — контроль без прогрева (5-суточные проростки); 2 и 3 — через 4 и 24 ч после повреждающего прогрева при 47 °С (5- и 6-суточные проростки соответственно); 4 — контроль без прогрева (6-суточные проростки)

в проростках всех вариантов существенно не изменялось, однако в вариантах с БС абсолютные величины были значительно ниже, чем в контроле. Через 24 ч после действия гипертермии наблюдалось повышение содержания продукта ПОЛ во всех вариантах опыта. Однако в проростках, выращенных из семян, обработанных БС, особенно 24-ЭБЛ, оно было заметно (на 10–15%, $P \leq 0,05$) ниже, чем в соответствующем контроле (рис. 2, Г).

В исследованиях влияния БС на устойчивость растений проса к почвенной засухе мы использовали 24-ЭБЛ как препарат, проявивший большую эффективность в описанных выше экспериментах по изучению влияния БС на теплоустойчивость проростков проса.

Предпосевная обработка семян 24-ЭБЛ незначительно стимулировала рост растений в условиях нормального увлажнения (рис. 3). Засуха существенно угнетала ростовые процессы. При этом 24-ЭБЛ оказывал позитивное влияние, которое проявлялось как на стадии засухи, так и после возобновления полива (рис. 3).

Обработка семян 24-ЭБЛ индуцировала тенденцию к повышению активности СОД в листьях растений, не испытывавших действия

засухи, однако этот эффект не был статистически достоверным при $P \leq 0,05$ (таблица). Под влиянием засухи происходило снижение активности энзима в листьях, после возобновления полива отмечалось ее повышение, однако активность СОД не достигала величин соответствующего контроля. На фоне засухи в растениях варианта с обработкой 24-ЭБЛ активность СОД была на 20% выше, чем в варианте без обработки БС. Подобные различия сохранялись и после возобновления полива.

Под влиянием 24-ЭБЛ в листьях отмечалась несколько повышенная активность каталазы в варианте без действия засухи. После воздействия засухи активность энзима снижалась по сравнению с контролем (на 15%), а при возобновлении полива происходило ее повышение до уровня контроля. В условиях засухи в листьях растений варианта с обработкой 24-ЭБЛ активность каталазы была на 15% выше, чем в варианте без обработки препаратом. После возобновления полива различия между вариантами уменьшались.

В листьях растений, выращенных из семян, обработанных 24-ЭБЛ, активность

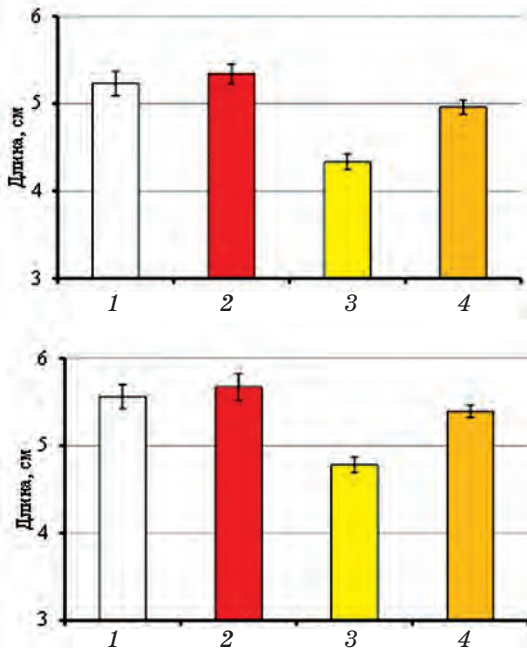


Рис. 3. Линейные размеры надземной части растений проса при действии 24-ЭБЛ и почвенной засухи:

- А — после 6 сут засухи (возраст растений 16 дней);
 Б — через 2 сут после возобновления полива (возраст растений 18 дней);
 1 — контроль; 2 — 24-ЭБЛ (20 нМ);
 3 — засуха; 4 — 24-ЭБЛ (20 нМ) + засуха

гваяколпероксидазы была выше, чем в контроле (таблица). Под влиянием засухи активность энзима снижалась, однако в варианте с предобработкой семян БС она превышала не только значения варианта с засухой, но и величины контроля. После возобновления полива активность энзима в варианте с засухой повышалась, и различия между вариантами становились менее заметными.

Как и в этиолированных проростках, в листьях растений проса, выращенных из семян с предобработкой 24-ЭБЛ, содержание МДА было ниже, чем в контроле, почти на 20%. Засуха вызывала усиление накопления продукта ПОЛ на 22%, при этом в варианте с 24-ЭБЛ оно было менее существенным (порядка 5%). После возобновления полива происходило снижение содержания МДА в листьях растений, выращенных из семян, обработанных 24-ЭБЛ, в то время как в варианте без обработки препаратом этот эффект был незначительным.

Таким образом, предпосевная обработка семян проса БС оказывала положительное влияние как на теплоустойчивость проростков проса (рис. 1), так и на засухоустойчивость зеленых растений (рис. 3). Одной из стрессоротекторных систем, активирующихся под действием БС, является активность антиоксидантных энзимов. Об этом

Активность антиоксидантных энзимов и содержание МДА в листьях растений проса при действии 24-ЭБЛ и почвенной засухи

Вариант	После 6 сут засухи	Через 2 сут после возобновления полива
Активность СОД, усл. ед/(г сухого вещества/мин)		
Контроль	343 ± 5	339 ± 7
24-ЭБЛ, 20 нМ	352 ± 7	358 ± 6
Засуха	263 ± 4	295 ± 6
Засуха + 24-ЭБЛ, 20 нМ	316 ± 6	328 ± 8
Активность каталазы, ммоль Н ₂ О ₂ /(г сухого вещества/мин)		
Контроль	20,1 ± 0,3	19,9 ± 0,6
24-ЭБЛ, 20 нМ	22,1 ± 0,5	21,9 ± 0,6
Засуха	17,5 ± 0,6	19,8 ± 0,6
Засуха + 24-ЭБЛ, 20 нМ	20,2 ± 0,5	21,3 ± 0,7
Активность гваяколпероксидазы, усл. ед/(г сухого вещества/мин)		
Контроль	31,1 ± 0,7	31,0 ± 0,7
24-ЭБЛ, 20 нМ	34,3 ± 0,8	33,8 ± 0,8
Засуха	26,8 ± 0,8	29,9 ± 0,7
Засуха + 24-ЭБЛ, 20 нМ	33,0 ± 0,9	30,4 ± 0,8
Содержание МДА, нмоль/г сухого вещества		
Контроль	52,5 ± 1,7	54,3 ± 1,4
24-ЭБЛ, 20 нМ	43,9 ± 1,5	43,6 ± 1,8
Засуха	64,5 ± 2,2	59,9 ± 2,0
Засуха + 24-ЭБЛ, 20 нМ	54,9 ± 2,0	43,4 ± 3,3

свидетельствует более высокая активность СОД, каталазы и гваяколпероксидазы и меньшее содержание продукта ПОЛ — МДА в растениях опытных вариантов.

Примечательно, что положительные эффекты БС проявлялись не только на стадии проростков, но и у взрослых растений, используемых при изучении эффектов почвенной засухи. В связи с этим можно предположить, что предпосевная обработка семян БС оказывала опосредованное пролонгированное влияние на биохимические процессы. Одним из механизмов такого влияния может быть изменение гормонального баланса растений вследствие обработки семян БС, которое способно привести к долговременному изменению индукции защитных механизмов [31].

За последнее десятилетие накоплен ряд фактов, свидетельствующих об участии эндогенной гормональной системы растений в реализации ростстимулирующих и стрессопротекторных эффектов БС. При стимуляции ростовых процессов отмечено синергическое взаимодействие БС с гиббереллинами, БС и ауксинами [6]. БС также вызывают накопление цитокининов в растениях; этот эффект связан как с усилением их синтеза, так и с уменьшением деградации [31]. Обработка растений пшеницы 24-ЭБЛ вызывала угнетение экспрессии соответствующих генов и снижение активности цитокиноксидазы [32].

Установлен эффект антагонизма между БС и абсцизовой кислотой (АБК) в процессах регуляции экспрессии ряда генов [32]. Антагонизм между этими фитогормонами, вероятно, может проявляться и при адаптации растений к действию стрессоров. Так, экзогенный БС индуцировал теплоустойчивость проростков арабидопсиса как дикого типа, так и дефицитных по АБК [12]. При этом вызываемый БС эффект индукции термоустойчивости и накопления БТШ-90 (протеина теплового шока) был более выраженным у мутантов с пониженным содержанием АБК.

Вопрос об участии гормональной системы в реализации стрессопротекторного действия БС на растения проса выходит за рамки настоящей работы и может быть предметом специального исследования.

Таким образом, показано положительное влияние БС на устойчивость растений проса к гипертермии и водному стрессу. 24-ЭБЛ оказывал более заметный защитный эффект по сравнению с 28-ГБЛ. По крайней мере, одной из составляющих протекторного действия БС на растения проса является активация антиоксидантных ферментов. Пролонгированные эффекты предпосевной обработки семян БС могут служить основанием для разработки препаратов на основе БС в качестве перспективных для применения при выращивании растений проса в неблагоприятных условиях.

REFERENCES

1. Loreto F., Centritto M. Leaf carbon assimilation in a water-limited world. *Plant Biosyst.* 2008, 142(1), 154–161.
2. Chaves M. M., Flexas J., Pinheiro C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* 2009, V. 103, P. 551–560.
3. Yavorska V. K., Dragovoz I. V., Kryuchkova L. O., Kurchiy B. O., Makoveichuk T. I. Growth regulators on the basis of natural raw materials and their application in crop. *Kyiv.: Logos*, 2006, 176 p. (In Ukrainian).
4. Kyrychenko O. V., Gryniuk S. O. Growth-regulatory activity of the algae extract. *Biotechnologia Acta.* 2013, 6(5), 143–149. (In Russian).
5. Khripach V., Zhabinskii V., De Groot A. Twenty years of brassinosteroids: Steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. *Ann. Bot.* 2000, V. 86, P. 441–447.
6. Bajguz A., Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiol. Biochem.* 2009, V. 47, P. 1–8.
7. Kamuro Y., Takatsuto S. Potential application of brassinosteroids in agricultural fields. *Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones* (Eds. A. Sakurai, T. Yokota, S.D. Clouse). *Tokyo: Springer-Verlag*, 1999, 223–241 p.
8. Zhao Y. J., Chen J. C. Studies on physiological action and application of 24-epibrassinolide in agriculture. *Brassinosteroids. Bioactivity and Crop Productivity.* 2003, 159–170 p.
9. Budykina N. P., Shibaeva T. G., Titov A. F. Effects of epin extra, a synthetic analogue of 24-epibrassinolide, on stress resistance and productivity of cucumber plants (*Cucumis sativus* L.). *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN.* 2012, N 2, P. 47–55. (In Russian).
10. Prusakova L. D., Chizhova S. I. Application of brassinosteroids in extreme conditions for plants. *Agrokhimia.* 2005, N 7, P. 87–94. (In Russian).
11. Singh I., Shono M. Physiological and molecular effects of 24-epibrassinolide, a brassinosteroid on thermotolerance of tomato. *Plant Growth Regul.* 2005, V. 47, P. 111–119.

12. Divi U.K., Rahman T., Krishna P. Brassino-steroid-mediated stress tolerance in *Arabidopsis* shows interactions with abscisic acid, ethylene and salicylic acid pathways. *BMC Plant Biology*. 2010, V. 10, P. 151–164.
13. Mazorra L. M., Holton N., Bishop G. J., Nunez M. Heat shock response in tomato brassinosteroid mutants indicates that thermotolerance is independent of brassinosteroid homeostasis. *Plant Physiol. Biochem.* 2011, V. 49, P. 1420–1428.
14. Vayner A. A., Kolupaev Yu. E., Yastreb T. O., Khripach V. A. The participation of reactive oxygen species in the induction of thermotolerance of wheat coleoptiles caused by exogenous brassinosteroids. *Visn. Kharkiv.nats. ahrarn. univ. Serii Biologhiia*. 2013, 3(22), 39–45. (In Ukrainian).
15. Ogwen J. O., Song X. S., Shi K., Hu W. H., Mao W. H., Zhou Y. H., Yu J. Q., Nogue S. Brassinosteroids alleviate heat-induced inhibition of photosynthesis by increasing carboxylation efficiency and enhancing antioxidant systems in *Lycopersicon esculentum*. *J. Plant Growth Regul.* 2008, V. 27, P. 49–57.
16. Hayat S., Hasan S. A., Yusuf M., Hayat Q., Ahmad A. Effect of 28-homobrassinolide on photosynthesis, fluorescence and antioxidant system in the presence or absence of salinity and temperature in *Vigna radiate*. *Environ. Exp. Bot.* 2010, V. 69, P. 105–112.
17. Pustovitova T. N., Zhdanova N. E., Zholkevich V. N. Improving drought resistance under epibrassinolide influence. *Dokl. RAN*. 2001, 376(5), 697–700. (In Russian).
18. Yuan G. F., Jia C. G., Li Z., Sun B., Zhang L. P., Liu V., Wang Q. Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. *Sci. Horticult.* 2010, V. 126, P. 103–108.
19. Li Y. H., Liu Y. J., Xu X. L., Jin M., An L. Z., Zhang H. Effect of 24-epibrassinolide on drought stress-induced changes in *Chorispora bungeana*. *Biol. Plant.* 2012, V. 56, P. 192–196.
20. Prusakova L. D., Chizhova S. I., Ageeva L. F. Influence of epibrassinolide and ecost on drought resistance and productivity of spring wheat. *Agrokhimiia*. 2000, N 3, P. 50–54. (In Russian).
21. Shao H.-B., Chu L.-Y., Lu Zh.-H., Kang C.-M. Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells. *Int. J. Biol. Sci.* 2008, V. 4, P. 8–14.
22. Kolupaev Yu. E., Karpets Yu. V. Reactive oxygen species and stress signaling in plants. *Ukr. biochim. zh.* 2014, 86(4), 18–35. (In Russian).
23. Fariduddin Q., Khalil R. R., Mir B. A., Yusuf M., Ahmad A. 24-Epibrassinolide regulates photosynthesis, antioxidant enzyme activities and proline content of *Cucumis sativus* under salt and/or copper stress. *Environ. Monit. Assess.* 2013, V. 185, P. 7845–7856.
24. Talaat N. B., Shawky B. T. 24-Epibrassinolide alleviates salt-induced inhibition of productivity by increasing nutrients and compatible solutes accumulation and enhancing antioxidant system in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Physiol. Plant.* 2013, V. 35, P. 729–740.
25. Xia X. J., Wang Y. J., Zhou Y. H., Xia X. J., Wang Y. J., Zhou Y. H., Taj Y., Mao W. H., Shi K., Asami T., Chen Zh., Yu J. Q. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiol.* 2009, V. 150, P. 801–814.
26. Swamy K. N., Anuradha S., Ramakrishna B., Siddulu N., Rao S. R. R. Cadmium toxicity is diminished by 24-epibrassinolide in seedlings of *Trigonella foenum-graecum* L. *Genetics Plant Physiol.* 2011, 1(3–4), 163–175.
27. Ozdemir F., Bor M., Demiral T., Turkan I. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Plant Growth Regul.* 2004, V. 42, P. 203–211.
28. Yastreb T. O., Miroshnichenko N. N., Kolupaev Yu. E., Kots G. P. The Adaptive Effect of Reakom Microfertilizer and Salicylic and Succinic Acids on Millet Plants. *Agrokhimiia*. 2012, N 4, P. 60–67. (In Russian).
29. Lugovaya A. A., Karpets Yu. V., Oboznyi A. I., Kolupaev Yu. E. Stress protective effect of jasmonic acid and succinic acid on barley plants in conditions of drought. *Agrokhimiia*. 2014, N 4, P. 48–55. (In Russian).
30. Merzliak M. N., Pogosian S. I., Yuferova S. G., Shevyreva V. A. 2-thiobarbituric acid using in the study of lipid peroxidation in plant tissues. *Biol. nauky*. 1978, N 9, P. 86–94. (In Russian).
31. Avalbaev A. M., Yuldashev R. A., Shakirova F. M. Physiological action of phytohormones brassinosteroids class on plants. *Uspekhi sovrem. biologii*. 2006, 126(2), 192–200. (In Russian).
32. Zhang S., Cai Z., Wang X. The primary signaling outputs of brassinosteroids are regulated by abscisic acid signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009, V. 106, P. 1–6.

**ПРОТЕКТОРНА ДІЯ
БРАСИНОСТЕРОЇДІВ НА РОСЛИНИ
ПРОСА ЗА АБІОТИЧНИХ СТРЕСІВ**

*A. O. Vayner*¹
*Yu. E. Kolupaev*¹
*M. V. Shvidenko*¹
*V. O. Khripach*²

¹Харківський національний аграрний
університет ім. В. В. Докучаєва,
Україна
E-mail: plant_biology@mail.ru

²Інститут біоорганічної хімії Національної
академії наук Білорусі, Мінськ
E-mail: khripach@iboch.bas-net.by

Досліджували вплив брасиностероїдів на стійкість рослин проса (*Panicum miliaceum* L.) до ушкоджувального прогріву і ґрунтової посухи. Передпосівна обробка насіння 20 нМ розчинами 24-епібрасиноліду і 28-гомобрасиноліду збільшувала відсоток виживаності проростків після дії гіпертермії (прогрів у водяному термостаті за 47 °С протягом 10 хв). Під впливом брасиностероїдів відзначалося підвищення активності антиоксидантних ензимів (супероксиддисмутази, каталази і гваякопероксидази) і зниження вмісту продукту пероксидного окиснення ліпідів малонового діальдегіду в проростках проса після теплового стресу. При цьому протекторний ефект 24-епібрасиноліду був істотнішим порівняно з дією 28-гомобрасиноліду. За умов ґрунтової посухи (зниження вологості ґрунту до 25% від повної вологоємності) у рослин, вирощених із насіння, обробленого 24-епібрасинолідом, відзначалося збереження здатності до росту і вища активність антиоксидантних ензимів порівняно з контрольними рослинами. Зроблено висновок про істотну роль індукції антиоксидантних ензимів у реалізації протекторної дії брасиностероїдів на рослини проса за умов абіотичних стресів і перспективність практичного використання передпосівної обробки ними насіння для пролонгованої активації неспецифічної стійкості рослин.

Ключові слова: брасиностероїди, гіпертермія, ґрунтова посуха, *Panicum miliaceum* L.

**PROTECTIVE EFFECT OF
BRASSINOSTEROIDS ON MILLET
PLANTS UNDER ABIOTIC STRESSES**

*A. O. Vayner*¹
*Yu. E. Kolupaev*¹
*N. V. Shvidenko*¹
*V. A. Khripach*²

¹Dokuchaev Kharkiv National Agrarian
University, Ukraine
E-mail: plant_biology@mail.ru

²Institute of Bioorganic Chemistry
of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk
E-mail: khripach@iboch.bas-net.by

The effect of brassinosteroids on the resistance of millet plants (*Panicum miliaceum* L.) to damaging heating and soil drought was investigated. The pretreatment of the seeds with 20 nM of 24-epibrassinolide and 28-homobrassinolide solutions increased the survival rate of seedlings after their exposure to hyperthermia (heating in bath of water ultrathermostat at 47 °C for 10 min). Under the influence of brassinosteroids the increase in activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, and guaiacol peroxidase) and the decrease in the content of lipid peroxidation product malondialdehyde in millet seedlings after heat stress were observed. In this case, the protective effect of 24-epibrassinolide was more significant as compared to the effect of 28-homobrassinolide. In the conditions of drought (the decrease of soil moisture to 25% of field water capacity) plants grown from seeds treated by 24-epibrassinolide exhibited ability for growth and higher activity of the antioxidant enzymes compared to control plants. A conclusion concerning the essential role of the induction of antioxidant enzymes in implementation of the protective effect of brassinosteroids on millet plants under abiotic stresses and the prospects of practical application of presowing treatment with them for prolonged non-specific activation of plant resistance was made.

Key words: brassinosteroids, hyperthermia, soil drought, *Panicum miliaceum* L.