

УДК 581.1

ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ СІЯНЦІВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ ДІЄЮ 24-ЕПІБРАСИНОЛІДУ

© 2019 р. М. А. Шкляревський, Д. А. Тарабан,
Ю. П. Павлов, Ю. В. Карпець

*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)*

Молоді сіянці сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.) у розсадниках часто зазнають ураження комплексом патогенних грибів, що спричиняють інфекційне вилягання. Водночас сосна на ранніх стадіях розвитку достатньо чутлива до дії посухи та інших абіотичних стресорів. Зважаючи на це, актуальним є пошук прийомів підвищення неспецифічної стійкості хвойних. Брасиностероїди знаходять широке застосування у рослинництві для підвищення росту та стійкості рослин до абіотичних і біотичних чинників. Проте їх вплив на стресостійкість деревних рослин і, особливо, хвойних майже не досліджений. Вивчали вплив фоліарної обробки сіянців сосни 24-епібрасинолідом (24-ЕБЛ) на їх ріст і стійкість до інфекційного вилягання та посухи. За нормального поливу чотириразове обприскування рослин 24-ЕБЛ в концентраціях 50 і 200 нМ посилювало їх ріст у висоту. Також під впливом брасиностероїду відзначалося підвищення вмісту хлорофілів і каротиноїдів у надземній частині рослин. Обробка рослин 24-ЕБЛ значно зменшувала їх ураженість інфекційним виляганням. За дії ґрунтової посухи (зниження вологості субстрату до 25-30% від повної вологості) обробка рослин 24-ЕБЛ зменшувала пригнічення накопичення біомаси, сприяла збереженню оводненості, близької до контрольного варіанта, та помітно знижувала водний дефіцит. Фоліарна обробка сіянців сосни 24-ЕБЛ може розглядатися як ефективний прийом підвищення стійкості хвойних рослин до стресорів різної природи.

Ключові слова: *Pinus sylvestris*, брасиностероїди, 24-епібрасинолід, ріст, інфекційне вилягання, посухостійкість

DOI: <https://doi.org/10.35550/vbio2019.03.075>

Брасиностероїди поєднують функції стресових фітогормонів та активаторів росту. Відомий їх позитивний вплив на ріст клітин розтягуванням, пов'язаний з посиленням синтезу целюлози, транспорт води та іонів (Clouse, 2011) і процес поділу клітин (Howell et al., 2007; Cheon et al., 2010). Є свідчення їх впливу на функціонування всієї гормональної системи рослин, що дає підстави розглядати їх як групу найважливіших фітогормонів (Bajguz, Nayat, 2009).

Екзогенні брасиностероїди можуть індукувати стійкість рослин до найрізноманітніших стресорів, у тому числі до нестачі води. З використанням рослин різних видів зареєстровано підвищення стійкості до осмотичного стресу

під впливом брасиностероїдів. Ці фітогормони сприяли збереженню близького до нормального вмісту води в тканинах в умовах водного стресу (Пустовойтова и др., 2001; Yuan et al., 2011), позитивно впливали на фотосинтетичну активність рослин (Li et al., 2012). Обробка проростків пшениці 24-епібрасинолідом (24-ЕБЛ) істотно посилювала експресію гена дегідрину *TADHN* – білка, що виконує осмопротекторні функції (Юлдашев, 2009).

Брасиностероїди важливі і для стійкості рослин до патогенних бактерій, грибів і вірусів (Bajguz, Nayat, 2009). Так, показано підвищення резистентності рослин тютюну до вірусу тютюнової мозаїки і бактеріального патогена *Pseudomonas syringae* під дією екзогенного 24-ЕБЛ (Nakashita et al., 2003). Також встановлено індукування захисних реакцій рису проти *Magnaporthe grisea* і *Xanthomonas oryzae* після обробки рослин брасиностероїдами (Nakashita

Адреса для кореспонденції: Карпець Юрій Вікторович, Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва, п/в Докучаєвське-2, Харків, 62483, Україна; e-mail: plant_biology@ukr.net

et al., 2003). Показано підвищення стійкості рослин картоплі, огірка, томатів, ячменю і пшениці як до патогенних грибів, так і до вірусних інфекцій під дією брасиностероїдів (Шакирова, 2001; Авальбаев и др., 2006). Наприклад, виявлено зниження розвитку вірусу огіркової мозаїки під впливом 24-ЕБЛ. Обробка рослин огірка інгібітором синтезу брасиностероїдів брасинозолом, навпаки, сприяла розвитку вірусної хвороби (Xia et al., 2009). На рослинах огірка виявлено індукування системної стійкості дією брасиностероїдів. При обробці листків 24-ЕБЛ підвищувалася стійкість коренів рослин до *Fusarium oxysporum* (Xia et al., 2011).

Переважає більшість фізіологічних ефектів брасиностероїдів досліджена на трав'янистих рослинах. Вплив екзогенних брасиностероїдів на деревні вивчався лише у поодиноких роботах. На рослинах тополі показано, що брасиностероїди активували експресію генів, які беруть участь у диференціації клітин та біосинтезі клітинної стінки, завдяки цьому посилювалися процеси формування деревини та росту надземної частини рослин (Du et al., 2019).

Показано, що обробка рослин мушмули звичайної (*Eriobotrya japonica* Lindl) розчином 24-ЕБЛ підвищувала їх стійкість до сольового стресу, що виявлялося у збереженні близького до контролю вмісту хлорофілу, підвищенні кількості цукрів і проліну у листках, істотному зменшенні накопичення іонів натрію і хлору в органах рослин (Sadeghi, Shekafandeh, 2014). Обробка насіння сосни звичайної (*Pinus sylvestris*) синтетичним брасиностероїдом сприяла його проростанню за умов гіпертермії (Gucog et al., 2018). В цілому ж, стрес-протекторна дія брасиностероїдів на деревні і, особливо, хвойні залишається практично не дослідженою.

В Україні головною лісоутворюючою породою є сосна звичайна. Проте щорічно на лісокультурних об'єктах через інфекційні хвороби і вплив несприятливих абіотичних чинників гинуть мільйони молодих рослин. До найбільш поширених і небезпечних хвороб хвойних порід в розсадниках України належить інфекційне вилягання, спричинюване грибами родів *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Rhizoctonia* spp., *Verticillium* spp., *Botrytis* spp. та ін. (Кузьмичев, 2004; Соколова, Галасьева, 2005). Вилягання характерно для молодих сіянців сосни віком до двох місяців. Найчастіше в кореневій шийці загиблих сіянців виявляються види роду *Fusarium* (Городнищкая, Кузнецова, 2012). Сія-

нці сосни також є високочутливими до посухи та інших абіотичних чинників (Манаєнков, 2009).

Зазвичай для боротьби з інфекційним виляганням сіянців сосни використовують фунгіцидні препарати, що не є екологічно безпечним. Показаний позитивний вплив фоліарної та передпосівної обробки насіння фітогормоном саліциловою кислотою (Карпець та ін., 2014) та донором сигнальної молекули NO нітропрусидом натрію (Карпець и др., 2018а) на стійкість проти інфекційного вилягання. Також під впливом донора оксиду азоту підвищувалась посухостійкість сіянців сосни звичайної (Карпець и др., 2018б).

Відомо, що між брасиностероїдами, оксидом азоту і саліциловою кислотою існують тісні функціональні зв'язки (Колупаєв и др., 2016; Карпець, Колупаєв, 2018). Водночас деякі ефекти брасиностероїдів реалізуються з участю цитокінінів (Юлдашев, 2009). В цілому, як уже зазначалося, брасиностероїди істотно впливають на гормональний статус рослин. Логічно очікувати їх здатність посилювати ріст сіянців сосни звичайної як за фізіологічно нормальних, так і стресових умов.

Метою роботи було вивчення впливу фоліарної обробки сіянців сосни звичайної 24-ЕБЛ на їх ріст і стійкість до інфекційного вилягання та посухи.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили у лабораторній ґрунтовій культурі двома окремими серіями. У першій з них досліджували вплив фоліарної обробки надземної частини сіянців розчинами 24-ЕБЛ у концентраціях діапазону 20-500 нМ на їх стійкість до вилягання на природному інфекційному фоні.

Насіння сосни звичайної висівали по 300 шт. в пластикові кювети з супіщаним лісовим ґрунтом (умови В₂дС). Сіянци вирощували за температури 20 ± 2°C, відносної вологості повітря 60 ± 10%, освітленості 6 клк (фотоперіод 14 год) з помірним щоденним поливом (Карпець та ін., 2014).

Обприскування сіянців сосни розчинами 24-ЕБЛ проводили через кожні 10 днів, починаючи із 20-ої доби після висівання насіння в ґрунт. Контрольні рослини обприскували дистильованою водою. Кількість неушкоджених інфекційним виляганням сіянців визначали шляхом суцільного обліку в кожній біологічній повторності. Висоту надземної частини рослин обчислювали як середню арифметичну вимірювань

ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ

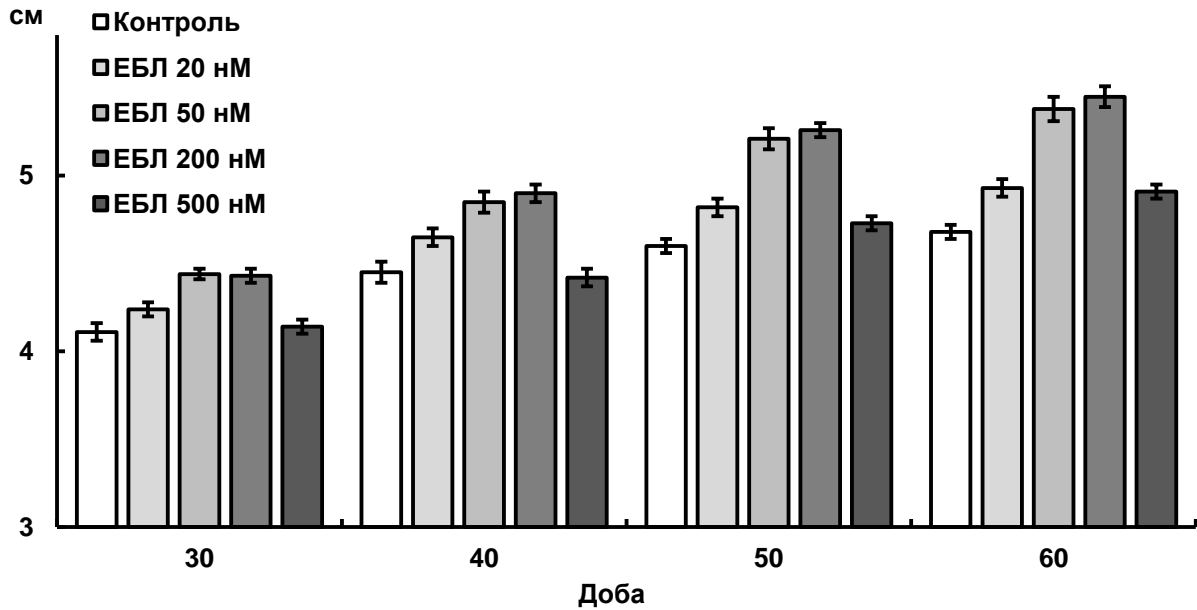


Рис 1. Вплив обприскування розчинами 24-ЕБЛ на ріст у висоту сіянців сосни звичайної.

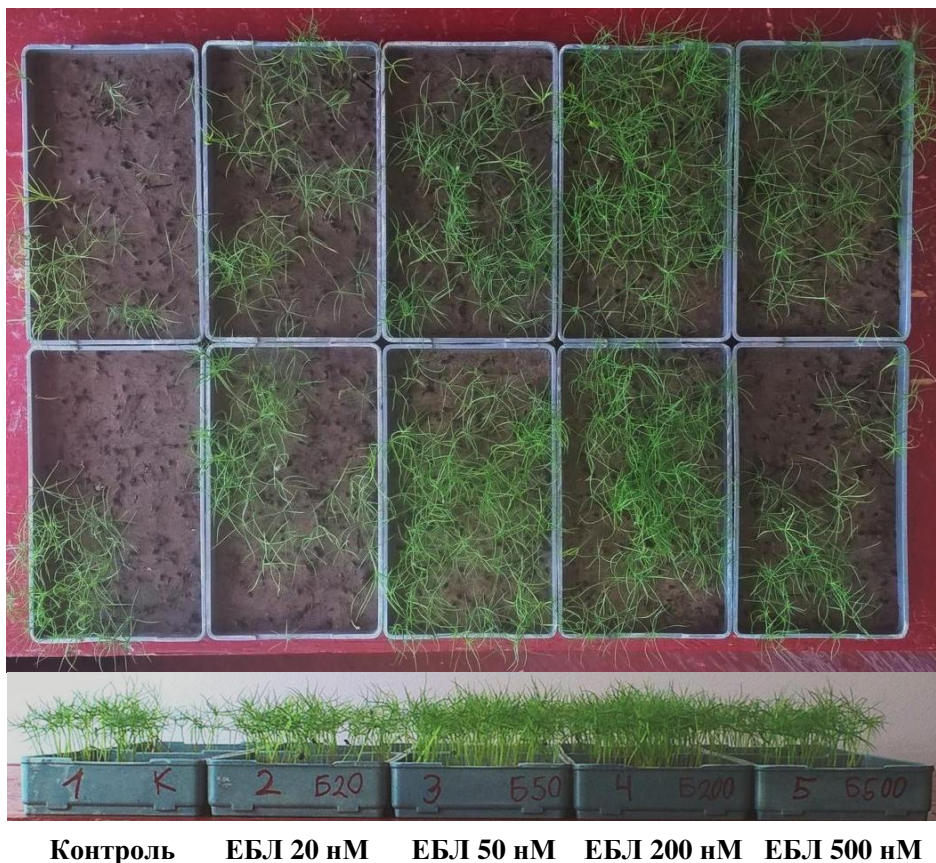


Рис. 2. Стан сіянців сосни звичайної на 60-ту добу експерименту за впливу обприскування розчинами 24-ЕБЛ.

30 сіянців. Зазначені показники визначали, починаючи з 30-ї доби після посіву насіння в ґрунт з інтервалом у 10 днів до 60-ї доби спостережень. Фактично це період від появи ознак інфекційного вилягання до повного припинен-

ня розвитку хвороби. При кожному визначенні усі уражені сіянці видаляли з кювет. У певні часові точки після обприскування рослин розчинами 24-ЕБЛ визначали спектрофотометричним методом вміст хлорофілів і каротиноїдів,

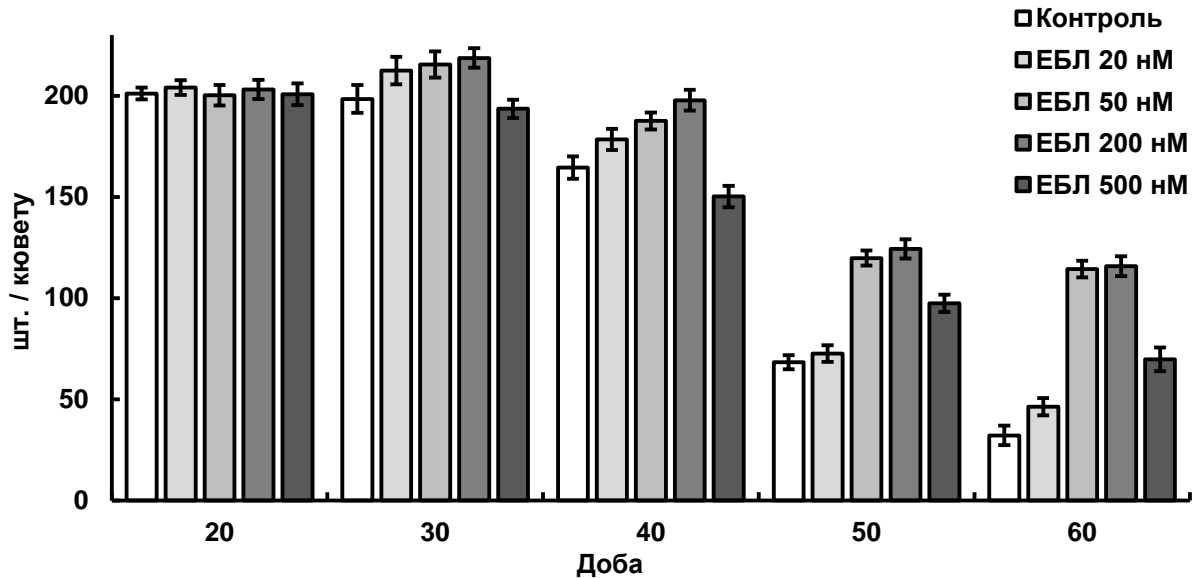


Рис 3. Вплив обприскування розчинами 24-ЕБЛ на кількість сіянцив сосни звичайної, не ушкоджених збудниками інфекційного вилягання.

які екстрагували з надземної частини сіянцив етанолом (Шлык, 1971). В окремих наважках в цей же час визначали вміст флавоноїдів з максимумом поглинання в діапазоні УФ-В області і антоціанів. Надземну частину сіянцив гомогенізували в 1% розчині HCl в метанолі, гомогенат центрифугували 15 хв при 8000 g і вимірювали значення оптичної густини супернатанту при 300, 530 і 657 нм (Nogues, Baker, 2000).

У другій серії дослідів вивчали вплив обробки рослин 24-ЕБЛ на їх стійкість до ґрунтової посухи. Насіння для виключення впливу патогенів перед посівом обробляли неспецифічним фунгіцидом контактної дії «Максим форте» виробництва Syngenta (0,25 г/л флудіоксоніл + 0,15 г/л тебуконазол + 0,1 г/л азоксистробін). Потім по 300 насінин висівали в пластикові кювети з супіщаним лісовим ґрунтом і вирощували сіянци, як описано вище. На 20-ту добу після висіву насіння рослини відповідних варіантів обприскували розчинами 24-ЕБЛ перед створенням посухи. Контрольні рослини обприскували дистильованою водою. Після цього у відповідних варіантах створювали посуху протягом 10 днів шляхом зменшення інтенсивності поливу з поступовим зниженням відносної вологості ґрунту до 25-30% від повної вологості.

На 30-ту добу експерименту (10-та доба посухи) визначали масу рослин, оводненість тканин і величину водного дефіциту та вміст пігментів. Для визначення водного дефіциту рослинний матеріал поміщали в кювети з дистильованою водою на 2 год без доступу світла

для повного насичення тканин водою (Карпец и др., 2016).

Експерименти проводили незалежно двічі з чотирма біологічними повтореннями в кожному. На рисунках наведені середні значення і їх стандартні похибки. Достовірність відмінностей оцінювали за *t*-критерієм Ст'юдента. Крім відзначених окремо, обговорюються різниці, достовірні при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Обробка 24-ЕБЛ посилювала ріст надземної частини сіянцив сосни звичайної. Протягом всього експерименту спостерігався достовірний ефект при використанні концентрацій 50 і 200 нМ (рис. 1, 2). Найменша концентрація 24-ЕБЛ 20 нМ спричиняла стійку тенденцію до посилення росту починаючи від початку вимірювань (різниця достовірна при $P \leq 0,1$). Обробка 24-ЕБЛ у найвищій концентрації (500 нМ) на початку експерименту спричиняла деяке пригнічення росту. Також відзначалася часткова втрата нормальної пігментації та пожовтіння кінчиків хвоїнок у частини рослин. Але наприкінці експерименту такі ефекти високої концентрації нівелювалися і спостерігалось невелике підвищення висоти сіянцив порівняно з контролем, достовірне при $P \leq 0,1$ (рис. 1, 2).

Обробка рослин 24-ЕБЛ у концентраціях 50 і 200 нМ значно зменшувала ступінь ураженості сіянцив збудниками інфекційного вилягання (рис. 2, 3). Істотний ефект у цих варіантах спостерігався починаючи від 40-ї доби експерименту, а збереженість сіянцив наприкінці

ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ

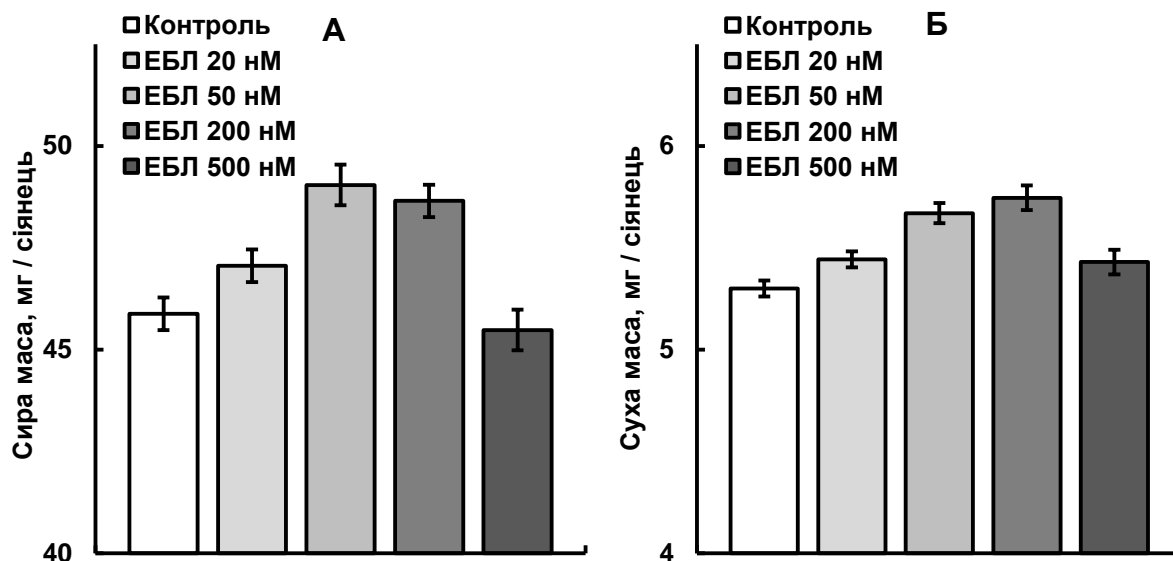


Рис. 4. Вплив 24-ЕБЛ на сирі (А) і суху (Б) масу надземної частини сіянців сосни на 60-ту добу експерименту.

експерименту була приблизно у три рази вищою порівняно з контролем. Позитивний вплив обприскування 500 нМ 24-ЕБЛ відзначався на 50 і 60 добу, хоча й менший порівняно з варіантами з оптимальними концентраціями 50 і 200 нМ. Найнижча концентрація 24-ЕБЛ суттєвого впливу на ураження рослин хворобами не чинила (рис. 2, 3).

Ці результати узгоджуються з відомими даними про зменшення ураження рослин пшениці та огірка грибними хворобами за обробки брасиностероїдами. Примітно, що на цих рослинах зафіксовано зменшення їх ураження грибами роду *Fusarium* за впливу 24-ЕБЛ (Авальбаев и др., 2006; Xia et al., 2011).

Обприскування розчинами 24-ЕБЛ в оптимальних концентраціях 50 і 200 нМ сприяло підвищенню накопичення сирої і сухої маси сіянців сосни на кінець експерименту (рис. 4). Концентрації 20 і 500 нМ істотного впливу на ці показники не чинили.

При використанні оптимальних концентрацій 24-ЕБЛ 50 і 200 нМ протягом всього експерименту відзначалося істотне підвищення вмісту хлорофілу *a* та сумарної кількості хлорофілів (рис. 5, А, В). Достовірний вплив цих концентрацій 24-ЕБЛ на вміст хлорофілу *b* відзначався на 45-ту і 55 добу (рис. 5, Б). При цьому в обох варіантах з брасиностероїдом в усіх часових точках відзначалися вищі значення показника співвідношення хлорофіл *a/b* (рис. 5, Г). Крім того, оптимальні концентрації 24-ЕБЛ 50 і 200 нМ сприяли збільшенню вмісту каро-

тиноїдів у сіянцях сосни протягом всього експерименту (рис. 6). Але при цьому достовірного впливу брасиностероїду на вміст флавоноїдних сполук виявлено не було (результати не наводяться).

Як відомо, вміст фотосинтетичних пігментів є інтегральним показником фізіологічного стану рослин. Підвищений вміст хлорофілів зазвичай корелює з накопиченням біомаси (Santos, 2004), а збільшення кількості каротиноїдів може мати значення для стабілізації функціонування фотосинтетичного апарату (Cuttriss et al., 2004). Ймовірно, збільшення вмісту фотосинтетичних пігментів (рис. 5, 6) посилювало роботу асиміляційного апарату і сприяло росту у висоту і накопиченню сирої та сухої маси надземної частини сіянців (рис. 1, 2, 4).

У другій серії експериментів на 10-ту добу посухи майже всі сіянці сосни контрольного варіанту втрачали тургорисцентність (рис. 7). У той же час у варіантах з попереднім обприскуванням розчинами 24-ЕБЛ у концентраціях 50 і 200 нМ збереження тургоресцентності спостерігалось приблизно у половині рослин (рис. 7).

За впливу 10-денної посухи у контрольному варіанті відзначалося значне (приблизно на 70 %) пригнічення росту сіянців порівняно з відповідним контролем за нормального поливу (рис. 8). Зазначимо, що середня висота сіянців на 20 добу експерименту на момент обприскування перед початком посухи становила $2,78 \pm 0,08$ см. Такі негативні ефекти посухи на

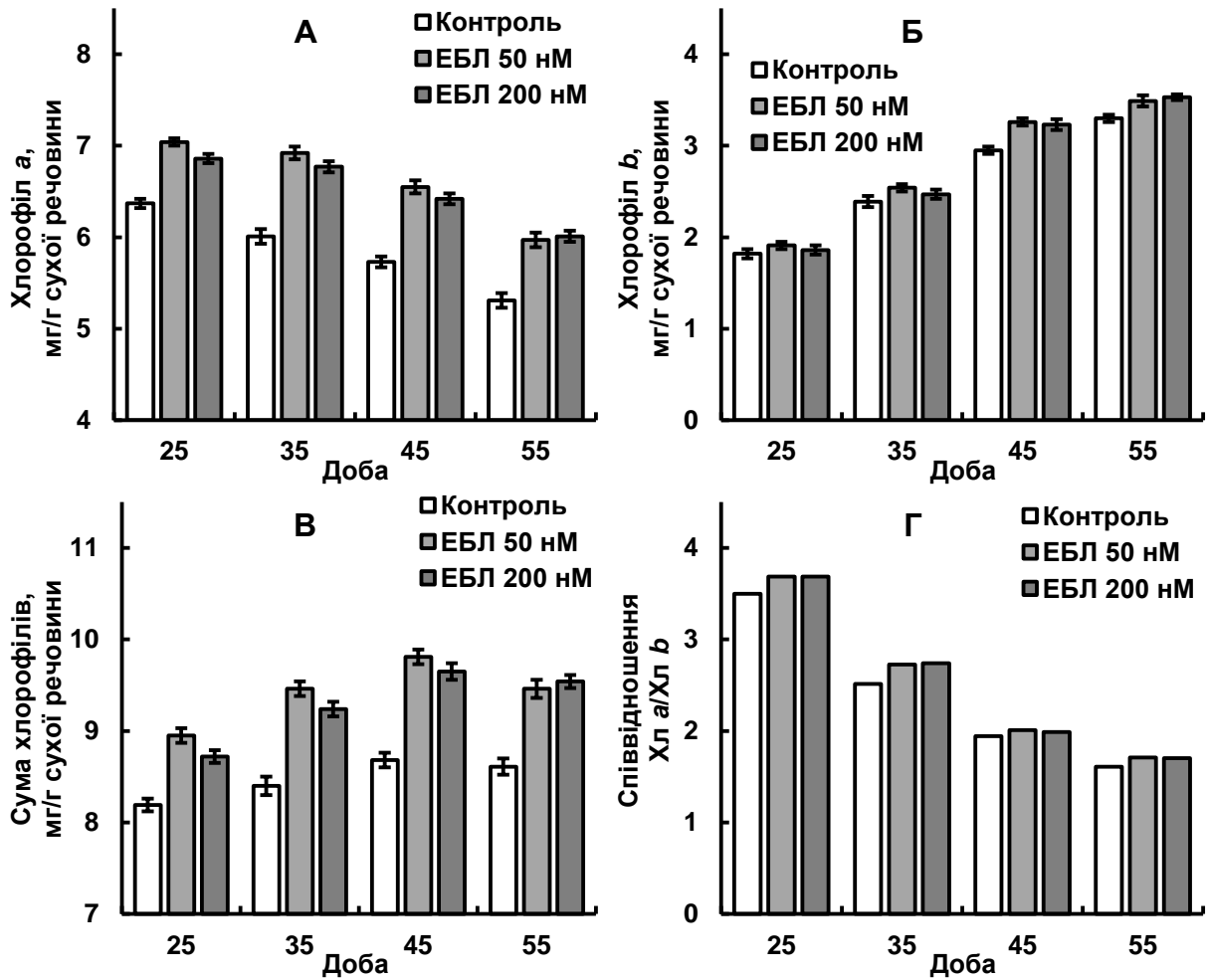


Рис. 5. Вплив 24-ЕБЛ на вміст хлорофілів *a* (А), *b* (Б), їх сумарну кількість (В) і співвідношення хлорофіл *a/b* (Г) у сіянцях сосни.

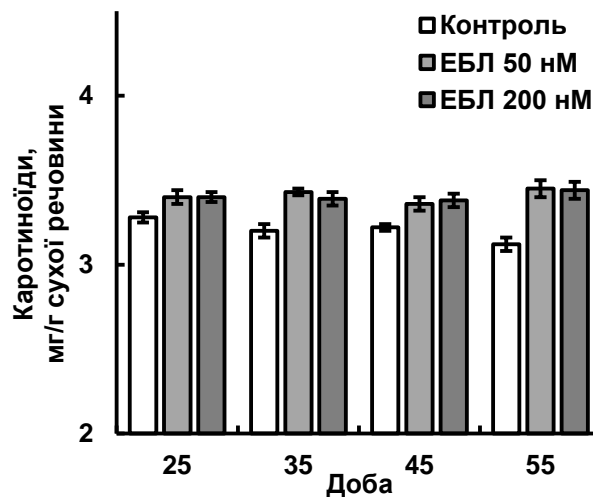


Рис. 6. Вплив 24-ЕБЛ на вміст каротиноїдів у сіянцях сосни

ріст сіянців значною мірою усувалися за попередньої фоліарної обробки 24-ЕБЛ у концентраціях

50 і 200 нМ. Найвища концентрація 24-ЕБЛ 500 нМ чинила дещо меншу, але також достовірну

ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ



Контроль норм. полив Контроль ЕБЛ 20 нМ ЕБЛ 50 нМ ЕБЛ 200 нМ ЕБЛ 500 нМ
за впливу посухи

Рис. 7. Вплив 10-денної посухи та 24-ЕБЛ на стан сіянців сосни звичайної.

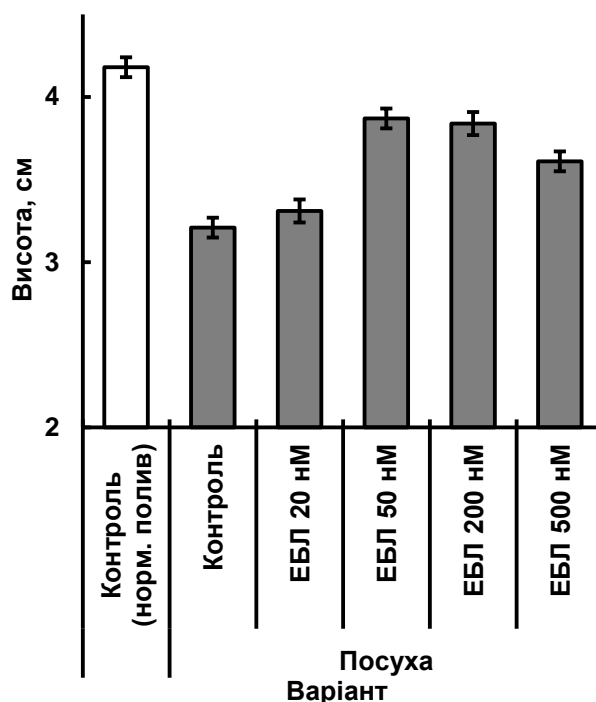


Рис. 8. Вплив 24-ЕБЛ на ріст у висоту сіянців сосни звичайної за умов 10-денної посухи.

позитивну дію на ріст сіянців у висоту за умов посухи (рис. 8), незважаючи на прояв незначних токсичних ефектів за нормального поливу на даному етапі росту (див. вище). Обробка 24-ЕБЛ у найнижчій концентрації на ростові процеси суттєво не впливала.

Під дією посухи помітно зменшувалося накопичення сирої і сухої маси сіянцями сосни порівняно з відповідними варіантами з нормальним поливом (рис. 9, А, Б). Обприскування 24-ЕБЛ у концентраціях 50 і 200 нМ значно пом'яшувало негативну дію посухи на обидва показники. У варіанті 20 нМ також був виявлений позитивний вплив 24-ЕБЛ на сиру масу, а у варіанті 500 нМ – на сиру і на суху масу рослин, але цей ефект проявлявся на рівні тенденції (різниця з контролем достовірна при $P \leq 0,1$).

За умов посухи у контролі зменшувалася оводненість тканин надземної частини рослин

та значно зростав водний дефіцит (рис. 9, В, Г). В усіх варіантах з обробкою рослин 24-ЕБЛ відзначався позитивний вплив брасиностероїду на обидва показники на 10-ту добу посухи. Хоча при цьому за нормального поливу 24-ЕБЛ не чинив істотного впливу на вміст води і водний дефіцит рослин порівняно з відповідним контролем (результати не наводяться).

За умов 10-денної посухи у контролі відзначалося зниження вмісту хлорофілів, каротиноїдів, антоціанів і безбарвних флавоноїдів у надземній частині сіянців сосни порівняно з відповідним контролем з нормальним поливом (Карпец и др., 2018б). В цей же час, незважаючи на підтримання лінійного росту та накопичення біомаси за умов посухи, брасиностероїд достовірно не впливав на вміст фотосинтетичних пігментів і флавоноїдних сполук у сіянцях сосни порівняно з відповідним контрольним варіантом (результати не наводяться). Очевид-

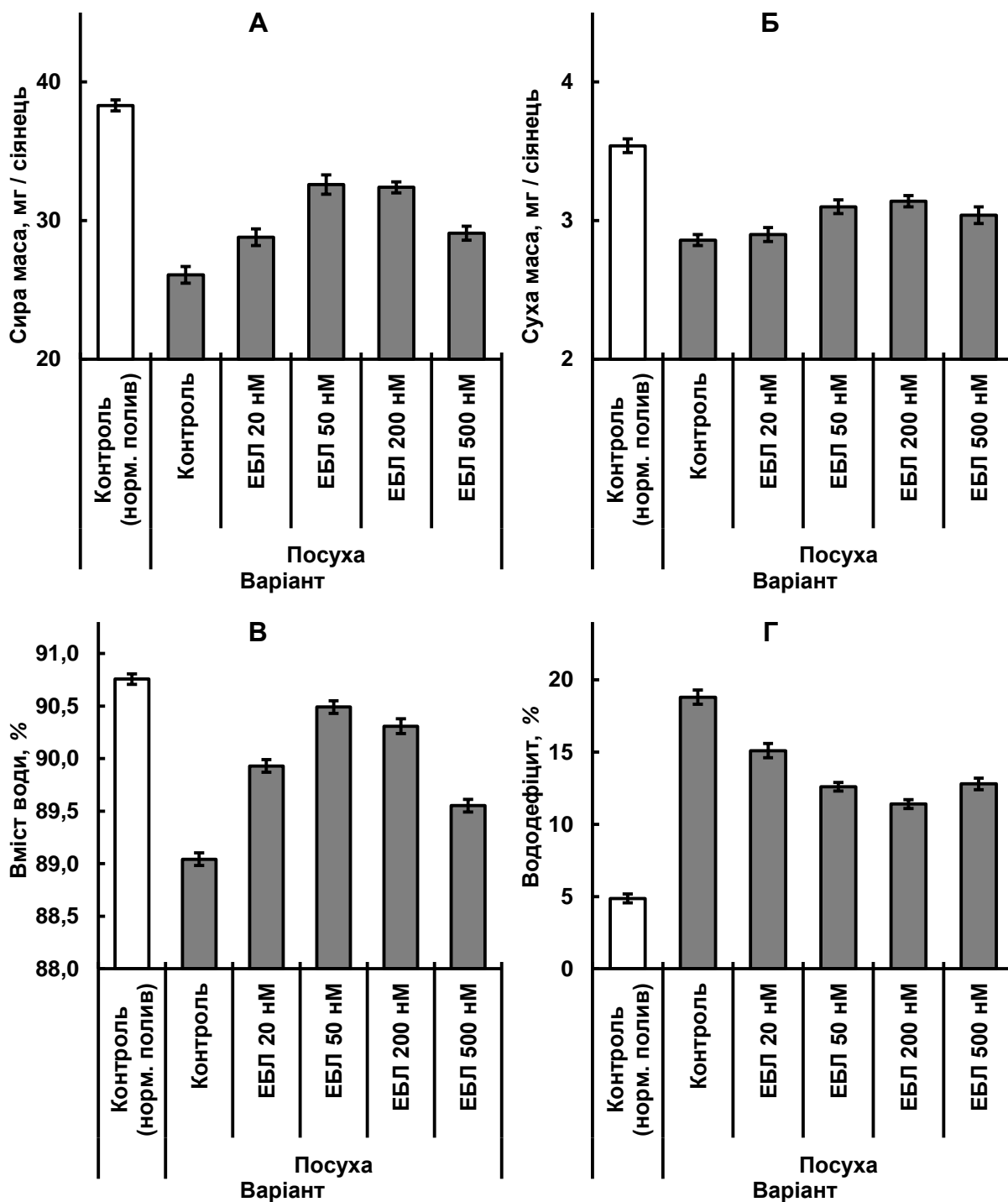


Рис. 9. Сира (А) і суха (Б) маса рослин, вміст води (В) і водний дефіцит (Г) у надземної частини сіянців сосни звичайної на 30-й день експерименту за дії 24-ЕБЛ і 10-денної посухи.

но, що ефекти підвищення показників посухостійкості за дії 24-ЕБЛ не пов'язані зі стабілізацією функціонуванням фотосинтезуючого апарату сіянців сосни звичайної в умовах посухи, а зумовлюється його впливом на інші специфічні протекторні системи.

Однією з причин підвищення стійкості сосни звичайної до осмотичного стресу може

бути посилення під впливом екзогенного брасіностероїду накопичення сумісних осмолітів та активація антиоксидантної системи (Колупаєв, Вайнер, 2014). Як відомо, за дії посухи через обмеження надходження вуглекислого газу до фотосинтезуючих тканин створюються передумови для посилення утворення активних форм кисню, порушення процесів редокс-

ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ

регуляції і розвитку окиснювального стресу (Bartoli et al., 2004; Foyer, Shigeoka, 2011). Зважаючи на це, активація антиоксидантної системи за участю брасиностероїдів може бути важливим механізмом підвищення посухостійкості. Звичайно, це далеко не єдиний шлях впливу брасиностероїдів на стійкість до посухи. Як уже зазначалося, ці фітогормони можуть індукувати накопичення білків дегідринів, які є специфічними маркерами посухостійкості (Юлдашев, 2009).

Ймовірно, брасиностероїди здатні активувати і механізми, що зумовлюють стійкість до хвороб, зокрема, грибних патогенів. На рослинах огірка показана здатність екзогенного 24-ЕБЛ спричинити утворення пероксиду водню за рахунок активації НАДФН-оксидази, що, у свою чергу, сприяє формуванню каскаду захисних реакцій: активації фенілаланінамонійліази, накопиченню вторинних метаболітів, білків WRKY, а також білка PR1 (Xia et al., 2011). Безумовно, метаболізм хвойних істотно відрізняється від такого у інших видів, а отже конкретні механізми індуквання їх захисних реакцій брасиностероїдами чекають свого з'ясування у спеціальних дослідженнях.

ЛІТЕРАТУРА

- Авальбаев А.М., Юлдашев Р.А., Шакирова Ф.М. 2006. Физиологическое действие фитогормонов класса брасиностероидов на растения. Успехи соврем. биологии. 126 (2) : С. 192-200.
- Гродницкая И.Д., Кузнецова Г.В. 2012. Заболевания *Pinus sylvestris* L. и *Pinus sibirica* Du Roi в географических культурах и лесных питомниках Красноярского края и Хакасии. Хвойные борельной зоны. 27 (3-4) : 55-60.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. 2018. Участие оксида азота в индуцировании теплоустойчивости колелоптилей пшеницы 24-эпибрасинолидом: функциональное взаимодействие NO с АФК и ионами кальция. Физиология растений. 65 (2) : 111-120.
- Карпец Ю.В., Шкляревский М.А., Луговая А.А. 2018а. Индуцирование неспецифической устойчивости семян сосны обыкновенной действием донора NO нитропруссидом натрия. 1. Повышение устойчивости к инфекционному полеганию. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 1 (43) : 57-65.
- Карпец Ю.В., Шкляревский М.А., Луговая А.А. 2018б. Индуцирование неспецифической устойчивости семян сосны обыкновенной действием донора NO нитропруссидом натрия. 2. Повышение устойчивости к почвенной засухе. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 1 (43) : 66-75.
- Карпец Ю.В., Вайнер А.О., Обозний О.І., Ястреб Т.О. 2014. Індукування стійкості сянців сосни звичайної до інфекційного вилягання дією екзогенної саліцилової кислоти. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 2 (32) : 63-69.
- Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А. 2014. Механизмы стресспротекторного влияния брасиностероидов на растения. Агротехника. 7 : 69-84.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Луговая А.А. 2016. Сигнальные посредники в реализации физиологических эффектов стрессовых фитогормонов. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 1 (37) : 42-62.
- Кузьмичев Е.П., Соколова Э.С., Мозолевкая Е.Г. 2004. Болезни древесных растений: Справочник. Москва : 120 с.
- Манаенков А.С. 2009. Особенности водного режима корнеобитаемого слоя и засухоустойчивость культур сосны. Лесоведение. 2 : 52-61.
- Пустовойтова Т.Н., Жданова Н.Е., Жолкевич В.Н. 2001. Повышение засухоустойчивости растений под воздействием эпибрасинолида. Докл. АН. 376 (5) : 697-700.
- Соколова Э.С., Галасьева Т.В. 2005. Грибные болезни хвойных пород в питомниках и молодняках. Москва : 43 с.
- Шакирова Ф.М. 2001. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа : 160 с.
- Шлык А.А. 1971. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. Биохимические методы в физиологии растений. Под ред. О.А. Павлиновой. Москва : 154-170.
- Юлдашев Р.А. 2009. Регуляция 24-эпибрасинолидом метаболизма цитокининов в растениях пшеницы: Автореферат дисс. ... канд. биол. наук. Уфа : 23 с.
- Vajguz A., Hayat S. 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. Plant Physiol. Biochem. 47 : 1-8.
- Bartoli C.G., Gomez F., Martinez D.E., Guamet J.J. 2004. Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Exp. Bot. 55 : 1663-1669. doi: 10.1093/jxb/erh199
- Cheon, J., Park, S.Y., Schulz, B., and Choe, S. 2010. Arabidopsis brassinosteroid biosynthetic mutant dwarf7-1 exhibits slower rates of cell division and shoot induction. BMC Plant Biol. 10 : 270.
- Clouse S.D. Brassinosteroids. In: The Arabidopsis Book. 2011 : e0151. doi: 10.1199/tab.0151
- Cuttriss A.J., Pogson B.J. 2004. Carotenoids. Plant Pigments and Their Manipulation, editor Davies K.M. Boca Raton : 57-91.
- Du J., Gerttula S., Li Z., Zhao S.T., Liu Y.L., Liu Y., Lu M.Z., Groover A.T. 2019. Brassinosteroid regulation of wood formation in poplar. New Phytol. doi: 10.1111/nph.15936

- Foyer C.H., Shigeoka S. 2011. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiol.* 155 : 93-100.
- Cukor J., Rasáková N.M., Linda R., Linhart L., Gutsch M.R., Kunes, I. 2018. Effects of Brassinosteroid Application on Seed Germination of Scots Pine under Standard and Heat Stress Conditions. *Baltic Forestry.* 24 (1) : 60-67.
- Howell W.M., Keller G.E., Kirkpatrick J.D., Jenkins R.L., Hunsinger R.N., McLaughlin E.W. 2007. Effects of the plant steroidal hormone, 24-epibrassinolide, on the mitotic index and growth of onion (*Allium cepa*) root tips. *Genet. Mol. Res.* 6 : 50-58.
- Li Y.H., Liu Y.J., Xu X.L., Jin M., An L.Z., Zhang H. 2012. Effect of 24-epibrassinolide on drought stress-induced changes in *Chorispora bungeana*. *Biol. Plant.* 56 : 192-196.
- Nakashita H., Yasuda M., Nitta T., Asami T., Fujioaka S., Arai Yu., Sekimata. K., Takatsuto S., Yamaguchi I., Yoshida S. 2003. Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice. *Plant J.* 33 : 887-898.
- Nogues S., Baker N.R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under UV-B radiation. *J. Exp. Bot.* 51 : 1309-1317.
- Sadeghi F., Shekafandeh A. 2014. Effect of 24-epibrassinolide on salinity-induced changes in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl). *Journal of Applied Botany and Food Quality.* 87 : 182-189. doi:10.5073/JABFQ.2014.087.026
- Santos C.V. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Sci. Horticult.* 103 : 93-99.
- Xia X.J., Wang Y.J., Zhou Y.H., Tao Y., Mao W.H., Shi K., Asami T., Chen Z., Yu J.Q. 2009. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiol.* 150 : 801-814.
- Xia X.J., Zhou Y.H., Ding J., Shi K., Asami T., Chen Z., Yu J.Q. 2011. Induction of systemic stress tolerance by brassinosteroid in *Cucumis sativus*. *New Phytol.* 191 : 706-720.
- Yuan G.F., Jia C.G., Li Z., Sun B., Zhang L.P., Liu N., Wang Q.M. 2010. Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. *Sci. Horticult.* 126 : 103-108.
- Krasnoyarsk Territory and Khakassia. *Khvoynyye Boreal'noy Zony.* 27 (3-4) : 55-60.
- Karpets Y.V., Kolupaev Y.E. 2018. Participation of nitric oxide in 24-epibrassinolide-induced heat resistance of wheat coleoptiles: functional interactions of nitric oxide with reactive oxygen species and Ca ions. *Russ. J. Plant Physiol.* 65 (2) : 177-185.
- Karpets Yu.V., Shklyarevskiy M.A., Lugova G.A. 2018a. Induction of nonspecific resistance of scotch pine seedlings under influence of no donor sodium nitroprusside. 1. Increase of resistance against root rot disease. *Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.* 1 (43) : 57-65.
- Karpets Yu.V., Shklyarevskiy M.A., Lugova G.A. 2018b. Induction of nonspecific resistance of scotch pine seedlings under influence of no donor sodium nitroprusside. 2. Increase in resistance against soil drought. *Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.* 1 (43) : 66-75.
- Karpets Yu.V., Vayner A.A., Oboznyi O.I., Yastreb T.O. 2014. Induction of resistance of seedlings of scotch pine to infectious damping-off (fusarial wilt) by influence of exogenous salicylic acid. *Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.* 2 (32) : 63-69.
- Kolupaev Yu.E., Vayner A.A. 2014. Mechanisms of the stress-protective effect of brassinosteroids on plants. *Agrochimiya.* 7 : 69-84.
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Yastreb T.O., Lugova G.A. 2016. Signal mediators in realization of physiological effects of stress phytohormones. *Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.* 1 (37) : 42-62.
- Kuzmichev E.P., Sokolova E.S., Mozolevskaya E.G. 2004. *Woody Plant Diseases: A Guide.* Moscow : 120 p.
- Manaenkov A.S. 2009. Features of the water regime of the root layer and drought tolerance of pine crops. *Lesovedenie.* 2 : 52-61.
- Pustovoitova T.N., Zhdanova N.E., Zholkevich V.N. 2001. Increasing drought tolerance of plants under the influence of epibrassinolide. *Proc. Acad. Sci.* 376 (5) : 697-700.
- Sokolova E.S., Galasyeva T.V. 2005. *Mushroom diseases of conifers in nurseries and young growth.* Moscow : 43 p.
- Shakirova F.M. 2001. *Nonspecific resistance of plants to stress factors and its regulation.* Ufa : 160 p.
- Shlyk A.A. 1971. Determination of chlorophylls and carotenoids in green leaf extracts. In: *Biochemical methods in plant physiology.* Ed. Pavlinova O.A. Moscow : 154-170.
- Yuldashev R.A. 2009. Regulation of metabolism of cytokinins by 24-epibrassinolide in wheat plants: Thesis diss. ... cand. biol. sci. Ufa: 23 p.
- Bajguz A., Hayat S. 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiol. Biochem.* 47 : 1-8.

REFERENCES

- Avalbaev A.M., Yuldashev R.A., Shakirova F.M. 2006. Physiological effects of phytohormones brassinosteroids on plants. *Uspekhi Sovrem. Biologii.* 126 (2) : 192-200.
- Grodnitskaya I.D., Kuznetsova G.V. 2012. Diseases of *Pinus sylvestris* L. and *Pinus sibirica* Du Tour in geographical cultures and forest nurseries of the

ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ

- Bartoli C.G., Gomez F., Martinez D.E., Guiamet J.J. 2004. Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Exp. Bot.* 55 : 1663-1669. doi: 10.1093/jxb/erh199
- Cheon, J., Park, S.Y., Schulz, B., and Choe, S. 2010. *Arabidopsis* brassinosteroid biosynthetic mutant dwarf7-1 exhibits slower rates of cell division and shoot induction. *BMC Plant Biol.* 10 : 270.
- Clouse S.D. Brassinosteroids. In: *The Arabidopsis Book*. 2011 : e0151. doi: 10.1199/tab.0151
- Cuttriss A.J., Pogson B.J. 2004. Carotenoids. *Plant Pigments and Their Manipulation*, editor Davies K.M. Boca Raton : 57-91.
- Du J., Gerttula S., Li Z., Zhao S.T., Liu Y.L., Liu Y., Lu M.Z., Groover A.T. 2019. Brassinosteroid regulation of wood formation in poplar. *New Phytol.* doi: 10.1111/nph.15936
- Foyer C.H., Shigeoka S. 2011. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiol.* 155 : 93-100.
- Cukor J., Rasáková N.M., Linda R., Linhart L., Gutsch M.R., Kunes, I. 2018. Effects of Brassinosteroid Application on Seed Germination of Scots Pine under Standard and Heat Stress Conditions. *Baltic Forestry.* 24 (1) : 60-67.
- Howell W.M., Keller G.E., Kirkpatrick J.D., Jenkins R.L., Hunsinger R.N., McLaughlin E.W. 2007. Effects of the plant steroidal hormone, 24-epibrassinolide, on the mitotic index and growth of onion (*Allium cepa*) root tips. *Genet. Mol. Res.* 6 : 50-58.
- Li Y.H., Liu Y.J., Xu X.L., Jin M., An L.Z., Zhang H. 2012. Effect of 24-epibrassinolide on drought stress-induced changes in *Chorispora bungeana*. *Biol. Plant.* 56 : 192-196.
- Nakashita H., Yasuda M., Nitta T., Asami T., Fujiooka S., Arai Yu., Sekimata. K., Takatsuto S., Yamaguchi I., Yoshida S. 2003. Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice. *Plant J.* 33 : 887-898.
- Nogues S., Baker N.R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under UV-B radiation. *J. Exp. Bot.* 51 : 1309-1317.
- Sadeghi F., Shekafandeh A. 2014. Effect of 24-epibrassinolide on salinity-induced changes in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl). *Journal of Applied Botany and Food Quality.* 87 : 182-189. doi:10.5073/JABFQ.2014.087.026
- Santos C.V. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Sci. Horticult.* 103 : 93-99.
- Xia X.J., Wang Y.J., Zhou Y.H., Tao Y., Mao W.H., Shi K., Asami T., Chen Z., Yu J.Q. 2009. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiol.* 150 : 801-814.
- Xia X.J., Zhou Y.H., Ding J., Shi K., Asami T., Chen Z., Yu J.Q. 2011. Induction of systemic stress tolerance by brassinosteroid in *Cucumis sativus*. *New Phytol.* 191 : 706-720.
- Yuan G.F., Jia C.G., Li Z., Sun B., Zhang L.P., Liu N., Wang Q.M. 2010. Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. *Sci. Horticult.* 126 : 103-108.

Надійшла до редакції
21.10.2019 р.

INDUCTION OF NONSPECIFIC RESISTANCE OF SEEDLINGS OF SCOTCH PINE BY INFLUENCE OF 24-EPIBRASSINOLIDE

M. A. Shkliarevskiy, D. A. Taraban, Yu. P. Pavlov, Yu. V. Karpets

*Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)
E-mail: plant_biology@ukr.net*

Young seedlings of Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) in the nurseries often undergo the affections by complex of pathogenic fungi, causing the coniferous root rot. At the same time the pine at the early stages of development is rather responsive to the drought and to others abiotic stressors. Based on this, the search of methods of increase in nonspecific resistance of coniferous plants is urgent. Brassinosteroids find broad application in the crop production for the increase in growth and resistance of plants to abiotic and biotic factors. However their influence on stress-resistance of woody plants and, especially, coniferous is almost not investigated. The influence of foliar treatment of pine seedlings with the 24-epibrassinolide (24-EBL) on their growth and resistance to the coniferous root rot and drought have been studied. At normal watering four-time spraying of plants by 24-EBL in concentration of 50 and 200 nM increased their growth in height. Also under the influence of brassinosteroid the increase in content of chlorophyll and carotinoids in the above-ground part of plants was registered. The treatment of plants with 24-EBL considerably reduced their affection by the co-

niferous root rot. At the action of soil drought (the decrease of humidity of substrate up to 25-30% of full moisture capacity), the treatment of plants with 24-EBL reduced the suppression of biomass accumulation, promoted the preservation of water content, close to control variant, and considerably reduced the water deficiency. Foliar treatment of pine seedlings with 24-EBL can be considered as the effective method for the increase in resistance of coniferous plants to the stressors of various nature.

Key words: *Pinus sylvestris, brassinosteroids, 24-epibrassinolide, growth, coniferous root rot, drought resistance*

ИНДУЦИРОВАНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ СЕЯНЦЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ДЕЙСТВИЕМ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА

М. А. Шкляревский, Д. А. Тарабан, Ю. П. Павлов, Ю. В. Карпец

*Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)*

E-mail: plant_biology@ukr.net

Молодые сеянцы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в питомниках часто испытывают поражения комплексом патогенных грибов, вызывающих инфекционное полегание. В то же время сосна на ранних стадиях развития достаточно чувствительна к действию засухи и других абиотических стрессоров. Исходя из этого, актуальным является поиск приемов повышения неспецифической устойчивости хвойных. Брассиностероиды находят широкое применение в растениеводстве для усиления роста и повышения устойчивости растений к абиотическим и биотическим факторам. Однако их влияние на стрессоустойчивость древесных растений и, особенно, хвойных почти не исследовано. Изучали влияние фолиарной обработки сеянцев сосны 24-эпибрасинолидом (24-ЭБЛ) на их рост и устойчивость к инфекционному полеганию и засухе. При нормальном поливе четырехкратное опрыскивание растений 24-ЭБЛ в концентрациях 50 и 200 нМ усиливало их рост в высоту. Также под влиянием брассиностероида отмечалось повышение содержания хлорофиллов и каротиноидов в надземной части растений. Обработка растений 24-ЭБЛ значительно уменьшала их пораженность инфекционным полеганием. При действии почвенной засухи (снижение влажности субстрата до 25-30% от полной влагоемкости) обработка растений 24-ЭБЛ уменьшала эффект угнетения накопления биомассы, способствовала сохранению оводненности, близкой к контрольному варианту, и заметно снижала водный дефицит. Фолиарная обработка сеянцев сосны 24-ЭБЛ может рассматриваться как эффективный прием повышения устойчивости хвойных растений к стрессам различной природы.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris, брассиностероиды, 24-эпибрасинолид, рост, инфекционное полегание, засухоустойчивость*