

УДК 581.1

## РАЗДЕЛЬНОЕ И СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА И ПРОЛИНА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ РАСТЕНИЙ ПРОСА ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ

А.А. ВАЙНЕР<sup>1</sup>, Ю.Е. КОЛУПАЕВ<sup>1</sup>, В.А. ХРИПАЧ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева  
62483 Харьков, п/о «Коммунист-1»  
e-mail: plant\_biology@mail.ru

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси  
220141 Минск, ул. Академика В.Ф. Купревича, 5, корп. 2  
e-mail: khripach@iboch.bas-net.by

Исследовали раздельное и совместное влияние 24-эпибрассинолида (24-ЭБЛ) и пролина на солеустойчивость двухнедельных проростков проса (*Panicum miliaceum* L.) и функционирование их антиоксидантной системы. Предобработка растений 24-ЭБЛ и пролином повышала их выживание после солевого стресса (7-часового воздействия 500 мМ NaCl). При совместной обработке растений 24-ЭБЛ и пролином их позитивное влияние на солеустойчивость суммировалось. Под влиянием 24-ЭБЛ, пролина и их комбинации отмечалось транзиторное повышение содержания пероксида водорода в листьях, однако в условиях последующего действия солевого стресса содержание H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в листьях растений, предварительно обработанных 24-ЭБЛ, пролином или их комбинацией, было ниже, чем у необработанных. Обработка 24-ЭБЛ снижала содержание пролина в листьях растений проса, а под влиянием экзогенного пролина оно существенно возрастало. В то же время после обработки растений 24-ЭБЛ повышалась активность антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы, каталазы и гваяколпероксидазы. Пролин, особенно в сочетании с 24-ЭБЛ, способствовал проявлению повышенной активности антиоксидантных ферментов при солевом стрессе. Валин, используемый в качестве контроля к варианту с пролином, существенно не влиял на все исследуемые показатели. Высказано предположение, что 24-ЭБЛ индуцирует антиоксидантные ферменты, а пролин защищает их в условиях солевого стресса как молекулярный шаперон.

*Ключевые слова:* *Panicum miliaceum* L., brassinостероиды, пролин, антиоксидантная система, солеустойчивость.

Браassinостероиды (БС) относятся к фитогормонам, участвующим в формировании адаптивных реакций растений на действие стрессоров различной природы [8, 14], в том числе засоления. Показано, что растения арабидопсиса *det2*, отличающиеся пониженным эндогенным содержанием БС, характеризуются более высокой чувствительностью к засолению по сравнению с растениями дикого типа [27]. На крестоцветных, бобовых и злаковых зарегистрировано положительное влияние экзогенных БС на солеустойчивость [7, 20, 23].

Известно, что устойчивость растений-гликофитов к засолению может быть обусловлена индуцированием ряда стресс-протекторных систем. Одной из защитных реакций является накопление растениями

полифункциональных низкомолекулярных соединений, в первую очередь пролина [5, 22]. Важной составляющей неспецифической устойчивости растений к действию стресс-факторов, в том числе засоления, является и ферментативная антиоксидантная система [3]. В то же время данные о влиянии БС на функционирование этих систем у растений разных видов неоднозначны.

Так, повышение содержания пролина зарегистрировано в растениях разных видов при их обработке БС перед воздействием солевого стресса [11, 17]. У растений арабидопсиса экзогенный БС ингибировал экспрессию гена  $\Delta^1$ -пирролин-5-карбоксилатсинтазы и подавлял ее активацию, вызываемую светом, засолением и действием абсцизовой кислоты [6].

В ряде работ показана способность БС индуцировать экспрессию генов антиоксидантных ферментов [24, 25]. Есть основания полагать, что посредниками в реализации этого эффекта БС могут быть активные формы кислорода (АФК), транзиторное усиление генерации которых происходит под действием БС [24]. В то же время на растениях риса установлено снижение активности супероксиддисмутазы (СОД) при действии 24-ЭБЛ в физиологически нормальных условиях и в комплексе с засолением [17]. Авторы предположили, что у этого вида БС индуцируют другие защитные системы.

Известно, что между отдельными компонентами стресс-протекторных систем (например, пролином и антиоксидантными ферментами) может происходить достаточно сложное функциональное взаимодействие. На ряде видов дикорастущих растений показано, что стресс-индуцированная аккумуляция пролина и активация СОД находятся в реципрокной зависимости: растения с повышенной стресс-индуцированной аккумуляцией пролина проявляют низкую активность СОД и наоборот [2]. Более того, на растениях шалфея показано участие пролина в регуляции экспрессии разных форм СОД [4]. Также известно, что пролин в живых клетках может действовать в зависимости от локализации и условий и как антиоксидант, и как прооксидант [22].

В связи с изложенным целью настоящей работы было исследование раздельного и совместного влияния экзогенных 24-ЭБЛ и пролина на солеустойчивость растений проса (*Panicum miliaceum* L.) на ранних фазах развития и функционирование их антиоксидантной системы. Выбор проса как объекта исследования обусловлен тем, что оно относится к числу немногих культурных растений, на которых стресс-протекторные эффекты БС до сих пор практически не изучались.

## Методика

В работе использованы растения проса сорта Константиновское. Семена обеззараживали путем 30-минутной обработки 3 %-м пероксидом водорода и проращивали в чашках Петри с добавлением дистиллированной воды в течение 4 сут. Затем проростки переносили в пластиковые кюветы, размещая их на завернутых в марлю стеклянных пластинах. Растения выращивали на питательной смеси Хогланда (0,2 нормы) при 12-часовом световом периоде и освещенности 5 клк, температура воздуха  $25 \pm 1$  °С (днем) и  $20 \pm 1$  °С (ночью). На 9-е сутки в кюветы опытных вариантов добавляли 24-эпибрассинолид в конечной концентрации 10 нМ, пролин (5 мМ), валин (5 мМ) или комбинацию 24-ЭБЛ и ами-

нокислот. Время инкубации растений на растворах 24-ЭБЛ и (или) аминокислот — 24 ч. Эффективные концентрации фитогормона и аминокислот были выбраны на основании предварительных опытов. Затем часть 10-суточных растений подвергали потенциально летальному солевому стрессу путем добавления NaCl в среду инкубации (конечная концентрация 500 мМ, время воздействия — 7 ч). После этого проростки снова переносили на питательную смесь без добавления хлорида натрия. Выживаемость растений оценивали через 4 сут после стрессового воздействия.

Содержание пероксида водорода определяли ферроцианидным методом, экстрагируя его из растертых на холоде листьев 5 %-м раствором ТХУ [18]. Содержание пролина находили по Бейтсу и соавт. [9].

Для установления активности антиоксидантных ферментов навески листьев (250 мг) гомогенизировали на холоде в 10 мл 0,15 М К<sub>2</sub>Na-фосфатного буфера (рН 7,6) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ), дитиотреитола (1 мМ), фенилметилсульфонилфторида (0,5 мМ) и детергента Тритона X-100 (конечная концентрация 0,1 %). Для анализа использовали надосадочную жидкость после центрифугирования гомогената при 8000 g в течение 10 мин при 4 °С. Активность СОД (КФ 1.15.1.1), каталазы (КФ 1.11.1.6) и гваяколпероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли по методикам, описанным ранее [1].

На рисунках приведены средние значения трех независимых опытов и их стандартные отклонения.

## Результаты и обсуждение

Обработка растений проса 24-ЭБЛ существенно повышала их выживаемость после потенциально летального солевого стресса (рис. 1). Под влиянием экзогенного пролина солеустойчивость растений также повышалась. В варианте с комбинированной обработкой растений 24-ЭБЛ и пролином их защитные эффекты суммировались. Валин, который использовался в качестве дополнительного контроля по отношению к пролину, вызывал незначительное повышение солеустойчивости растений проса.

Под влиянием 24-ЭБЛ в листьях происходило транзиторное повышение содержания пероксида водорода с максимумом через 7 ч (рис. 2). К моменту окончания инкубации проростков на растворе 24-ЭБЛ (24 ч) содержание H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> снижалось до уровня контроля. Проллин также вызывал обратимое возрастание содержания пероксида водорода, а при его сов-

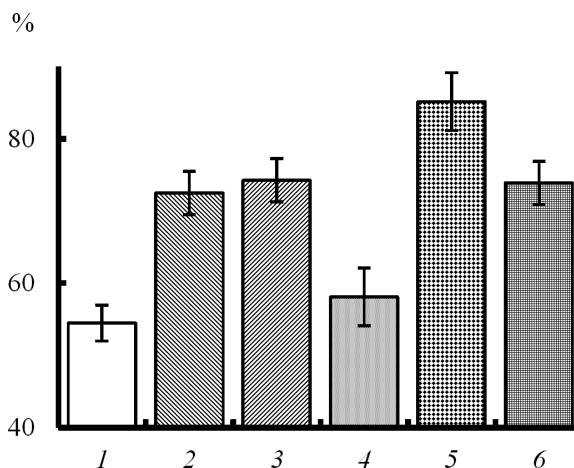


Рис. 1. Выживание (%) растений проса после 7-часового воздействия NaCl (500 мМ). Здесь и на рис. 2—4:

1 — контроль; 2 — 24-ЭБЛ (10 нМ); 3 — пролин (5 мМ); 4 — валин (5 мМ); 5 — 24-ЭБЛ (10 нМ) + пролин (5 мМ); 6 — 24-ЭБЛ (10 нМ) + валин (5 мМ)

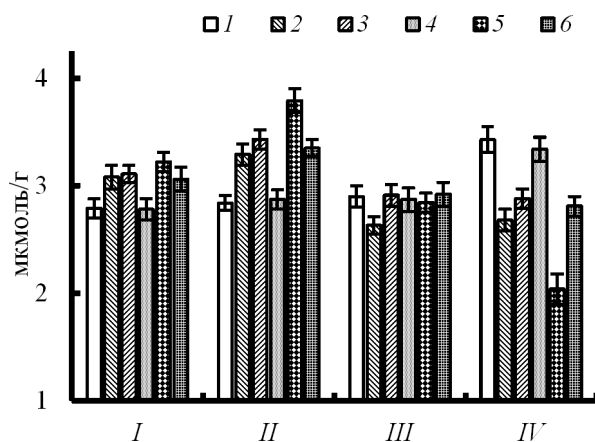


Рис. 2. Содержание пероксида водорода в листьях проса (мкмоль/г сухого вещества):

I—III — соответственно через 4, 7 и 24 ч после начала обработки эффекторами; IV — через 7 ч воздействия 500 мМ NaCl

ний от окислительного стресса, вызываемого засолением.

Под влиянием 24-ЭБЛ содержание пролина в листьях растений проса снижалось (рис. 3). Обработка растений 5 мМ экзогенным пролином вызвала 6-кратное увеличение его содержания в листьях. Под влиянием экзогенного валина содержание пролина в тканях растений не изменялось. При действии комбинации 24-ЭБЛ и пролина его содержание в листьях слабо отличалось от его значения в варианте только с пролином. В варианте совместного действия 24-ЭБЛ и валина содержание пролина было ниже, чем в контроле.

В ответ на солевой стресс количество пролина в листьях растений проса увеличивалось (см. рис. 3). В то же время в варианте с предобработкой растений 24-ЭБЛ повышение содержания пролина при действии NaCl было менее существенным. При совместном влиянии засоления и пролина его содержание в листьях возрастало в 6,4 раза. Обработка валином вызвала незначительное увеличение содержания пролина в ли-

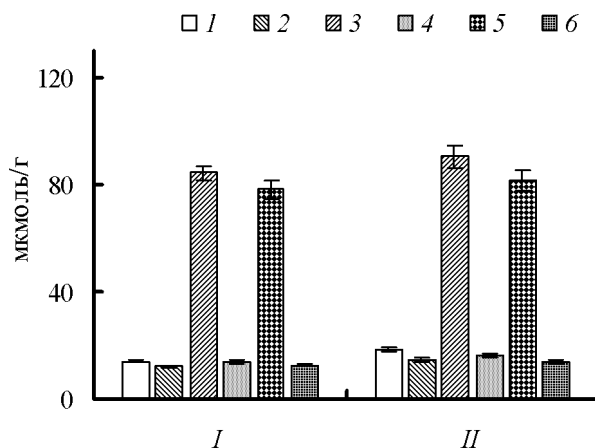


Рис. 3. Содержание пролина в листьях проса (мкмоль/г сухого вещества) до (I) и после (II) 7-часового воздействия 500 мМ NaCl

местном действии с 24-ЭБЛ эффекты суммировались. Валин сам по себе не оказывал существенного влияния на содержание  $H_2O_2$  в листьях и не изменял эффекты 24-ЭБЛ.

После воздействия солевого стресса, наоборот, в вариантах с 24-ЭБЛ, пролином и особенно с их сочетанием содержание  $H_2O_2$  было заметно ниже, чем в контроле. Можно полагать, что в этом случае 24-ЭБЛ и пролин обеспечивают защиту расте-

ниях после солевого стресса, что может быть связано с использованием экзогенной аминокислоты в клеточном метаболизме как источника азота для синтеза дополнительного количества пролина. В варианте с комбинацией 24-ЭБЛ и пролина содержание эндогенного пролина в листьях после солевого стресса было немного меньше, чем в варианте с обработкой только пролином. Содержание пролина в варианте с дейст-

вием 24-ЭБЛ и валина при солевом стрессе существенно не отличалось от варианта с одним 24-ЭБЛ (см. рис. 3).

Таким образом, у растений проса в условиях наших экспериментов под влиянием 24-ЭБЛ содержание пролина снижалось. Другой стресс-протекторной системой, которая может индуцироваться как БС [24], так и пролином [4], является комплекс антиоксидантных ферментов.

Под влиянием 24-ЭБЛ в листьях проростков отмечалось повышение активности СОД и каталазы, проявлялась тенденция к возрастанию активности гваяколпероксидазы (рис. 4). Экзогенные пролин и валин сами по себе не влияли на активность исследуемых антиоксидантных ферментов. В вариантах с комбинированным воздействием 24-ЭБЛ и пролина, а также 24-ЭБЛ и валина активность всех трех энзимов достоверно не отличалась от соответствующих величин в варианте с одним 24-ЭБЛ.

Солевой стресс вызывал снижение активности СОД в листьях проса (см. рис. 4), предобработка 24-ЭБЛ полностью, а пролином — частично предотвращала этот эффект. В варианте с комбинацией 24-ЭБЛ и пролина активность СОД в условиях солевого стресса существенно превышала соответствующие значения в вариантах с действием этих эффекторов в отдельности. Валин не оказывал влияния на активность СОД в листьях при солевом стрессе и не модифицировал эффект 24-ЭБЛ при комбинированном воздействии.

Воздействие NaCl существенно не влияло на активность каталазы, обработка 24-ЭБЛ повышала ее на фоне солевого стресса (см. рис. 4). Пролин и валин не влияли на активность фермента в условиях действия на растения NaCl. Также обе аминокислоты не оказывали влияния на проявление эффектов 24-ЭБЛ на активность каталазы в листьях растений, подвергнутых солевому стрессу.

Обработка растений хлоридом натрия повышала активность гваяколпероксидазы, а предварительное воздействие 24-ЭБЛ — приводило к усилению этого эффекта (см. рис. 4). Экзогенные пролин и валин не

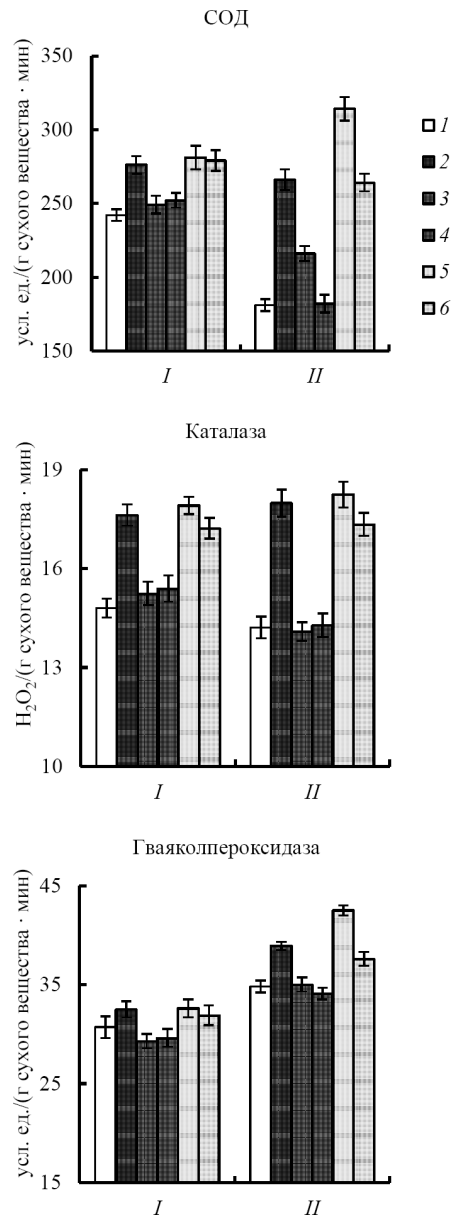


Рис. 4. Активность антиоксидантных ферментов в листьях проса до (I) и после (II) 7-часового воздействия 500 мМ NaCl

оказывали влияния на активность этого фермента в листьях в условиях солевого стресса. В то же время при комплексном действии 24-ЭБЛ и пролина (но не валина) активность гваяколпероксидазы в листьях растений, подвергнутых солевому стрессу, была выше, чем в варианте с обработкой только 24-ЭБЛ.

Таким образом, 24-ЭБЛ вызывал повышение активности антиоксидантных ферментов в листьях, особенно на фоне солевого стресса. Обработка экзогенным пролином не влияла на активность ферментов в физиологически нормальных условиях, но вызывала некоторое повышение активности СОД в условиях засоления. В то же время комбинированное воздействие 24-ЭБЛ и пролина вызывало существенное повышение активности СОД и гваяколпероксидазы в листьях в условиях солевого стресса. Валин, используемый нами как дополнительный контроль к вариантам с пролином, подобных эффектов не проявлял, что позволяет говорить о специфичности действия пролина.

Можно полагать, что 24-ЭБЛ, вызывая формирование соответствующего АФК-сигнала, индуцирует экспрессию генов антиоксидантных ферментов [24]. Следует отметить относительно небольшой прооксидантный эффект пролина, проявлявшийся в наших экспериментах в повышении под его влиянием содержания пероксида водорода в листьях (см. рис. 2). Однако, в отличие от 24-ЭБЛ, в вариантах без воздействия солевого стресса пролин не влиял на активность антиоксидантных ферментов. Возможно, это связано с различной клеточной локализацией АФК, образующихся под влиянием 24-ЭБЛ и пролина. Согласно литературным данным, 24-ЭБЛ индуцирует образование АФК на клеточной поверхности за счет активации НАДФН-оксидазы [24], в то время как при избытке пролина усиливается образование АФК в дыхательной цепи митохондрий [22]. Следует отметить, что пролин в сочетании с 24-ЭБЛ вызывал повышение активности СОД и гваяколпероксидазы на фоне солевого стресса (см. рис. 4). Такой эффект может быть связан с шаперонным и (или) антиоксидантным действием пролина.

Известно, что пролин обладает способностью предотвращать образование агрегатов белковых молекул при действии денатурирующих агентов [19]. Показано его защитное влияние на нитратредуктазу растений риса, подвергнутых действию осмотического стресса и алюминия [21]. В условиях *in vitro* пролин восстанавливал активность РНКазы проростков риса после денатурирующего действия арсенита на этот белок [16]. В культурах клеток показано повышение экзогенным пролином активности СОД, каталазы, ферментов аскорбат-глутатионового цикла при действии засоления, ионов кадмия, агентов окислительного стресса [10, 12, 13, 26].

Известно, что пролин может играть роль низкомолекулярного антиоксиданта, вступая в реакции с пероксидом водорода, гидроксильным радикалом и синглетным кислородом с образованием стабильных свободных радикалов и тем самым защищая белки, в том числе антиоксидантные ферменты, от окислительных повреждений [15].

Таким образом, в условиях наших экспериментов пролин способствовал сохранению активности СОД и гваяколпероксидазы при действии на растения хлорида натрия.

При комбинированной обработке растений 24-ЭБЛ и пролином в условиях солевого стресса их положительное влияние на активность антиоксидантных ферментов суммировалось. Возможно, такой эффект

указывает на различные механизмы действия 24-ЭБЛ и пролина на антиоксидантную систему: индуцирование синтеза ферментов БС и стабилизация их структуры пролином в стрессовых условиях. Следует отметить, что 24-ЭБЛ уменьшал содержание пролина в листьях. При этом в варианте с комбинированным действием 24-ЭБЛ и пролина экзогенная аминокислота могла компенсировать недостаток эндогенного пролина и способствовать повышению солеустойчивости растений. Это предположение хорошо согласуется с полученными данными о более высокой выживаемости после солевого стресса растений, обработанных совместно 24-ЭБЛ и пролином, по сравнению с растениями, обработанными этими эффекторами в отдельности (см. рис. 1).

Итак, обработка растений проса 24-ЭБЛ активировала ферментативную составляющую антиоксидантной системы, но снижала содержание пролина. Экзогенный пролин способствовал сохранению активности антиоксидантных ферментов в условиях солевого стресса. Стресс-протекторный эффект БС и пролина при их совместном применении суммировался, что проявлялось в высокой активности СОД и пероксидазы и повышении выживаемости растений после потенциально летального действия хлорида натрия.

1. Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Луговая А.А., Обозный А.И. Влияние экзогенной жасмоновой кислоты на про-/антиоксидантную систему колеоптилей пшеницы в связи с устойчивостью к гипертермии // Физиология растений. — 2014. — **61**, № 3. — С. 367–375.
2. Карташов А.В., Радюкина Н.Л., Иванов Ю.В. и др. Роль антиоксидантных систем при адаптации дикорастущих видов растений к солевому стрессу // Там же. — 2008. — **55**, № 4. — С. 516–522.
3. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Обозный А.И. Антиоксидантная система растений: участие в клеточной сигнализации и адаптации к действию стрессоров // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2011. — Вип. 1 (22). — С. 6–34.
4. Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Макарова С.С., Кузнецов В.В. Экзогенный пролин модифицирует дифференциальную экспрессию генов супероксиддисмутазы в растениях шалфея при UV-B облучении // Физиология растений. — 2011. — **58**, № 1. — С. 49–57.
5. Тищенко Е.Н. Генетическая инженерия с использованием генов метаболизма L-пролина для повышения осмотолерантности растений // Физиология растений и генетика. — 2013. — **45**, № 6. — С. 488–500.
6. Abraham E., Rigo G., Szekeley G. et al. Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. — 2003. — **51**. — P. 363–372.
7. Ali B., Hayat S., Fariduddin Q., Ahmad A. 24-Epibrassinolide protects against the stress generated by salinity and nickel in *Brassica juncea* // Chemosphere. — 2008. — **72**. — P. 1387–1392.
8. Bajguz A., Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses // Plant Physiol. Biochem. — 2009. — **47**. — P. 1–8.
9. Bates L.S., Walden R.P., Tear G.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. — 1973. — **39**. — P. 205–210.
10. Chen C., Dickman M.B. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2005. — **102**. — P. 3459–3464.
11. Fariduddin Q., Khalil R.R., Mir B.A. et al. 24-Epibrassinolide regulates photosynthesis, antioxidant enzyme activities and proline content of *Cucumis sativus* under salt and/or copper stress // Environ. Monit. Assess. — 2013. — **185**. — P. 7845–7856.
12. Hoque M.A., Banu M.N., Nakamura Y. et al. Proline and glycinebetaine enhance antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems and reduce NaCl-induced damage in cultured tobacco cells // J. Plant Physiol. — 2008. — **165**. — P. 813–824.
13. Islam M.M., Hoque M.A., Okuma E. et al. Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells // Ibid. — 2009. — **166**. — P. 1587–1597.
14. Khripach V., Zhabinskii V., De Groot A. Twenty years of brassinosteroids: Steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century // Ann. Bot. — 2000. — **86**. — P. 441–447.

15. Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival // Antioxid. Redox Signal. — 2013. — **19**. — P. 998–1011.
16. Mishra S., Dubey R.S. Inhibition of ribonuclease and protease activities in arsenic exposed rice seedlings: role of proline as enzyme protectant // J. Plant Physiol. — 2006. — **163**. — P. 927–936.
17. 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 Grow. Regul. — 2004. — **42**. — P. 203–211.
18. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, populus gelrica // Plant Physiol. — 1976. — **57**. — P. 308–309.
19. Samuel D., Kumar T.K., Ganesh G. et al. Proline inhibits aggregation during protein refolding // Protein Sci. — 2000. — **9**. — P. 344–352.
20. Shahid M.A., Pervez M.A., Balal R.M. et al. Brassinosteroid (24-epibrassinolide) enhances growth and alleviates the deleterious effects induced by salt stress in pea (*Pisum sativum* L.) // Aust. J. Crop. Sci. — 2011. — **5**. — P. 500–510.
21. Sharma P., Dubey R.S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant // J. Plant Physiol. — 2005. — **162**. — P. 854–864.
22. Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid // Trends Plant Sci. — 2009. — **15**, N 2. — P. 89–97.
23. 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. — **35**. — P. 729–740.
24. Xia X.J., Wang Y.J., Zhou Y.H. et al. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber // Plant Physiol. — 2009. — **150**. — P. 801–814.
25. Xia X.J., Zhou Y.H., Ding J. et al. Induction of systemic stress tolerance by brassinosteroid in *Cucumis sativus* // New Phytol. — 2011. — **191**. — P. 706–720.
26. Xu J., Yin H., Li X. Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. // Plant Cell Rep. — 2009. — **28**. — P. 325–333.
27. Zeng H., Tang Qi, Hua X. Arabidopsis brassinosteroid mutants *det2-1* and *bin2-1* display altered salt tolerance // J. Plant Grow. Regul. — 2010. — **29**. — P. 44–52.

Получено 19.05.2014

#### РОЗДІЛЬНИЙ І СУМІСНИЙ ВПЛИВ 24-ЕПІБРАССИНОЛІДУ ТА ПРОЛІНУ НА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ РОСЛИН ПРОСА ЗА СОЛЬОВОГО СТРЕСУ

А.О. Вайнер<sup>1</sup>, Ю.Є. Колупаєв<sup>1</sup>, В.О. Хринач<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

<sup>2</sup>Інститут біоорганічної хімії Національної академії наук Білорусі, Мінськ

Досліджували роздільний і сумісний вплив 24-епібрасиноліду (24-ЕБЛ) і проліну на солестійкість двотижневих проростків проса (*Panicum miliaceum* L.) і функціонування їх антиоксидантної системи. Передобробка рослин 24-ЕБЛ і проліном підвищувала їх виживаність після сольового стресу (7-годинного впливу 500 мМ NaCl). За сумісної обробки рослин 24-ЕБЛ і проліном їх позитивний вплив на солестійкість сумувався. Під впливом 24-ЕБЛ, проліну та їх комбінації відзначалося транзиторне підвищення вмісту пероксиду водню у листках, проте в умовах подальшої дії сольового стресу вміст H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в листках рослин, попередньо оброблених 24-ЕБЛ, проліном або їх комбінацією, був нижчим порівняно з необробленими. Обробка 24-ЕБЛ знижувала вміст проліну в листках рослин проса, а під впливом екзогенного проліну він істотно зростає. Водночас після обробки рослин 24-ЕБЛ підвищувалась активність антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази, каталази і гваяколпероксидази. Пролін, особливо у поєднанні з 24-ЕБЛ, сприяв прояву підвищеної активності антиоксидантних ферментів за сольового стресу. Валін, що використовувався як контроль до варіанта з проліном, істотно не впливав на всі досліджувані показники. Висловлено припущення, що 24-ЕБЛ індукує антиоксидантні ферменти, а пролін захищає їх в умовах сольового стресу як молекулярний шаперон.



SEPARATE AND COMBINED INFLUENCE OF 24-EPIBRASSINOLIDE AND PROLINE ON ANTIOXIDANT SYSTEM OF MILLET PLANTS UNDER SALT STRESS

A.A. Vayner<sup>1</sup>, Yu.E. Kolupaev<sup>1</sup>, V.A. Khripach<sup>2</sup>

<sup>1</sup>V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University

p/o «Kommunist-1», Kharkiv, 62483, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus

5 Kuprevich St., Minsk, 220141, Belarus

The separate and combined influence of 24-epibrassinolide (24-EBL) and proline on salt tolerance of millet (*Panicum miliaceum* L.) two-week seedlings and their antioxidant system functioning was investigated. Pretreatment of plants with 24-EBL and proline increased their survival rate after salt stress (7-hour exposure to 500 mM NaCl). Under the combined treatment of plants with 24-EBL and proline the positive effects of these compounds on salt tolerance summed. Under the influence of 24-EBL, proline and their combination there was a transient increasing of hydrogen peroxide content in the leaves. At the same time, under subsequent salt stress conditions H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content in leaves of plants pretreated with 24-EBL, proline or their combination was lower than in untreated ones. The treatment with 24-EBL decreased proline content in leaves of millet. Under the influence of exogenous proline its content in plants increased significantly. At the same time after the treatment of plants with 24-EBL the activity of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, catalase and guaiacol peroxidase increased. Proline, especially when combined with a 24-EBL contributed to the increased activity of antioxidant enzymes under salt stress. Valine that was used as a control to proline did not influence on any studied parameter significantly. It was assumed that 24-EBL induced antioxidant enzymes and proline protected them from salt stress as a molecular chaperone.

*Key words:* *Panicum miliaceum* L., brassinosteroids, proline, antioxidant system, salt tolerance.