

На правах рукописи



Мурган Ольга Константиновна

**Сравнительное исследование физиологических механизмов
защитного действия 24-эпибрассинолида и 24-эпикастастерона у
растений картофеля при солевом стрессе**

1.5.21. Физиология и биохимия растений

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет».

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,
доцент

Ефимова Марина Васильевна

Официальные оппоненты:

Шibaева Татьяна Геннадиевна,

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории экологической физиологии растений Института биологии, ведущий научный сотрудник Отдела комплексных научных исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр "Карельский научный центр Российской академии наук".

Захарова Екатерина Владимировна

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории маркерной и геномной селекции растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии".

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

Защита состоится 17 октября 2023 г. в ____ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 24.1.138.01 по специальности 1.5.21. – “Физиология и биохимия растений” (Биологические науки) при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук по адресу: 127276, Москва, ул. Ботаническая, 35. Факс: (495) 977 8018, электронная почта: m-azarkovich@mail.ru; ifr@ippras.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, г. Москва и на сайте <https://ippras.ru/>.

Автореферат разослан «__» ____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук



Азаркович Марина Ивановна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Площадь земель, доступных для сельского хозяйства, сокращается. Возможными причинами могут быть как глобальные – изменение климата, так и локальные – нарушение режимов орошения и использование воды низкого качества, приводящие к засолению пахотных территорий (Welle, Mauter, 2017). Выращивание сельскохозяйственных культур на засоленных территориях приводит к снижению продуктивности, что, в свою очередь, сопровождается серьёзными экономическими потерями (FAO, 2005; Grieve, Grattan, 2012; Ефимова и др., 2014).

В рамках данной проблемы необходимо исследовать физиологию стресс-толерантности сельскохозяйственных культур и разработать новые технологии и препараты для развития устойчивого растениеводства в неблагоприятных условиях окружающей среды, таких как засоление. Одним из способов защиты растений от избыточной концентрации солей может быть обработка их брассиностероидами (БС), обладающими рядом преимуществ перед другими гормонами. Данные соединения хорошо себя зарекомендовали как регуляторы роста и устойчивости растений (Efimova *et al.*, 2018a). Известно, что физиологический эффект брассиностероидов характеризуется высокой степенью вариабельности и зависит от химической структуры гормона, его концентрации, продолжительности воздействия и способа обработки растений (Khrpach *et al.*, 2003; Efimova *et al.*, 2018a; Siddiqui *et al.*, 2018a; Tanveer *et al.*, 2018; Sytar *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019; Коломейчук, 2020). Протекторное влияние брассиностероидов на растения проявляется в микро- и наномолярных концентрациях, что обеспечивает экономическую эффективность при использовании препаратов на их основе (Khrpach *et al.*, 2000). Некоторые лактонсодержащие брассиностероиды (лактон-БС), 24-эпибрассинолид (ЭБЛ) и 28-гомобрассинолид (ГБЛ), уже входят в состав запатентованных препаратов сельскохозяйственного назначения (Аутко и др., 2010, Хрипач и др., 2015). Кетонсодержащие (кетон-БС) брассиностероиды, такие как кастастерон, 24-эпикастастерон (ЭПК) и другие менее изучены (Bondarenko *et al.*, 2017, Kovtun *et al.*, 2021; Kolomeichuk *et al.*, 2021).

Исследование длительного воздействия БС на растения картофеля в условиях гидропонного выращивания проблематично из-за стимулирования гормоном развития

неблагоприятной микрофлоры. На сегодняшний день имеются работы, направленные на оценку морфофизиологических ответных реакций растений при продолжительном воздействии БС в культуре *in vitro* в отсутствие стрессора или в условиях действия абиотического стресса (Verma *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2016). Однако до сих пор не известно, существует ли ростостимулирующий или защитный эффект при длительном влиянии БС на растения в культуре *in vitro* с последующим переносом картофеля в оптимальные или стрессовые условия произрастания.

Исследование механизмов защитного действия brassinosterоидов, в частности, 24-эпибрассинолида (лактон-БС) и 24-эпикастестерона (кетон-БС) на растениях картофеля на разных стадиях онтогенеза (растениях-регенерантах и 14-суточных проростках) в условиях последующего хлоридного засоления открывает широкие перспективы для разработки технологий выращивания сельскохозяйственных культур на полях, непригодных для земледелия, и позволяет получить фундаментальные знания по изучению механизмов памяти растений.

В качестве объекта исследования использовали растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Луговской. Данная культура является четвертой по урожайности сельскохозяйственной культурой и вторым по значимости продуктом растениеводства в Российской Федерации (FAO, 2008). Однако доля семенного картофеля, получаемого внутри страны, составляет около 10% (Агроинвестр, 2020), что свидетельствует о необходимости получения новых сортов и исследования уже имеющихся для улучшения их морфофизиологических характеристик и повышения устойчивости к действию стрессоров.

Цель и задачи исследования. Цель работы заключалась в изучении физиологических механизмов протекторного действия лактон- (24-эпибрассинолида) и кетонсодержащих (24-эпикастестерона) brassinosterоидов на растениях картофеля при последующем солевом стрессе. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Показать влияние brassinosterоидов различной химической структуры (24-эпибрассинолида и 24-эпикастестерона) на физиологические процессы у растений картофеля при длительной (в культуре *in vitro*) и кратковременной (в культуре *in vivo*) экспозиции;

2. Исследовать ответные реакции растений картофеля при хлоридном засолении на уровне морфофизиологических показателей и экспрессии стресс-регулируемых генов в суточной динамике;

3. Сравнить физиологические механизмы защитного действия brassinosterоидов различной химической структуры на растениях картофеля при последующем хлоридном засолении, в зависимости от способа внесения фитогормонов (в культуре *in vitro* или *in vivo*).

Научная новизна. Впервые определено эндогенное содержание brassinosterоидов в микроклонах растений картофеля и показано, что суммарное количество лактон- и кетонсодержащих БС в целых микроклонах, полученных из боковых почек сходно. В работе впервые обнаружено, что влияние разных по структуре БС (лактон- и кетон-БС в концентрации 10 или 1000 нМ) на морфофизиологические характеристики сохраняется через 19 суток после прекращения воздействия фитогормонов. Впервые охарактеризованы ростовые реакции растений картофеля в зависимости от химической структуры, концентрации и продолжительности действия БС. Показано, что лактонсодержащий brassinosterоид более активен, чем его кетонсодержащий аналог. Возможно, именно по этой причине, увеличение концентрации либо продолжительности воздействия лактонсодержащего brassinosterоида наблюдается его ингибирующий эффект, к примеру, на рост (при кратковременной и длительной обработке) или целостность мембран (при длительном воздействии).

Также продемонстрировано влияние хлорида натрия в широком диапазоне концентраций (50-200 мМ) на морфофизиологические параметры растений картофеля, как в суточной, так и часовой динамике. Показана регуляция накопления транскриптов стресс-регулируемых генов на фоне хлоридного засоления в суточной динамике.

Отмечено протекторное действие ЭБЛ на рост побега, и ЭПК на сохранение сырой массы при последующем хлоридном засолении. Показано регуляторное действие brassinosterоидов на содержание пролина при последующем хлоридном засолении (150 мМ), которое определялось химической структурой, концентрацией и продолжительностью воздействия. Длительная обработка растений ЭБЛ при последующем хлоридном засолении поддерживала высокий уровень экспрессии гена

CHS1a, в то время как ЭПК увеличивал уровень транскриптов гена *NHX3*. Кратковременное воздействие гормонов напротив, вызывало снижение уровня транскриптов *NHX3* в ответ на действие ЭПК, и значительное повышение транскриптов гена *APX3*, что согласуется с данными об антиоксидантном статусе растений.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные в работе данные позволяют предложить новые технологии обработки растений брассиностероидами разной химической структуры с целью повышения продуктивности важнейших сельскохозяйственных культур, в том числе, произрастающих на засоленных территориях.

Совокупность полученных экспериментальных данных и сделанные на их основе теоретические обобщения могут использоваться в лекционных и практических курсах «Физиология растений», «Биохимия», «Гормональная регуляция и сигнальные системы высших растений», «Физиологические основы устойчивости растений к факторам среды», «Экологическая физиология растений» и «Сигнальные системы высших растений» для бакалавров и магистрантов ВУЗов страны.

Положения, выносимые на защиту.

1. 24-эпибрассинолид в большей степени, чем 24-эпикастастерон способствует сохранению водоудерживающей способности тканей растений картофеля (сорта Луговской) как при длительном, так и при кратковременном воздействии фитогормонов в контрольных условиях и при отложенном действии стрессора, что в свою очередь проявляется в большем накоплении осмопротекторов и в поддержании осмотического потенциала при солевом стрессе.

2. Оба сравниваемых фитогормона вовлекаются в регуляцию фотохимической активности фотосистемы II в норме и при солевом стрессе. При этом 24-эпикастастерон, в отличие от 24-эпибрассинолида, повышает накопление каротиноидов при длительном (10 нМ) и хлорофилла *a* - при кратковременном воздействии в отсутствии засоления.

3. Сравнимые брассиностероиды регулировали перекисное окисление липидов и активность антиоксидантных ферментов. Физиологический эффект гормонов зависит от используемой концентрации, продолжительности воздействия и структуры гормонов.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на IX Съезде общества физиологов растений России и Всероссийской школе для молодых ученых «Физиология растений – основа создания растений будущего» (Казань, 2019 г.), на Международном биотехнологическом Форуме-выставке «РосБиоТех-2022» (Москва, 2022 г.), и на конференциях: Всероссийской научной конференции с международным участием "Физиология растений и феномика как основа современных фитобиотехнологий" (Нижний Новгород, 2022 г.), Всероссийской научной конференции «Физиология, биотехнология и биоинформатика растений и микроорганизмов – путь в будущее: к 85-летию Р.А. Карначук» (Томск, 2022 г.), 5-й и 6-й Международных научных конференциях «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» (PlantGen2019, PlantGen2021) (Новосибирск, 2019, 2021 гг.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты» (Томск, 2018 г.).

Публикации. По материалам исследования опубликовано 27 печатных работ, в том числе 8 статей, входящих в базу цитирования ВАК, Scopus и /или Web of Science, и 17 – в РИНЦ. Получено 2 патента, подтверждающих интеллектуальную собственность.

Связь с научными программами. Исследование является продолжением магистерской работы и поддержано проектами: (1) РНФ 16-16-04057 "Физиологические механизмы регуляции стресс-устойчивости растений картофеля светом и брассиностероидами", (2) РНФ 23-44-10019 "Стероидные фитогормоны и их новые производные - природный нанобиотехнологический инструмент для высокопродуктивного экологического земледелия", (3) РФФИ 17-54-61016 Египет_а "Протекторный эффект брассиностероидов и жасминовой кислоты при адаптации растений картофеля (*Solanum tuberosum*) к условиям солевого стресса и механическим повреждениям", (4) РФФИ 20-34-90094 Аспиранты "Влияние брассиностероидов на развитие растений картофеля в оптимальных условиях и при хлоридном засолении", (5) РФФИ 20-54-00013 Бел_а "Стероидные фитогормоны как фактор защиты растений от полиметаллического стресса"; программами развития Томского государственного университета «Приоритет 2030» (6) «Физиологические и молекулярные механизмы индуцированного фитогормонами прайминга растений при

хлоридном засолении», (7) «Фотосинтетические и молекулярные механизмы защитного действия мелатонина при солевом стрессе», (8) «Геномное редактирование как инновационная технология управления механизмами стресс-толерантности и повышения продуктивности растений в условиях неблагоприятных изменений природной среды и климата».

Личный вклад соискателя. Работа выполнена на кафедре физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики Национального исследовательского Томского государственного университета, г. Томск, в лаборатории экспрессии генома и лаборатории физиологических и молекулярных механизмов адаптации Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (ИФР РАН), г. Москва. Из исследований, проведенных в соавторстве с коллегами, в исследовательскую работу включены и вынесены на защиту только те результаты, в получении которых автору принадлежит определяющая роль.

Структура и объем диссертации. Материалы диссертации изложены на 157 страницах машинописного текста и включают 50 рисунков и 37 таблиц. Диссертационная работа состоит из разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты», «Заключение», «Выводы» и «Список литературы». Список цитируемой литературы включает 101 источник, из которых 84 – на иностранном языке.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы

Обзор литературы включает информацию об абиотических стрессорах, в частности засолении, причинах деградации почв, солеустойчивости сельскохозяйственных культур, физиологических ответах растений на действие засоления, а также роли брассиностероидов в формировании защитных механизмов растений при солевом стрессе.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали оздоровленные растения-регенеранты семейства *Solanaceae* – *Solanum tuberosum* L. сорта Луговской, который относится к столовым среднеспелым сортам (идентификатор 8301891). Исходные оздоровленные материнские микроклоны *S. tuberosum* были получены из Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный

исследовательский центр картофеля имени А.Г. Лорха» (п. Коренёво, Россия). В дальнейшем было проведено потоковое клонирование растений-регенерантов для увеличения количества исследуемого материала. При черенковании использовали сегмент побега длиной около 10 мм с боковой пазушной почкой и прилегающим листом. Данная культура отличается ценными овощными, продовольственными, кормовыми качествами, является четвёртой по урожайности в мире и второй по значимости культурой растениеводства в Российской Федерации (FAO, 2008).

Условия постановки экспериментов. Культивирование микрочеренков оздоровленных растений картофеля в культуре *in vitro* осуществляли на 50% модифицированной агаризованной безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) (Murashige, Skoog, 1962) (pH = 5.8) с добавлением витаминов и сахарозы. Микроклоны выращивали под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200-250 мкмоль•м⁻²с⁻¹ в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой (16±2) °С (Ефимова и др., 2019). Выращивание растений в агаризованной среде продолжалось в течение 21 суток (первый этап). Второй этап роста растений – адаптация к жидкой 50% среде МС и атмосфере фитокамеры в течение 14 суток. При необходимости, моделирование условий засоления происходило на третьем этапе выращивания: в жидкую 50% среду МС добавляли 0 г/л (Контроль), 2.9 г/л (50 мМ раствор), 4.4 г/л (75 мМ), 8.8 г/л (150 мМ) или 11.7 г/л (200 мМ) хлорида натрия.

В исследовании применялось 6 моделей эксперимента: (1) После первого и третьего этапов растения фиксировали для определения эндогенного содержания БС; (2) Во время первого этапа роста (*in vitro*, в течение 21 суток) вносили в питательную среду 10 или 1000 нМ ЭБЛ или ЭПК, далее (второй и третий этап) растения росли на безгормональной жидкой среде 19 суток – длительное воздействие; (3) После второго этапа роста вносили 0.1, 10 или 1000 нМ ЭБЛ или ЭПК (*in vivo*, 1,4 или 12 часов), далее (на третий этап) переносили растения в свежую питательную среду – кратковременное воздействие; (4) Во время третьего этапа роста в питательную среду вносили 50, 75, 150 или 200 мМ NaCl (фиксировали растения через 1, 3 и 5 суток); (5) Во время первого этапа роста (*in vitro*, в течение 21 суток) вносили в питательную среду 10 или 1000 нМ ЭБЛ или ЭПК и во время третьего этапа – 75 или 150 мМ NaCl; (6) После второго этапа роста вносили 0.1 нМ ЭБЛ или ЭПК (*in vivo*, 4 часа), далее

переносили растения в безгормональную питательную среду для третьего этапа с добавлением 75 или 150 мМ NaCl.

Морфометрические методы. Линейкой измеряли длину осевых органов растений (побег, корень). Подсчёт числа листьев, узлов и столонов проводили вручную. Сырую и сухую биомассу растительного материала оценивали гравиметрическим методом с помощью аналитических весов. Сухую массу определяли после фиксации материала и его высушивания до постоянного веса. Содержание воды (% от сырой массы) рассчитывали, исходя из отношения разности сырой и сухой биомасс, отнесенной к сырой массе.

Биохимические методы со спектрофотометрией. Проводили биохимические реакции с образованием хромофора для определения содержания пролина (Bates *et al.*, 1973), активности супероксиддисмутазы (СОД) (Beauchamp, Fridovich, 1971) и гваяколзависимой пероксидазы (Шевяковой и др. 2002), степени перекисного окисления липидов (Buege, Aust, 1978), а также формировали спиртовую вытяжку фотосинтетических пигментов (Lichtenthaler, 1987) и иммуноферментный препарат для определения содержания разных групп brassinosteroidов. Содержание веществ определяли по значениям оптической плотности с помощью спектрофотометрии. Также биохимическими методами проводили экстракцию общей РНК (Manickavelu *et al.*, 2007), количество и качество образцов нуклеиновых кислот оценивали с помощью наноспектрофотометра.

Биофизические методы применялись для определения ионного состава (методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-MS)), осмотического потенциала (криоскопическим методом), функционирования второй фотосистемы (РАМ-флуориметрия), количества транскриптов генов (ПЦР с детекцией флуоресценции в реальном времени) и определения качества образцов РНК (метод электрофореза в агарозном геле).

Статистический анализ. Достоверность полученных значений анализировали при помощи критерия Стьюдента. Для расчётов использовали программное обеспечение MS Excel 2010.

Основные результаты

1. Прежде чем сравнивать защитное действие 24-эпибрасинолида и 24-эпикастастерона в условиях хлоридного засоления, нами было определено

эндогенное содержание некоторых групп brassinостероидов (в побегах и корнях молодых растений картофеля сорта Луговской).

В основе структуры БС лежит 5 α -холестановый скелет, их различия обусловлены типом и положением функциональных групп в кольцах А/В и алкильных заместителей в боковой цепи.

Полученные данные показали, что в корнях растений уровень всех исследуемых групп БС был выше, чем в побегах (Таблица 1). Однако органоспецифичность эндогенного содержания brassinостероидов в микроклонах определялась типом экспланта. Микроклоны, полученные из апикальной почки, обладали суммарно более высоким содержанием БС. При этом, суммарное содержание лактон- и кетонсодержащих БС в целых микроклонах, полученных из боковых почек, было сходным (Efimova *et al.*, 2019). Это позволило нам проводить дальнейшие исследования на растениях, полученных из боковой почки, используя при этом экзогенные гормоны в эквимоллярных концентрациях. Продолжение роста растений в культуре гидропоники (*in vivo*) способствовало накоплению в побегах БС группы 24-эпи, в то время как в корнях она не изменялась. Примечательно, что в более взрослых растениях картофеля содержание лактон-БС возрастало в 3.2 и 2 раза для побега и корня соответственно, а кетон-БС снижалось на 47% в надземной части растения.

Таблица 1. Содержание brassinостероидов в побегах и корнях микроклонов картофеля, нг/г лиофильно высушенной массы

Почка	Образец	24-эпи-БС	Лактон-БС	Кетон-БС
После этапа роста <i>in vitro</i> (21 сутки)				
Апикальная	Побег	–	2.92 \pm 0.5	10.2 \pm 1.0
	Корень	231.8 \pm 19.2	229.6 \pm 5.5	38.9 \pm 4.8
Боковая	Побег	–	5.5 \pm 0.2	22.4 \pm 1.5
	Корень	87.6 \pm 2.1	49.0 \pm 4.5	33.6 \pm 3.4
После этапа роста <i>in vivo</i> (40 суток)				
Боковая*	Побег	31.9 \pm 2.3	17.8 \pm 0.2	12.0 \pm 1.6
	Корень	87.9 \pm 7.3	100.8 \pm 3.3	40.7 \pm 6.0

Примечание: 24-эпи-БС – содержание 24-эпиbrassinостероидов, Лактон-БС – 7-окса-6-оксобrassinостероидов, Кетон-БС – 6-оксобrassinостероидов, «–» – значения ниже фиксируемого уровня; * – Данные получены совместно с Коломейчук Лилией Викторовной

На этом основании для дальнейших экспериментов мы применяли прикорневое гормональное воздействие, так как корень первым сталкивается с токсичным действием хлорида натрия, кроме того, внесение гормона в питательную среду

позволяет строго контролировать его концентрацию в растворе. Из группы brassinosterоидов были выбраны представители БС ряда 24-эпиБС, которые присутствуют в растениях картофеля - лактон- (24-эпибрассинолид, ЭБЛ) и кетонсодержащие (24-эпикастастерон, ЭПК) БС.

2. Воздействие brassinosterоидов на растения при отсутствии стрессора.

Длительное присутствие БС в питательной среде замедляло рост как надземной, так и подземной частей растения. Наибольшее ингибирование отмечено при использовании ЭБЛ в концентрации 1000 нМ: рост стебля был подавлен в 2 раза (Рисунок 1А), корня – в 5 раз (Рисунок 1Б). После перемещения растений на жидкую безгормональную питательную среду (условия гидропоники – *in vivo*) почти все ростовые показатели растений восстанавливались до контрольных значений.

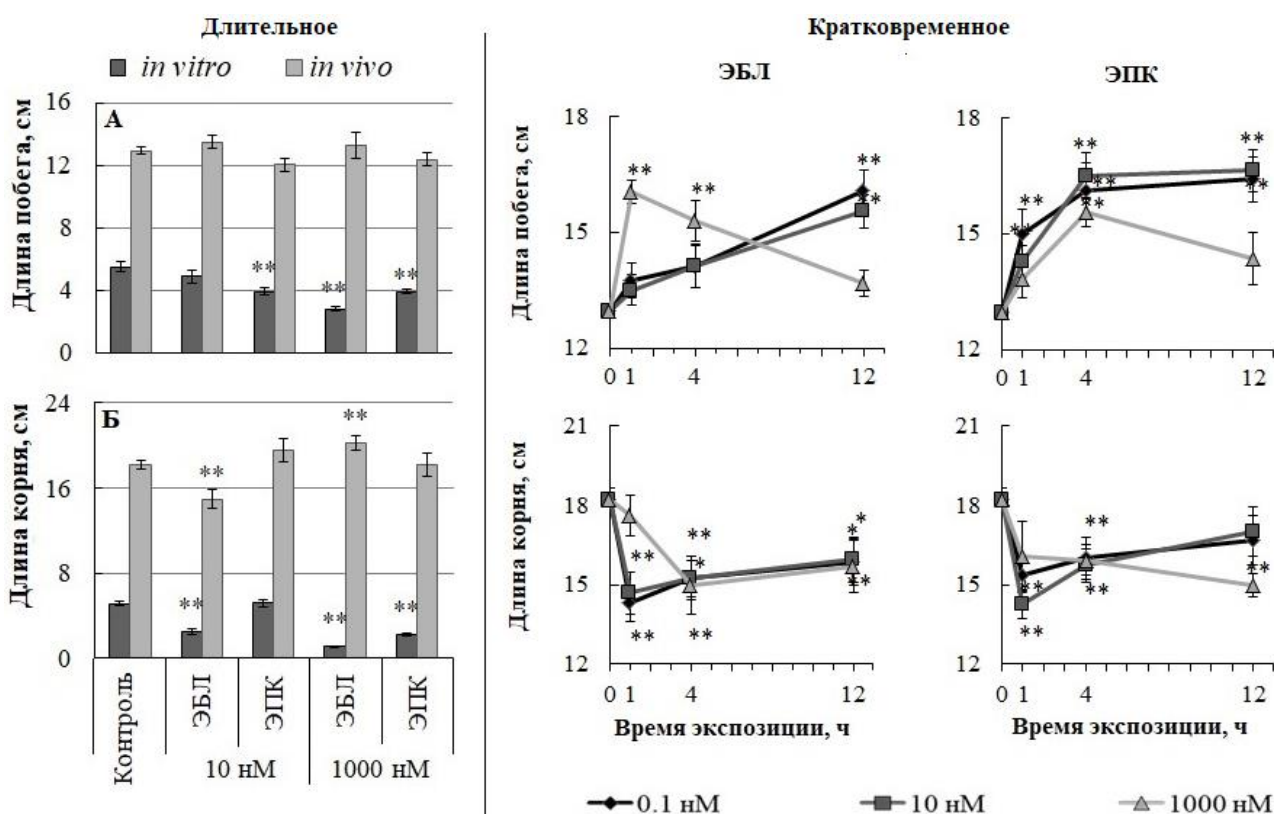


Рисунок 1. Влияние длительной и кратковременной обработки растений картофеля БС на длину побега (А) и корня (Б). ** – достоверные различия между средними значениями экспериментального и контрольного варианта при $p \leq 0.01$, * – при $p \leq 0.05$.

Кратковременное воздействие БС (в культуре *in vivo*) приводило к стимуляции роста надземной части растений картофеля (Рисунок 1). Максимальный эффект ЭБЛ на рост побега (24%) был отмечен для концентрации гормона 0.1 нМ при 12-часовом воздействии или 1000 нМ при 1-часовой обработке растений. В случае с ЭПК

наибольший прирост (27-29%) побега наблюдался при обработке растений растворами низких концентраций гормона (0.1 и 10 нМ) в течение 12 часов или 0.1 нМ в течение 4 часа. Двенадцатичасовое воздействие ЭПК, как и ЭБЛ в концентрации 1000 нМ не сопровождалось стимуляцией роста.

Способность БС аккумулировать воду в тканях и стимулировать рост осевых органов были отмечены при одинаковых вариациях воздействия (1000 нМ длительное и 1000 нМ 1 час, 0.1 нМ 12 часов – кратковременное). Примечательно, что кратковременное воздействие вызывало рост побега и, дополнительно, оводнение тканей стебля (Таблица 2), а длительное – корня (Таблица 3). При этом в отличие от ЭБЛ, ЭПК почти не оказывал влияния на ростовые параметры растений, при длительном воздействии, что может свидетельствовать о меньшем эффекте кетон-БС на «память» микроклонов. Меньшее влияние ЭПК на содержание воды в тканях было отмечено и при кратковременном воздействии.

Таблица 2. Влияние кратковременного воздействия БС на общую сырую массу и на содержание воды (%) в разных частях растения картофеля (возраст 40 суток)

Вариант воздействия	Содержание воды		
	Лист	Стебель	Корень
Лактон-БС – 24-эпибрассинолид			
Контроль	87.17±0.55	92.43±0.16	92.98±0.18
1 час	0.1 нМ	87.37±0.28	91.56±0.53
	10 нМ	87.67±0.36	91.72±0.61
	1000 нМ	88.99±0.28 ^{**}	93.69±0.13 ^{**}
4 часа	0.1 нМ	87.95±0.25	92.27±0.77
	10 нМ	87.24±0.31	90.96±0.46 ^{**}
	1000 нМ	88.48±1.36	93.96±0.25 ^{**}
12 часов	0.1 нМ	88.74±0.22 [*]	93.24±0.19 ^{**}
	10 нМ	88.10±0.29	92.66±0.29
	1000 нМ	87.11±0.28	90.91±0.40 ^{**}
Кетон-БС – 24-эпикастастерон			
Контроль	87.17±0.55	92.43±0.16	92.98±0.18
1 час	0.1 нМ	87.51±0.28	91.26±0.47 [*]
	10 нМ	87.74±0.24	91.66±0.31 [*]
	1000 нМ	91.56±0.67 ^{**}	91.50±0.39 [*]
4 часа	0.1 нМ	87.81±0.39	92.71±0.32
	10 нМ	87.26±0.39	92.82±0.25
	1000 нМ	86.91±0.70	92.18±0.29
12 часов	0.1 нМ	87.80±0.32	92.50±0.32
	10 нМ	87.70±0.33	92.99±0.17 [*]
	1000 нМ	85.96±0.59	90.67±0.42 ^{**}

Таблица 3. Влияние длительной обработки БС растений картофеля на процентное содержание воды (%) в тканях листа, стебля и корня (возраст 40 суток)

Вариант		Лист	Стебель	Корень
Контроль		87.17±0.55	92.43±0.16	92.98±0.18
10 нМ	ЭБЛ	87.76±0.15	92.05±0.24	93.42±0.20
	ЭПК	87.47±0.35	92.35±0.19	92.99±0.20
1000 нМ	ЭБЛ	89.27±0.47 ^{**}	93.09±0.42	94.07±0.33 ^{**}
	ЭПК	86.75±0.32	91.41±0.30 ^{**}	93.49±0.13 [*]

Также стоит отметить, что БС изменяли суммарное содержание фотосинтетических пигментов, за счёт каротиноидов и хлорофилла *b* – при длительном воздействии, и хлорофилла *a* – при кратковременном (Рисунок 2). Эффективность ФС II (Fv/Fm) в результате длительной гормональной обработки (10 нМ БС) увеличилась с 0.85±0.01 до 0.87±0.00. При кратковременном воздействии данный показатель недостоверно изменялся с 0.83±0.02 до 0.82±0.02 (0.1 нМ ЭБЛ) и 0.86±0.01 (0.1 нМ ЭПК).

При длительном воздействии ЭБЛ стимулировал дополнительное накопление осмопротектора пролина (Рисунок 2) и ионов натрия в тканях листа (Рисунок 3) и, как следствие, вызывал снижение осмотического потенциала (Рисунок 2).

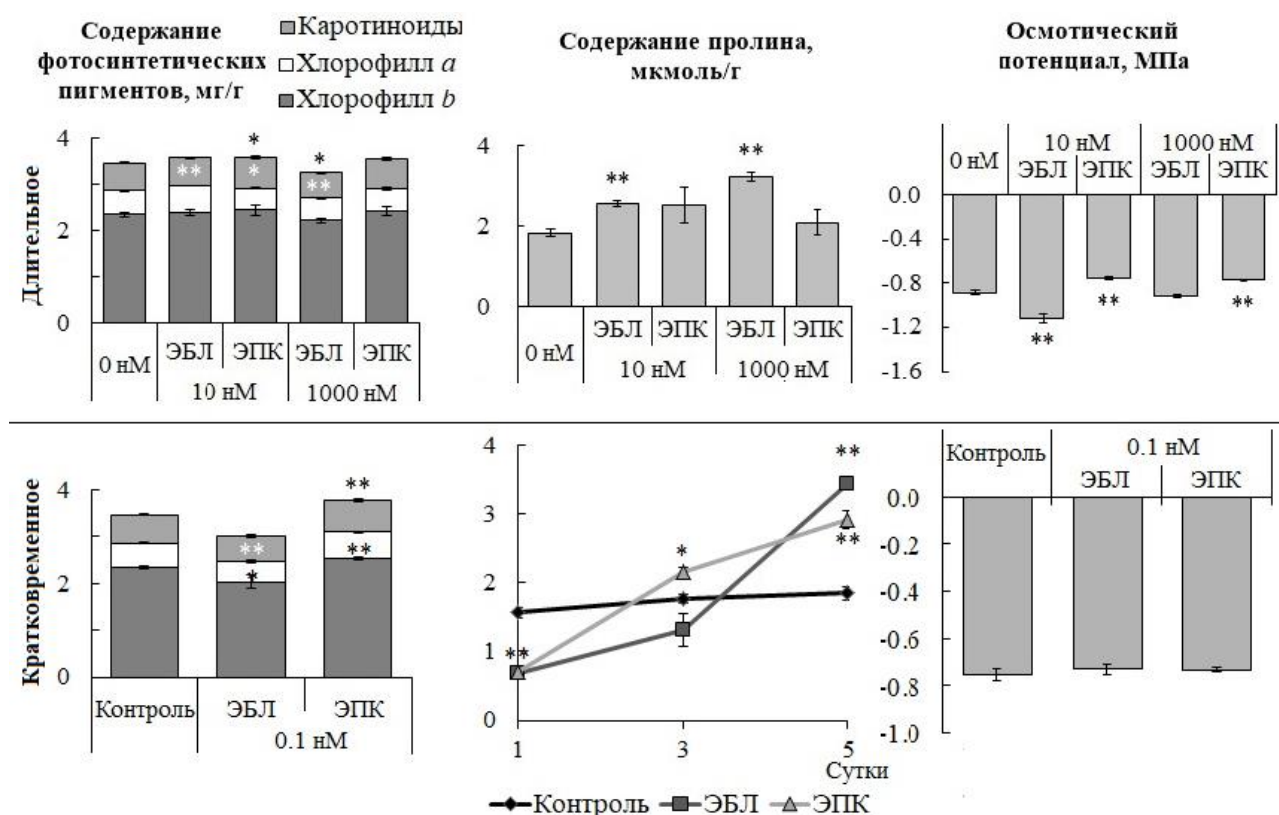


Рисунок 2. Влияние БС на содержание фотосинтетических пигментов, пролина и величину осмотического потенциала растения картофеля (возраст 40 суток).

ЭПК, напротив, регулировал в большей степени селективность поступления одновалентных ионов (Рисунки 3), в зависимости от используемой концентрации фитогормона, и не оказывал влияния на накопление пролина, вызывая повышение осмотического потенциала. Одновременно с этим кратковременное воздействие БС стимулировало накопление пролина в течение 5 суток после прекращения гормональной обработки, но эффект БС не отражался на величине осмотического потенциала клеточного экссудата листьев (Рисунок 2). При этом в ответ на кратковременное воздействие ЭБЛ наблюдалась тенденция к увеличению содержания ионов натрия в листьях (Рисунок 3).

В целом, кратковременное (4 часа) воздействие БС практически не влияло на накопление неорганических ионов в тканях растений (Рисунок 3). Через пять суток после окончания обработки растений фитогормонами вне зависимости от их химической структуры наблюдалось достоверное снижение содержания только ионов калия в листьях на 15-25%. Кроме того, ЭПК повышал содержание ионов магния в листьях, что могло быть важно для накопления хлорофилла *a* (Рисунок 2).

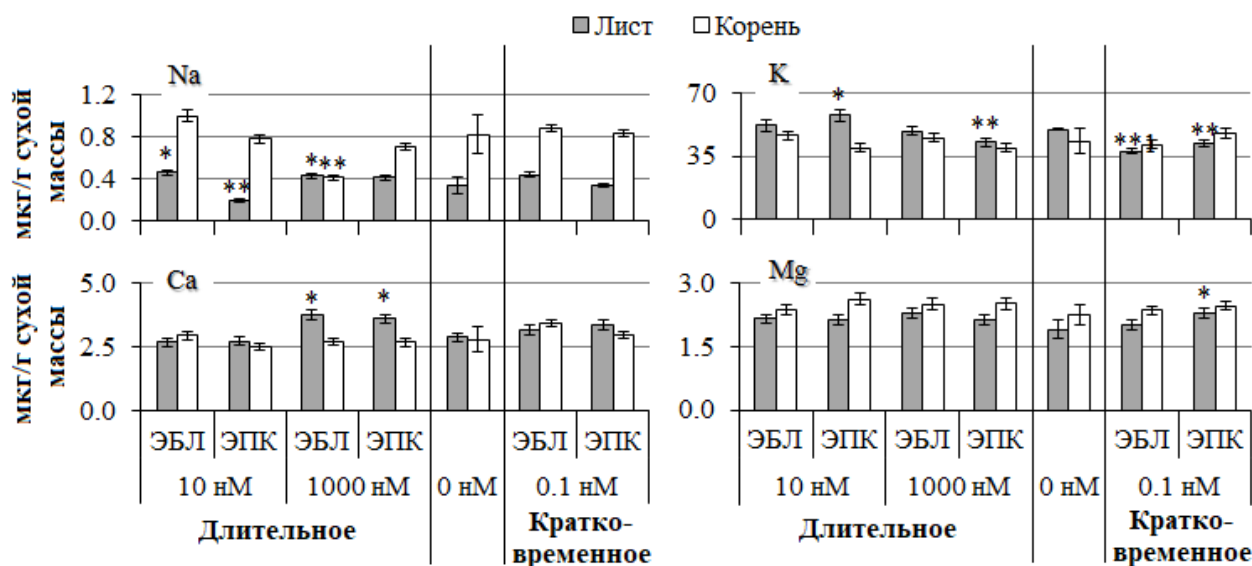


Рисунок 3. Влияние БС на содержание неорганических ионов (мкг/г сухой массы) в листьях и корнях растений картофеля (возраст 40 суток).

В итоге, длительное воздействие БС в меньшей степени влияло на ростовые показатели, однако вызывало более существенные изменения в физиологических характеристиках растений картофеля. При отсутствии стрессора ЭБЛ регулировал осмотический статус растений за счёт органических и неорганических осмолитов при длительном, и оба БС, только за счёт накопления пролина – при кратковременном воздействии.

3. Влияние brassinosterоидов при отложенном действии хлорида натрия.

Нами предварительно было подробно изучено действие широкого диапазона концентраций NaCl на морфофизиологические показатели растений картофеля. Установлено, что через сутки воздействия хлоридного засоления (75-200 мМ) наблюдалось опадение листьев, снижение величины осмотического потенциала и увеличение содержания пролина, через трое – снижение интенсивности роста и значений сырой массы растений, а также повышению ПОЛ. При этом только высокие концентрации хлорида натрия – 150 или 200 мМ через сутки воздействия способствовали снижению содержания фотосинтетических пигментов и повышению активности гваяколзависимой пероксидазы. В то время как максимальная фотохимическая эффективность второй фотосистемы снижалась только через 5 суток воздействия хлоридом натрия (150 мМ).

В связи с чем, мы в корнеобитаемую среду 35 суточных растений, обработанных длительно (21 сутки) или кратковременно (4 часа) ЭБЛ или ЭПК, вносили хлорид натрия до конечной концентрации в растворе 75 или 150 мМ на 5 суток.

Показана органоспецифичность защитного действия brassinosterоидов при последующем засолении. Так, ЭБЛ, при длительном воздействии, восстанавливал длину побега до контрольных значений, вне зависимости от концентрации хлорида натрия (Рисунок 4). Сохранению роста корня при последующем воздействии хлорида натрия способствовали эпикастастерон в концентрации 10 нМ и эпибрасинолид (1000 нМ). В тоже время, кратковременная предобработка ЭБЛ способствовала снижению негативного эффекта хлоридного засоления, через пять при низкой (75 мМ), и через трое суток – при высокой (150 мМ) концентрации, на рост побега. При этом ЭПК практически не влиял на рост осевых органов при последующем засолении (Рисунок 4).

Из рисунка 5 следует, что БС способствовали сохранению влаги в тканях растений в условиях отложенного действия хлорида натрия. При длительном воздействии ЭБЛ и последующем хлоридном засолении (75 мМ NaCl) отмечена аккумуляция, а при более сильном засолении – сохранение уровня воды в корнях (с 1 по 3 сутки).

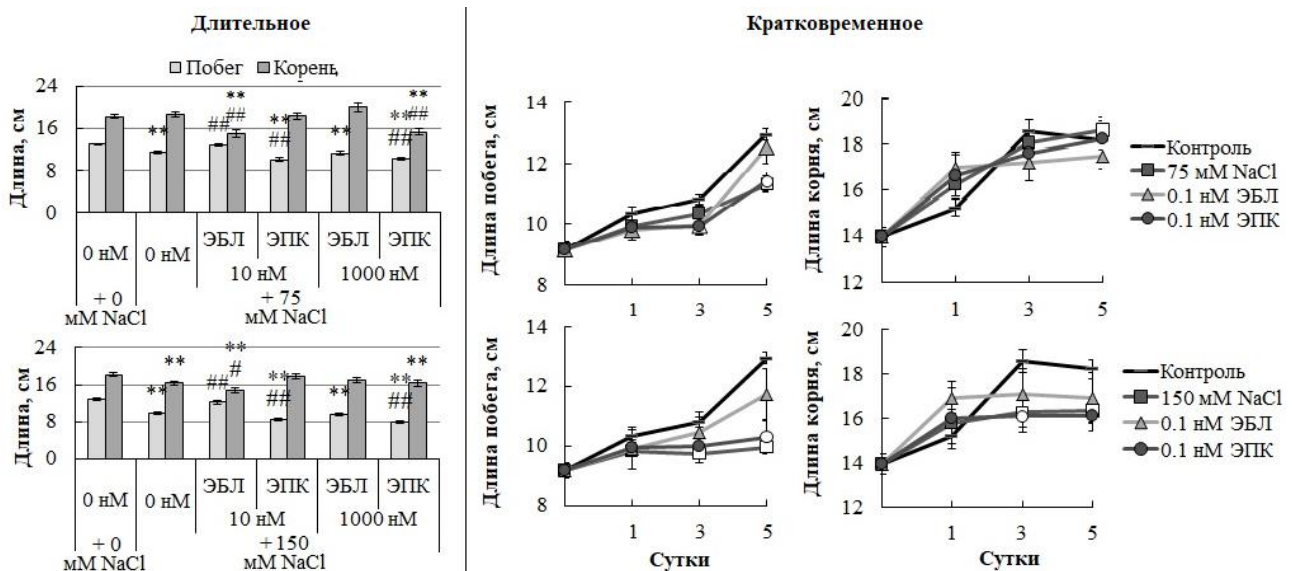


Рисунок 4. Влияние БС на длину осевых органов растений картофеля (возраст 35-40 суток) при последующем хлоридном засолении. * или белый цвет маркера – достоверные различия между средними значениями экспериментального и контрольного варианта при $p \leq 0.05$.

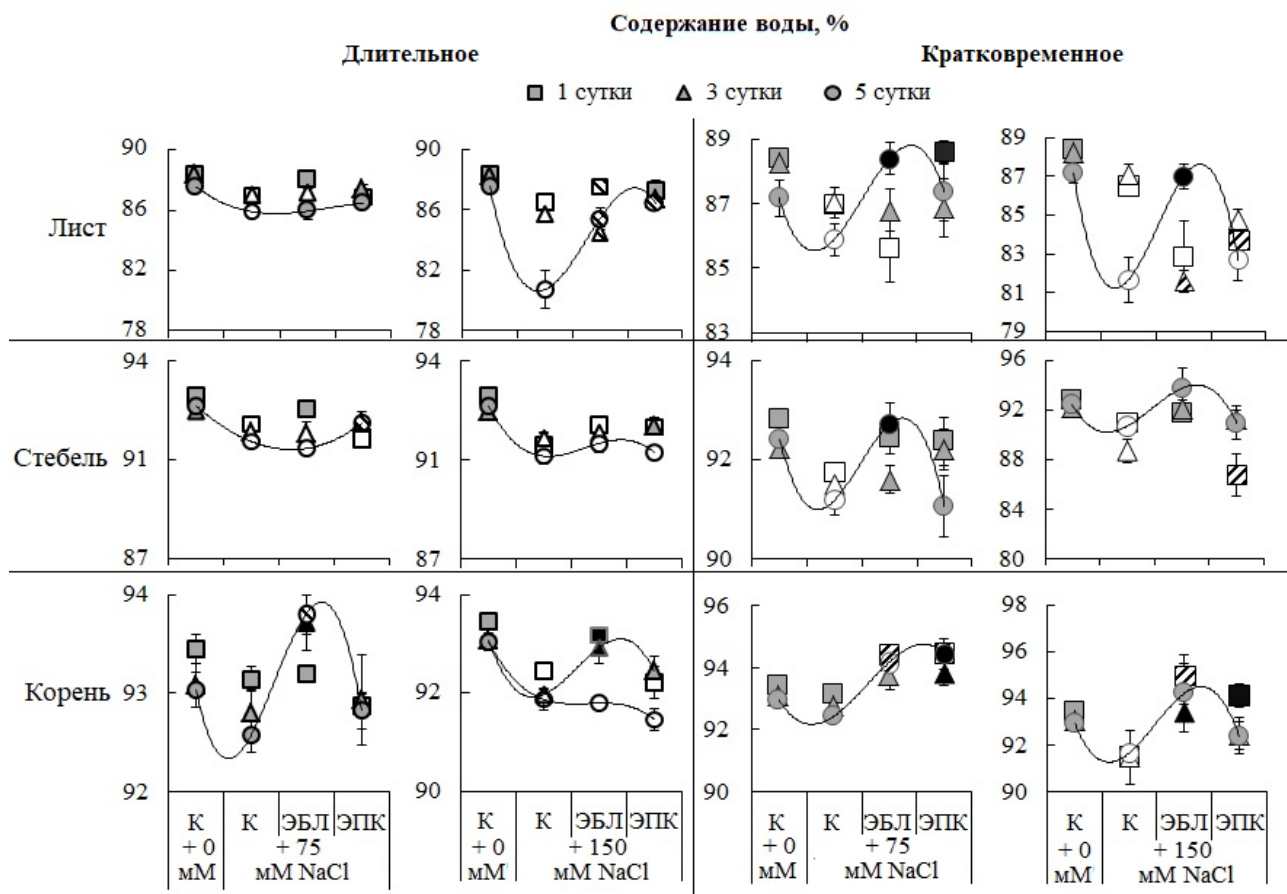


Рисунок 5. Влияние ЭБЛ и ЭПК при длительном (10 нМ) и кратковременном (0.1 нМ) воздействии и последующем хлоридном засолении (75 и 150 мМ) на динамику изменений процентного содержания воды в листьях, стеблях и корнях растений картофеля. Достоверность отмечена цветом маркера (белый – отличие от «контроля»; чёрный – отличие от «контроля + соль» (75 или 150 мМ); чёрно-белый штрих – отличие от «контроля» и «контроля + соль») при $p \leq 0.05$.

В то время как, содержание воды в листьях растений, обработанных ЭПК и подвергнутых дальнейшему засолению, практически не изменялось с течением времени как при 75 мМ, так и при 150 мМ. Аналогичный, но более выраженный эффект был показан и для растений, подвергнутых после кратковременной гормональной обработки, воздействию хлорида натрия.

Регулирование водоудерживающей способности тканей может достигаться накоплением осмопротекторов, например пролина или неорганических одновалентных ионов. Так, на рисунке 6 показана способность 10 нМ ЭБЛ, при длительном воздействии, с первых суток, стимулировать накопление пролина по сравнению с солевым контролем (150 мМ NaCl). ЭПК, напротив, замедлял аккумуляцию осмопротектора. Применение фитогормона в концентрации 1000 нМ (длительно) или кратковременно в концентрации 0.1 нМ демонстрирует более наглядно разнонаправленность действия БС (Рисунок 6).

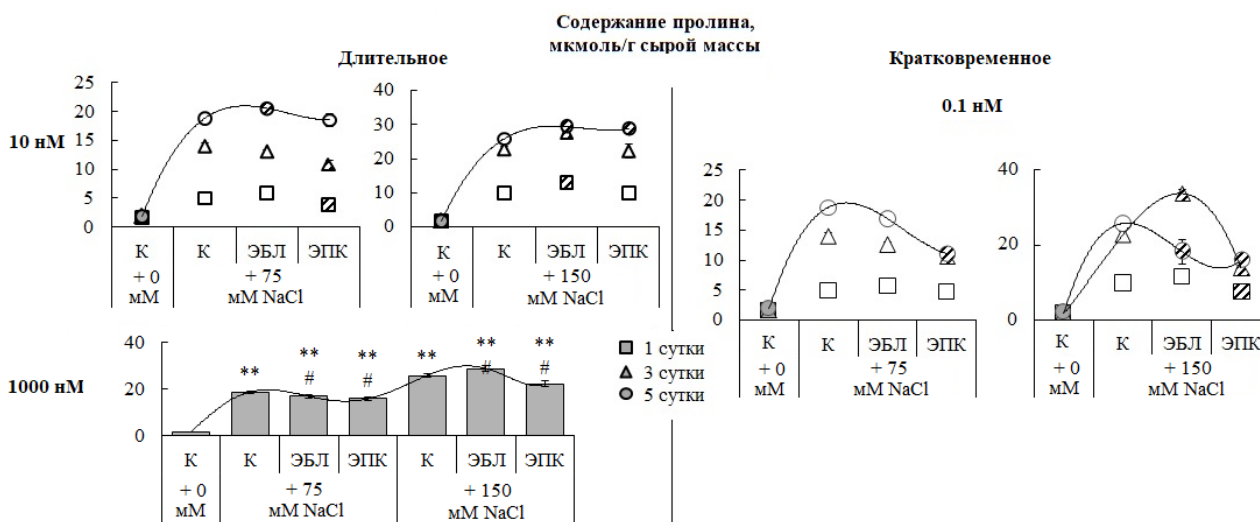


Рисунок 6. Влияние БС на содержание пролина в листьях растений картофеля (возраст 35-40 суток) при последующем хлоридном засолении.

Далее мы оценили накопление одновалентных ионов в тканях листа и корня. При длительном воздействии и последующем засолении (75 мМ) ЭБЛ, в отличие от ЭПК, регулировал поступление ионов натрия в ткани листа (Рисунок 7). При этом, БС не оказывали эффекта на поступление ионов калия. При сильном засолении (150 мМ) оба brassinosteroids снижали поступление ионов натрия в листья и усиливали приток ионов калия в корни. При кратковременном воздействии brassinosteroids стимулировали либо накопление натрия (при 150 мМ), либо калия (при 75 мМ) в корнях. Одновременно с этим, ЭПК при сильном засолении накапливал ионы натрия в тканях листа.

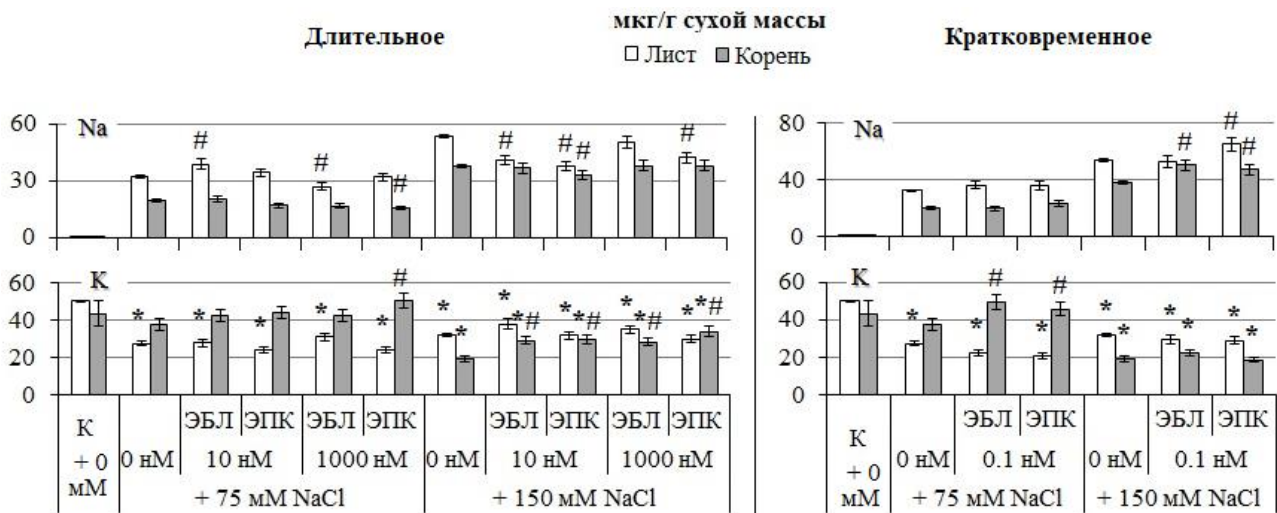


Рисунок 7. Влияние БС на содержание неорганических ионов (натрия, калия) в растениях картофеля (возраст 35-40 суток) при последующем хлоридном засолении.

Также в данной работе показано действие БС на активность антиоксидантных ферментов. Так, при длительном гормональном воздействии и через 1 сутки хлоридного засоления ЭБЛ повышал активность СОД с 5.08 ± 0.19 усл.ед./мг белка до 7.06 ± 0.35 (при 75 мМ) и 6.65 ± 0.37 (при 150 мМ). Однако активность всех ферментов снижалась через 5 суток действия NaCl вне зависимости от концентрации и химической структуры БС. В то время как, кратковременное воздействие продемонстрировало разнонаправленное влияние БС при последующем 5 суточном засолении (150 мМ NaCl). ЭПК повышал активность СОД на 22%, а ЭБЛ – гваяколзависимой пероксидазы в 2.7 раз.

ВЫВОДЫ

1. Физиологические эффекты brassinosterоидов (БС) зависят от их химической структуры, концентрации и продолжительности воздействия. 24-эпибрассинолид (ЭБЛ) и 24-эпикастастерон (ЭПК) регулируют рост, водный статус и ионный гомеостаз растений картофеля в оптимальных условиях. Растения, подвергнутые длительному воздействию ЭБЛ (10 нМ) и ЭПК (1000 нМ), повышали фотохимическую эффективность ФС II, но обнаруживали торможение роста. Оба фитогормона стимулировали ПОЛ и аккумуляцию Ca^{2+} . ЭБЛ (10 нМ) понижал осмотический потенциал клеток листа за счет повышения содержания Na^+ и пролина, тогда как ЭПК, напротив, снижал содержание Na^+ и K^+ в листе и, тем самым, повышал осмотический потенциал.

2. Кратковременное воздействие ЭБЛ и ЭПК ускоряло рост побегов, но подавляло рост корня. ЭПК стимулировал накопление сухой биомассы, тогда как

ЭБЛ увеличивал оводненность тканей. ЭПК повышал уровни хлорофилла *a* и каротиноидов. Оба сравниваемых БС стимулируют активность антиоксидантных ферментов.

3. Растения отвечали на засоление (75-200 мМ NaCl) торможением роста, дефолиацией, повышением интенсивности ПОЛ, падением осмотического потенциала клеток листа и накоплением пролина. Сильный солевой стресс снижал уровень пигментов и увеличивал активность пероксидазы (1 сутки), ингибировал фотохимическую эффективность ФС II (5 суток), подавлял экспрессию генов антиоксидантных ферментов (в 2 раза) и гена *CHS1a*, одновременно увеличивая уровни транскриптов генов-транспортёров ионов *SOS1*, *NHX2* (на 50-60%), и в 2 и 9, 10 раз – *NHX3*.

4. Длительное воздействие ЭБЛ (10 нМ) в большей степени, чем ЭПК, защищало рост побегов при солевом стрессе. ЭБЛ снижал интенсивность ПОЛ, стимулировал активность антиоксидантных ферментов и активировал накопление пролина. ЭПК (10 нМ) сохранял оводненность тканей, поддерживал уровни фотосинтетических пигментов, активность ФС II (75 мМ NaCl) и экспрессию гена *CHS1a*.

5. Кратковременная обработка растений ЭБЛ при последующем солевом стрессе в большей степени, чем ЭПК, поддерживала рост (листьев) и оводненность тканей, которая могла быть следствием аккумуляции пролина. Как и при длительной обработке, ЭБЛ, в большей степени, чем ЭПК, задерживал деградацию основных фотосинтетических пигментов. ЭПК, в свою очередь, обладал более выраженным защитным эффектом фотохимической эффективности ФС II, но стимулировал аккумуляцию Na⁺ в листьях. Кроме того, ЭПК при интенсивном солевом стрессе сильнее активировал СОД, в то время как ЭБЛ – пероксидазу.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Efimova M.V., Danilova E.D., Zlobin I.E., Kolomeichuk L.V., Murgan O.K., Boyko E.V., Kuznetsov V.V.** (2023) Priming potato plants with melatonin protects stolon formation under delayed salt stress by maintaining the photochemical function of photosystem II, ionic homeostasis and activating the antioxidant system. *International Journal of Molecular Sciences*. **24**(7), 6134.

2. **Zlobin I.E., Danilova E.D., Murgan O.K., Kolomeichuk L.V., Litvinovskaya R.P., Sauchuk A.L., Kuznetsov V.V., Efimova M. V.** (2023) Structurally different exogenic brassinosteroids protect plants under polymetallic pollution via structure-specific changes in metabolism and balance of cell-protective components. *Molecules*. **28**(5), 2077.

3. **Danilova E.D., Litvinovskaya R.P., Zlobin I.E., Kolomeichuk L.V., Murgan O.K., Sauchuk A.L., Khripach V.V., Kuznetsov V.V., Efimova M. V.** (2022) Polymetallic stress changes the endogenous status of brassinosteroids and reduces the effectiveness of photochemical reactions photosystem II in barley plants. *Doklady biochemistry and biophysics*. **504** (1), 123–127.

4. **Kolomeichuk L.V., Efimova M.V., Zlobin I.E., Kreslavski V.D., Murgan O.K., Kovtun I.S., Khripach V.A., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I.** (2020) 24-Epibrassinolide alleviates the toxic effects of NaCl on photosynthetic processes in potato plants. *Photosynthesis Research*. **146**, 151–163.

5. **Murgan O.K., Kazakova A.D., Efimova M.V.** (2020) Comparison of methods for RNA extraction from potato plants for real-time PCR. *Vestnik Tomskogo Gosudarstvennogo Universiteta, Biologiya*. **51**, 123–140.

6. **Efimova M.V., Litvinovskaya R.P., Medvedeva, Yu. V., Murgan O.K., Sauchuk A.L., Kuznetsov V.V., Khripach V.A.** (2019) The endogenous brassinosteroid content and balance in potato microclones is determined by organ specificity and the variety ripening term. *Doklady Biological Sciences*. **485**(1), 33–36.

7. **Efimova M.V., Kolomeychuk L.V., Boyko E.V., Malofiy M.K., Vidershpan A.N., Plyusnin I.N., Golovatskaya I.F., Murgan O.K., Kuznetsov V.V.** (2018) Physiological mechanisms of plant resistance of *Solanum tuberosum* L. to chloride salinization. *Russian Journal of Plant Physiology*. **65**(3), 196–206.

8. **Efimova M.V., Khripach V.A., Boyko E.V., Malofii M.K., Kolomeichuk L.V., Murgan O.K., Vidershpun A.N., Mukhamatdinova E.A., Kuznetsov V.V.** (2018) The priming of potato plants induced by brassinosteroids reduces oxidative stress and increases salt tolerance. *Doklady Biological Sciences*. **478**(1), 33–36.

Патенты:

9. **Ефимова М.В., Данилова Е.Д., Коломейчук Л.В., Ковтун И.С., Мурган О.К., Хрипач В.А., Литвиновская Р.П., Шмарёв А.Н., Мухаматдинова**

Е.А., Кабил Ф., Креславский В. Д., Кузнецов Вл.В., Аллахвердиев С. (2020) Способ повышения продуктивности растений картофеля в оптимальных и стрессовых условиях выращивания. А.с. № 2711577 (РФ) Б.И., № 2, с. 19.

10. **Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Кузнецов Вл.В., Хрипач В. А., Бойко Е.В., Малофий М.К., Плюснин И. Н., Коломейчук Л.В., Видершпан А.Н., Мурган О.К., Медведева Ю.В., Большакова М.А., Дорофеев В.Ю., Лаптев Н. И.** (2018) Способ повышения клубнеобразования и продуктивности растений картофеля в условиях гидропоники. А.с. № 2660918 (РФ) Б.И., № 20, с. 14.

Работы, опубликованные в прочих изданиях:

11. **Литвиновская Р.П., Данилова Е.Д., Злобин И.Е., Коломейчук Л.В., Мурган О.К., Савчук А.Л., Хрипач В.А., Кузнецов В.В., Ефимова М.В.** (2022) Влияние полиметаллического стресса на эндогенный статус brassinosterоидов у растений ячменя. В сб: *Химия и технология растительных веществ: Тезисы докладов XII Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых*, под ред. Кучин А.В. и др. Киров: Институт химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, с. 111–112.

12. **Мурган О.К., Сушкова Д.В., Ефимова М.В.** Несколько способов воздействия 24-эпибрасинолида и 24-эпикастастерона на растения картофеля. В сб: *Физиология, биотехнология и биоинформатика растений и микроорганизмов - путь в будущее: к 85-летию Р.А. Карначук: Материалы Всероссийской научной конференции*, под ред. Карначук О.В. Томск: ООО "Дельтаплан", с. 77–79.

13. **Сушкова Д.В., Мурган О.К., Ефимова М.В.** (2022) Влияние 24-эпибрасинолида на динамику роста микроклонов растений картофеля сорта Луговской в культуре *in vitro*. В сб: *Физиология, биотехнология и биоинформатика растений и микроорганизмов - путь в будущее: к 85-летию Р.А. Карначук: Материалы Всероссийской научной конференции*, под ред. Карначук О.В. Томск: ООО "Дельтаплан", с. 99–101.

14. **Murgan O.K., Efimova M.V.** (2021) The effect of salt stress on the expression of the brassinosterоid biosynthesis genes. In: *Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology PlantGen2021*, Kochetov A.V., Salina E.A. (eds.) Novosibirsk: ICG SB RAS, pp. 155.

15. **Мурган О.К., Казакова А.Д., Филимонов К.П., Ефимова М.В.** (2020)

Влияние хлоридного засоления на экспрессию генов синтеза брассиностероидов. В сб: *Материалы 24-я Международная Пушкинская школа-конференции молодых ученых Биология - наука XXI века*, Пушкино: Пушкинский Научный центр РАН, с. 57.

16. **Murgan O.K., Efimova M.V.** (2019) The gene expression level of enzymatic and non-enzymatic antioxidant system of potato plants under chloride salinity. In: *Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen2019)*, Kochetov A.V., Salina E.A. (eds.) Novosibirsk: ICG SB RAS, pp. 136.

17. **Мурган О.К., Малофий М.К., Коломейчук Л.В.** (2019) Регуляция экспрессии стресс-протекторных генов брассиностероидами при хлоридном засолении. В сб: *Сборник тезисов конференции IX Съезд общества физиологов растений России «Физиология растений – основа создания растений будущего»*, Казань: Издательство Казанского университета, с. 298

18. **Murgan O.K., Kolomeichuk L.V., Kovtun I.S., Efimova M.V.** (2019) Response of the antioxidant system of two varieties of potatoes to salt stress. In: *Current challenges in plant genetics, genomics, bioinformatics, and biotechnology*, Kochetov A.V., Salina E.A. (eds.) Novosibirsk: ICG SB RAS, pp. 98–100.

19. **Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Плюснин И.Н., Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Видершпан А.Н., Мурган О.К., Медведева Ю.В., Дорофеев В.Ю., Лаптев Н.И., Большакова М.А., Кузнецов Вл.В., Хрипач В.А.** (2018) Стероидные гормоны регулируют образование клубней у растений-регенерантов картофеля в условиях аквакультуры. В сб: *Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты»*, под ред. Ефимовой М.В. и др. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, с. 211.

20. **Коломейчук Л.В. Бойко Е.В., Малофий М.К., Ковтун И.С., Мурган О.К., Ефимова М.В.** (2018) Влияние стероидных гормонов на физиологические процессы растений *Solanum tuberosum*. В сб: *Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты»*, под ред. Ефимовой М.В. и др. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, с.123.

21. Головацкая И.Ф., Бендер О.Г., Ефимова М.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Мурган О.К., Плюснин И.Н. (2018) Роль экзогенных стероидных фитогормонов в регуляции функционирования фотосинтетического аппарата растений. В сб: *Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты»*, под ред. Ефимовой М.В. и др. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, с. 103.

22. Ковтун И.С., Малофий М.К., Мурган О.К. (2018) Применение метода ПЦР в реальном времени для исследования механизмов солеустойчивости растений. В сб: *Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты»*, под ред. Ефимовой М.В. и др. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, с. 60.

23. Ефимова М.В., Бойко Е.В., Коломейчук Л.В., Видершпан А.Н., Малофий М.К., Плюснин И.Н., Мурган О.К. (2017) Устойчивость к действию ионов меди среднеспелых сортов *Solanum tuberosum* L. В сб: *Тезисы годовичного собрания и школы для молодых ученых «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты»*, под ред. Кузнецова Вл.В. М: АНО «Центр содействия научной, образовательной и просветительской деятельности «Соцветие», с. 165.

24. Ефимова М.В., Бойко Е.В., Коломейчук Л.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Мурган О.К., Головацкая И.Ф. (2017) Устойчивость растений *Solanum tuberosum* к хлоридному засолению. В сб: *Тезисы годовичного собрания и школы для молодых ученых «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты»*, под ред. Кузнецова Вл.В. М: АНО «Центр содействия научной, образовательной и просветительской деятельности «Соцветие», с. 164.

25. Коломейчук Л.В., Мурган О.К. (2017) Регуляция активности процессов перекисного окисления липидов экзогенным мелатонином в проростках рапса *Brassica napus* на свету и в темноте. В сб: *Сборник материалов 21-ой Международной Пущинской школы конференции молодых учёных «Биология – наука XXI века»*. Пущино: Пущинский Научный центр РАН с. 256–257

26. **Ефимова М.В., Головацкая И.Ф., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Мурган О.К., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Медведева Ю.В., Плюснин И.Н., Захарова Н.А., Вебер Е.И., Симон Е.В., Кузнецов Вл.В.** (2017) Устойчивость к действию ионов меди раннеспелых сортов *Solanum tuberosum* L. В сб: *Материалы Международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития»*, Том 2, под ред. Варфоломеева С.Д. и др. М: ООО "РЭД ГРУПП", с. 110–112.

27. **Коломейчук Л.В., Данилова Е.Д., Малофий М.К., Мурган О.К., Ефимова М.В.** (2017) Защитный эффект мелатонина на растениях рапса при техногенном стрессе. В сб: *Материалы Международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития»*, Том 2, под ред. Варфоломеева С.Д. и др. М: ООО "РЭД ГРУПП", с. 160–162.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую признательность коллективу лаборатории молекулярной биологии и биохимии и кафедры физиологии, биотехнологии растений и биоинформатики ТГУ и их заведующей – д.б.н., профессору Ольге Викторовне Карначук. Автор выражает искреннюю признательность коллективам лаборатории экспрессии генома и лаборатории физиологических и молекулярных механизмов адаптации ИФР РАН за методическую помощь в процессе выполнения работы и полезное обсуждение в ходе написания диссертации. Отдельно автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю – к.б.н., доценту Марине Васильевне Ефимовой за всестороннюю помощь в выполнении данной работы, анализе и обсуждении результатов. Автор выражает особую благодарность Медведевой Ю.В. за предоставление микрклонов растений; Глуховой Л.Б., Даниловой М.Н., Злобину И.Е. за помощь в освоении методов молекулярной биологии. Отдельная благодарность сотрудникам Института биоорганической химии НАН Беларуси: академику НАН Беларуси Владимиру Александровичу Хрипачу за предоставленные препараты brassinosterоидов и д.х.н. Раисе Павловне Литвиновской за проведение иммуноферментного анализа эндогенного содержания brassinosterоидов у растений-регенерантов картофеля.