

УДК 581.1

ЖАСМОНОВАЯ КИСЛОТА ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO К ХЛОРИДНОМУ ЗАСОЛЕНИЮ**М. В. Ефимова^{1,*}, Е. А. Мухаматдинова¹, И. С. Ковтун¹, Ф. Кабил²,
Ю. В. Медведева¹, член-корреспондент РАН В. В. Кузнецов^{1,3}**

Поступило 12.07.2019 г.

Оценивали протекторный эффект жасмоновой кислоты (ЖК) при действии засоления (100 мМ NaCl). Исследования проводили на растениях картофеля (*Solanum tuberosum* L.) среднеспелого сорта Луговской. Растения-регенеранты черенковали и культивировали в пробирках на модифицированной агаризованной среде Мурашиге—Скуга в отсутствие (контроль) или в присутствии ЖК в концентрациях 0,001; 0,1 и 10 мкМ в оптимальных условиях выращивания или с добавлением хлорида натрия. Через 28 суток культивирования проводили оценку ростовых (длина стебля, длина корня, количество ярусов и листьев, масса растений) и физиологических (содержание пролина и фотосинтетических пигментов, определение осмотического потенциала клеточного экссудата) характеристик растений. Впервые показано, что жасмоновая кислота (0,1 и 10 мкМ) проявляет выраженный защитный эффект на растениях картофеля в условиях солевого стресса. Протекторное действие заключается в частичном снятии негативного эффекта NaCl на основные фотосинтетические пигменты и поддержании осмотического статуса клеточного содержимого при засолении.

Ключевые слова: жасмоновая кислота, хлоридное засоление, фотосинтетические пигменты, осмотический потенциал, пролин, стресс-устойчивость, картофель.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524886685-689>

Известно, что процессы роста и развития растений регулируются гормональной системой. Фитогормоны участвуют во всех процессах жизнедеятельности, начиная от прорастания семян и формирования стресс-толерантности, и заканчивая регуляцией продуктивности растений. Засоление является одним из основных негативных факторов среды, ингибирующих рост, развитие и формирование урожая. Это делает весьма актуальным изучение механизмов действия гормонов и поиск экологически безопасных способов повышения солеустойчивости важных сельскохозяйственных культур.

Жасмоновая кислота (ЖК) и её конъюгаты, такие как метилжасмонат и жасмонил-изолейцин, известные под общим названием жасмонаты, широко распространены в растительном мире и являются естественными регуляторами физиологических процессов [1]. Прежде всего жасмонаты наряду с салицилатами и этиленом вовлекаются в защиту растений от биопатогенов [2]. В последнее время появились немногочисленные данные о высокой эффективности ЖК в повышении устойчивости

растений к ряду экстремальных факторов [3]. Так, показано, что протекторный эффект ЖК при засолении для растений пшеницы достигается через повышение активности антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы, аскорбатпероксидазы) и увеличение содержания восстановленного глутатиона, хлорофилла *b* и каротиноидов [4]. Защитное действие метилжасмоната на растения кукурузы при холодовом стрессе может быть связано с повышением уровня эндогенных цитокининов [5]. Устойчивость растений к засухе, инициируемая экзогенной ЖК, формируется за счёт активации синтеза абсцизовой кислоты [6, 7].

Механизмы гормонзависимого повышения солеустойчивости для многих сельскохозяйственных растений, в отличие от картофеля, достаточно хорошо исследованы. Вместе с тем картофель является одной из важнейших продовольственных культур. Растения картофеля диких видов относительно устойчивы к засолению, однако современные сорта, являющиеся продуктом долговременной селекции, значительно менее солеустойчивы [8]. Оптимальной моделью для изучения механизмов устойчивости растений картофеля к засолению является культура микроклонов *in vitro*.

В настоящей работе впервые показано, что в основе защитного эффекта ЖК при солевом стрессе лежит её способность частично снимать негативное действие соли на основные фотосинтетические пиг-

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет

²Каирский университет, Гиза, Египет

³Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской Академии наук, Москва

*E-mail: stevmv555@gmail.com

Таблица 1. Влияние жасмоновой кислоты (ЖК) и хлоридного засоления на морфометрические показатели растений картофеля

Обработка ЖК, мкМ	Длина стебля		Длина корня		Количество ярусов		Количество листьев		Общая масса растений	
	см	%	см	%	шт.	%	шт.	%	г	%
0 мМ NaCl										
0	28,75 ± 1,04 ^a	100	91,82 ± 3,68 ^a	100	6,09 ± 0,15 ^{ab}	100	5,65 ± 0,12 ^a	100	0,30 ± 0,01 ^a	100
0,001	28,15 ± 0,90 ^a	109	77,85 ± 2,66 ^b	85	5,92 ± 0,22 ^b	97	5,69 ± 0,21 ^{ab}	101	0,31 ± 0,01 ^a	105
0,1	34,29 ± 1,32 ^c	133	86,71 ± 3,10 ^a	94	6,13 ± 0,20 ^{ab}	101	5,83 ± 0,21 ^{ac}	103	0,40 ± 0,02 ^b	132
10	49,57 ± 1,59 ^d	192	50,41 ± 2,14 ^c	55	7,61 ± 0,21 ^{de}	125	7,13 ± 0,19 ^d	126	0,49 ± 0,02 ^c	165
100 мМ NaCl										
0	18,3 ± 1,15 ^b	71	81,33 ± 7,43 ^{ab}	89	6,44 ± 0,30 ^{abc}	106	5,50 ± 0,33 ^a	97	0,29 ± 0,01 ^a	97
0,001	15,45 ± 1,24 ^c	60	76,30 ± 3,65 ^b	83	6,45 ± 0,20 ^{ac}	106	5,55 ± 0,21 ^a	98	0,29 ± 0,03 ^a	98
0,1	23,95 ± 1,98 ^a	93	89,63 ± 5,38 ^a	98	7,00 ± 0,24 ^c	115	6,42 ± 0,23 ^c	114	0,36 ± 0,02 ^b	121
10	36,79 ± 3,33 ^c	142	2,00 ± 2,81 ^c	28	7,36 ± 0,37 ^{ce}	121	6,7 ± 0,42 ^{bcd}	116	0,45 ± 0,04 ^{bc}	150

менты и поддерживать осмотический статус клеток растений картофеля.

Исследования проводили на растениях-регенерантах *Solanum tuberosum* L. среднеспелого сорта Луговской (идентификатор 8 301 891). Растения данного сорта дают стабильно высокий урожай, их клубни отличаются высокой лёжкостью и устойчивостью к ряду заболеваний.

Оздоровленные растения-регенеранты, полученные из апикальной меристемы клубней картофеля сорта Луговской, перед началом экспериментов тестируют на наличие вирусной, виroidной и бактериальной инфекции с помощью метода ПЦР в реальном времени на ПЦР-амплификаторе Lightcycler'96 ("Roche", Швейцария) и с использованием коммерческих наборов реагентов ФИТО-СКРИН ("Синтол", Россия).

Для проведения опытов растения-регенеранты черенковали и культивировали в пробирках на модифицированной агаризованной среде Мурасиге–Скуга (МС) в отсутствие (контроль) или в присутствии ЖК в концентрациях 0; 0,1 и 10 мкМ в оптимальных условиях выращивания или с добавлением 100 мМ NaCl. Культивирование микроклонов осуществляли в фитотроне в условиях длинного дня (фотопериод 16 ч день/8 ч ночь) при 150 мкмоль фотонов/м²с под люминесцентными лампами ("OSRAM", Германия) при температуре 20 ± 2 °С в течение 28 суток. После окончания эксперимента растительный материал фиксировали в жидком азоте и хранили при температуре –70 °С до проведения анализов. Оценку ростовых (длина стебля, длина корня, количество ярусов и листьев, масса растений) и физиологических (содержание пролина и фотосинтетических пигментов, определение осмотического потенциала клеточного экссудата) характе-

ристик проводили так, как описано ранее [9]. Статистическую достоверность данных оценивали с помощью непараметрического критерия Краскела–Уоллиса (Anova by Ranks) с использованием программы Statistica 10.

Жасмоновая кислота в оптимальных условиях выращивания стимулировала накопление суммарной массы растений за счет интенсивного роста надземной части (побега и листьев) (табл. 1, рис. 1). Максимальным эффектом обладала ЖК в концентрации 10 мкМ; длина стеблей в этом случае увеличилась практически в 2 раза, биомасса растений возростала на 65%, кроме того, наблюдался рост листьев и закладка новых ярусов. В 100 раз более низкая концентрация ЖК (0,1 мкМ) лишь на 30% увеличивала длину стебля и биомассу растений. При этом имело место торможение роста корневой системы независимо от концентрации гормона; двукратное торможение роста корня наблюдалось при 10 мкМ ЖК (табл. 1, рис. 1). Ранее было показано, что в основе ингибирующего действия ЖК может лежать сокращение длины клеток кортекса и скорости образования клеток меристемы корня подсолнуха [10].

Хлоридное засоление (100 мМ NaCl) несколько ингибировало рост осевых органов, листовой поверхности, практически не влияя при этом на биомассу растения, число ярусов и листьев. ЖК (0,001; 0,1 и 10 и особенно 10 мкМ) не только снижала негативный эффект соли на рост растений картофеля, но и оказывала стимулирующее действие на рост стебля, число листьев, ярусов и в конечном итоге на общую биомассу (табл. 1, рис. 1). Вместе с тем в условиях засоления, как и в оптимальных условиях произрастания, ЖК значительно ингибировала рост корня, что характерно для биологического действия данного гормона [11].

Таблица 2. Влияние жасмоновой кислоты (ЖК) и хлоридного засоления на накопление фотосинтетических пигментов в листьях растений картофеля

Обработка ЖК, мкМ	Хлорофилл <i>a</i>		Хлорофилл <i>b</i>		Каротиноиды		(Хлорофилл <i>a</i> + Хлорофилл <i>b</i>) / Каротиноиды	
	мг/г сырой массы	%	мг/г сырой массы	%	мг/г сырой массы	%	мг/г сырой массы	%
0 мМ NaCl								
0	3,14 ± 0,043 ^a	100	0,74 ± 0,022 ^a	100	0,86 ± 0,033 ^a	100	4,53 ± 0,123 ^{ad}	100
0,001	2,64 ± 0,534 ^{acd}	84	0,64 ± 0,136 ^{ac}	86	0,65 ± 0,138 ^{acd}	76	5,05 ± 0,195 ^{bc}	112
0,1	2,52 ± 0,238 ^d	80	0,61 ± 0,059 ^a	82	0,66 ± 0,049 ^d	77	4,72 ± 0,098 ^{abc}	104
10	1,59 ± 0,388 ^{bc}	51	0,37 ± 0,105 ^{bc}	50	0,42 ± 0,095 ^{bc}	49	4,59 ± 0,186 ^{ab}	101
100 мМ NaCl								
0	0,74 ± 0,046 ^c	24	0,17 ± 0,010 ^d	22	0,19 ± 0,010 ^c	22	4,84 ± 0,175 ^{abc}	107
0,001	0,77 ± 0,049 ^c	25	0,17 ± 0,019 ^d	23	0,20 ± 0,017 ^c	23	4,75 ± 0,083 ^{ab}	105
0,1	1,29 ± 0,112 ^b	41	0,28 ± 0,025 ^b	38	0,31 ± 0,022 ^b	36	5,05 ± 0,108 ^{cd}	112
10	1,07 ± 0,297 ^{bc}	34	0,25 ± 0,079 ^{bd}	33	0,26 ± 0,053 ^{bc}	30	5,05 ± 0,429 ^{abc}	111



Рис. 1. Влияние жасмоновой кислоты (ЖК) на внешний вид растений картофеля в отсутствие (а) и в присутствии 100 мМ NaCl (б). К – 0 мкМ ЖК; I – 0,001 мкМ ЖК; 2 – 0,1 мкМ ЖК; 3 – 10 мкМ ЖК.

Одним из основных показателей оптимального функционирования ассимилирующего аппарата растений является содержание фотосинтетических пигментов, которые вовлечены не только в процесс фотосинтеза, но и в защиту фотосинтетического аппарата от действия АФК. В контрольных условиях ЖК ингибировала накопление хлорофиллов и каротиноидов (табл. 2). В низких концентрациях ЖК снижала содержание всех пигментов на 15–25%, в то время как при концентрации 10 мкМ – в два раза. При этом показатель отношения хлорофиллов к каротиноидам в сравнении с контролем почти не изменялся (табл. 2). В условиях солевого стресса наблюдалось 4–5-кратное снижение содержания основных фотосинтетических пигментов, тогда как ЖК (в концентрациях 0,1 и 10 мкМ) значительно

снижала наблюдаемое ингибирующее действие засоления (табл. 2).

Подобный защитный эффект гормона на фотосинтетические пигменты мог быть результатом регулируемого ЖК поддержания осмотического потенциала клеточного содержимого и сохранения оптимального водного статуса. Тем более 100 мМ NaCl вызывал понижение (на 30%) осмотического потенциала, что является следствием внутриклеточного накопления ионов Na⁺ и Cl⁺ (рис. 2а). Жасмоновая кислота в контрольных условиях повышала (на 25%) осмотический потенциал клеточного экссудата (рис. 2а). При совместном действии ЖК и 100 мМ NaCl также отмечалось повышение осмотического потенциала; при этом наблюдаемый эффект усиливался с увеличением концентрации ЖК (рис. 2а).

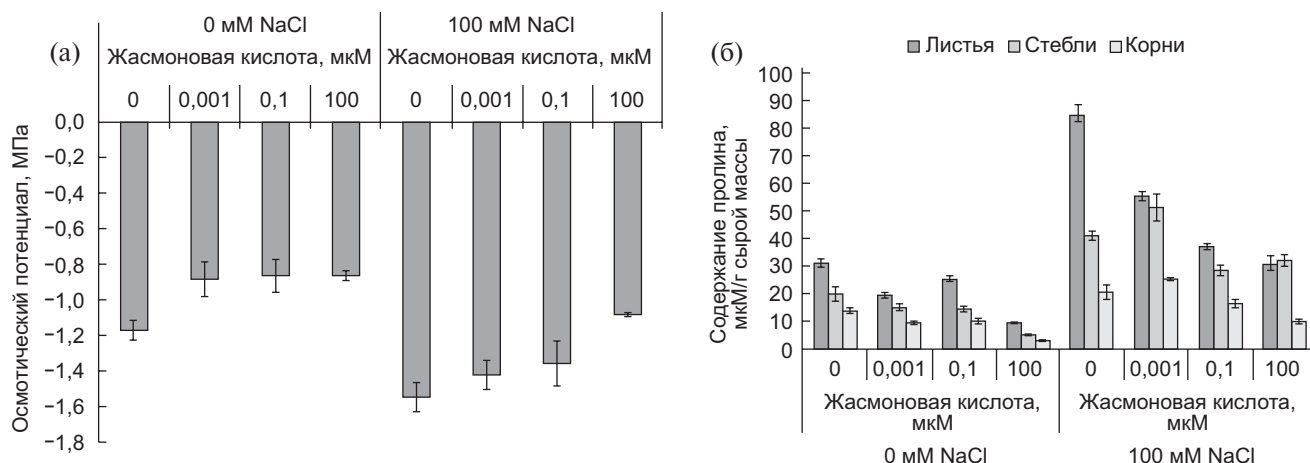


Рис. 2. Влияние жасмоновой кислоты и хлоридного засоления на величину осмотического потенциала клеточного экссудата в листьях (а) и накопление пролина в разных частях растений (б).

Нельзя исключать, что жасмоновая кислота вызвала аккумуляцию совместимых осмолитов, синтез которых индуцируется при солевом стрессе в ответ на развитие водного дефицита. Особый интерес представляет аминокислота пролин – полифункциональная стресс-защитная молекула, проявляющая свойства химического шаперона [12, 13]. Нами было показано накопление пролина в разных частях растения при действии ЖК в отсутствие или в присутствии NaCl. При солевом стрессе содержание пролина возрастало в 2,7; 2,0 и 1,5 раза в листьях, стебле и корне соответственно (рис. 2б). Экзогенная ЖК (0,1 и 10 мкМ) в присутствии 100 мМ NaCl значительно снижала содержание пролина во всех частях растения (от 28–30% до 3–4-кратного). Аналогичное действие ЖК было отмечено в растениях кукурузы (10 мкМ) [14].

Таким образом, нами впервые показано, что ЖК (10 и 0,1 мкМ) проявляет выраженный защитный эффект на растениях картофеля в условиях солевого стресса. В основе её протекторного действия лежит частичное снятие негативного эффекта NaCl (100 мМ) на основные фотосинтетические пигменты и поддержание осмотического статуса клеточного содержимого при засолении. В оптимальных условиях выращивания ЖК также активировала рост надземной части растений и подавляла рост корневой системы, снижала накопление фотосинтетических пигментов и пролина, увеличивала осмотический потенциал клеточного содержимого.

Полученные данные расширяют наши представления о физиологическом эффекте жасмоновой кислоты в оптимальных и стрессорных условиях и предоставляют новые возможности для разработки рекомендаций по их эффективному применению.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда

фундаментальных исследований, номер проекта 17–54–61016–Египет_a.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pirbalouti A.G., Sajjadi S.E., Parang K. // Arch. Pharm. Chem. Life Sci. 2014. V. 347. P. 229–239.
2. Dar T.A., Uddin M., Khan M.A., Hakeem K.R., Jaleel H. // Environ. and Experim. Botany. 2015. V. 115. P. 49–57.
3. Ahmad P., Rasool S., Gul A., Sheikh S.A., Ashraf N.M., Kazi A.M., Gucel S. // Frontiers in Plant Science. 2016. V. 7. P. 1–15.
4. Qiu Z., Gu J., Zhu A., Zhang L., Zhang M. // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2014. V. 104. P. 202–208.
5. Battal P., Erez M.E., Turker M., Berber I. // Ann. Botanic Fennici. 2008. V. 45. P. 173–185.
6. Sanchez-Romera B., Ruiz-Lozano J.M., Li G., Luu D.T., Martinez-Ballesta M.D.C., Carvajal M., Zamarreno A., Garcia-Mina J.M., Maurel C., Aroca R. // Plant Cell Environ. 2014. V. 37. P. 995–1008.
7. de Ollas C., Arbona V., Gomez-Cadenas A. // Plant Cell Environ. 2015. V. 38. P. 2157–2170.
8. Faried H.F., Ayyub C.M., Amjad M., Ahmed R. // Pakistan j. Agricult. Sci. 2016. V. 53. P. 17–25.
9. Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Головацкая И.Ф., Мурган О.К., Кузнецов В.В. // Физиология растений. 2018. Т. 65. С. 196–206.
10. Monzón G.C., Pinedo M., Lamattina L., Canal L. // Plant Growth Regulation. 2012. V. 66. P. 129–136.
11. Yu X., Zhang W., Zhang Yu, Zhang X., Lang D., Zhang X. // Funct. Plant Biol. 2018. V. 46. P. 197–212.
12. Mansour M.M.F., Ali E.F. // Phytochemistry. 2017. V. 140. P. 52–68.
13. Ковтун И.С., Ефимова М.В., Малофий М.К., Кузнецов В.В. // ДАН. 2019. Т. 484. № 3. С. 377–380.
14. Mir M., John R., Mohammed A., Pravej A., Parvaiz A. // Sci. Rep. V. 8. P. 1–13.

JASMONIC ACID ENHANCES THE RESISTANCE OF POTATO PLANTS *IN VITRO* TO SALT STRESS

M. V. Efimova¹, E. A. Mukhamatdinova¹, I. S. Kovtun¹, F. Kabil²,
Y. V. Medvedeva¹, Corresponding Member of the RAS V. V. Kuznetsov^{1,3}

¹National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

²Cairo University, Faculty of Agriculture, Giza, Egypt

³Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Received July 12, 2019

The protective effect of jasmonic acid (JA) was evaluated under stress (100 mM NaCl) condition. The investigations were carried on potato plants (*Solanum tuberosum* L.) of the mid-season variety Lugovskoy. Plant-regenerants were grafted and cultured in test tubes on modified Murashige–Skoog agar medium in the absence (control) or in the presence of JA at concentrations of 0,001; 0,1 and 10 μ M under optimal growing conditions or with the addition of NaCl. After 28 days of cultivation, growth (length of stem and root, number of tiers and leaves, plant mass) and physiological (proline content and photosynthetic pigments, determination of the osmotic potential of cell exudate) of the plants were assessed. For the first time it has been shown that jasmonic acid (0,1 and 10 μ M) manifests a pronounced protective effect on potato plants under salt stress condition. The protective effect based on the partial removal of the salt negative effect on the main photosynthetic pigments and the maintenance of the osmotic status of cell contents during salinization.

Keywords: jasmonic acid, chloride salinization, photosynthetic pigments, osmotic potential, proline, stress-resistance, potatoes.