



ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ НАРУШЕНИЯ ВОДНОГО РЕЖИМА

Лубянова А.Р., Масленникова Д.Р., Шакирова Ф.М.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, г. Уфа, пр. Октября 71, литер 1е, 450054, E-mail: Lubyanova555@mail.ru

Резюме

Исследовали влияние 24-эпибрасинолида (ЭБ) на рост, содержание пролина и показатели состояния антиоксидантной системы в проростках пшеницы в условиях дефицита влаги, моделируемого 12% полиэтиленгликолем. В условиях дефицита влаги выявлено, что предобработка ЭБ оказывала защитный эффект на проростки пшеницы, стабилизируя состояние антиоксидантной системы, регулируя баланс пероксида водорода и активность пероксидазы, а также индуцируя дополнительное накопление пролина, что отражалось в поддержании более высокого уровня митотической активности клеток в корнях этих растений.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., 24-эпибрасинолид, нарушение водного режима, митотический индекс, пролин, пероксид водорода, пероксидаза

Цитирование: Лубянова А.Р., Масленникова Д.Р., Шакирова Ф.М. Защитное действие 24-эпибрасинолида на растения пшеницы в условиях нарушения водного режима // *Biomics*. 2021. Т.13(1). С. 47-53. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-5

© Авторы

PROTECTIVE EFFECT OF 24-EPIBRASSINOLIDE ON WHEAT PLANTS UNDER WATER DEFICIT

Lubyanova A.R., Maslennikova D.R., Shakirova F.M.

Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 71 Prospekt Oktyabrya, lit. 1E, Ufa, 450054, Russia, E-mail: Lubyanova555@mail.ru

Resume

We studied the effect of 24-epibrassinolide (EB) on growth, proline content, the state of wheat seedling antioxidant system under water deficit, modeled by 12% polyethylene glycol. It was found that under drought EB-pretreatment has a protective effect on wheat plants, stabilizing the state of the antioxidant system, regulating the balance of hydrogen peroxide and peroxidase activity, as well as inducing the additional accumulation of proline, which was reflected in maintaining the higher level of mitotic activity in apical root cells of these plants.

Keywords: *Triticum aestivum* L., 24-epibrassinolide, water deficit, mitotic index, proline, hydrogen peroxide, peroxidase

Citation: Lubyanova A.R., Maslennikova D.R., Shakirova F.M. Protective effect of 24-epibrassinolide on wheat plants under water deficit. *Biomics*. 2021. V.13(1). P. 47-53. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-5

© The Authors

Введение

Водный дефицит повсеместно снижает продуктивность сельскохозяйственных растений, а фитогормоны являются главными регуляторами устойчивости растений в динамично меняющихся условиях среды. Индуцированные засухой нарушения метаболизма приводят к усилению образования активных форм кислорода (АФК), вызывая окислительный стресс в клетках растений. С одной стороны избыток АФК токсичен для растений, с другой стороны они являются ключевыми компонентами путей передачи сигналов, запускающих стрессовые реакции; задействованы в процессах развития растений [Mhamdi, Van Breusegem, 2018] и взаимодействиях растений с микроорганизмами [Segal, Wilson, 2018]. Однако чрезмерному накоплению АФК должна противодействовать антиоксидантная система, чтобы эффективно предотвращать развитие повреждений и гибель клеток растений.

Хорошо известно, что брассиностероиды (БС) необходимы для роста и развития растений, регуляции деления меристематических клеток и управления клеточным циклом [González-García et al., 2011; Miransari, Smith, 2014]. БС также играют заметную роль в реализации устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды, действуя напрямую на гены-мишени БС или посредством влияния на сигналинг АБК [Planas-Riverola et al., 2019]. Одним из проявлений БС-опосредованной реализации устойчивости к стрессам является активация антиоксидантных ферментов [Lima, Lobato, 2017; Tunc-Ozdemir, Jones, 2017] и стимуляция накопления осмопротектантов [Fabregas et al., 2018]. Так, важнейшим осмопротектантом клетки является аминокислота пролин, способная стабилизировать редокс-метаболизм клетки и снижать уровень повреждающего действия стресс-индуцированных АФК [Kishor et al., 2005; Szabados et al., 2010].

Надо отметить, что 24-эпибрассинолид (ЭБ) является представителем брассиностероидов и в концентрации 0.4 мкМ оказывает рост-стимулирующий и защитный эффект на растения пшеницы [Аллагулова и др. (Allagulova et al.), 2015]. Необходимо подчеркнуть, что БС работают в крайне низких концентрациях, что привлекает к ним пристальное внимание исследователей. Кроме того, БС используются в препаратах для повышения продуктивности важнейших сельскохозяйственных культур (например, эпин-экстра), и для грамотного применения с целью увеличения их устойчивости и продуктивности требуется изучение спектра ответных реакций растений в ответ на обработку этим фитогормоном в стрессовых условиях произрастания.

Цель работы состояла в изучении влияния предобработки 0.4 мкМ ЭБ на митохондриальную

активность клеток в апикальной части корней, содержание пероксида водорода, пролина и активность пероксидазы в растениях пшеницы в условиях дефицита влаги, моделируемого 12% полиэтиленгликолем (ПЭГ).

Материалы и методы

В качестве объекта использовали проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Салават Юлаев. Для этого семена пшеницы после стерилизации 96% этанолом проращивали 3-е суток в кюветах на фильтровальной бумаге, смоченной водопроводной водой, при 21–23°C, 16-часовом фотопериоде и освещенности 270 мкМ/(м²*с) ФАР, после чего 3-х суточные проростки пшеницы, изолированные от эндосперма, перекладывали корнями на раствор 2% сахарозы в присутствии или отсутствии 0.4 мкМ ЭБ на 24 ч. Осмотический стресс моделировали ПЭГ 6000 при выращивании растений в жидкой среде [Osmolovskaya et al., 2018], для чего растения переносили на смесь 2% сахарозы и 12% ПЭГ на разные промежутки времени. Контролем во всех опытах служили проростки, инкубированные на растворе 2% сахарозы.

Содержание пролина анализировали в 4-х суточных растениях, фиксируя их после 3-х, 6-ти и 24-х ч воздействия 12% ПЭГ. Экстракцию и определение свободного пролина осуществляли в целых растениях пшеницы по методу [Bates et al., 1973] и выражали в мкмоль/г сырой массы целого проростка.

Содержание пероксида водорода регистрировали в корнях интактных растений после воздействия на них 12% ПЭГ в течение 0.5 - 2.5 ч с интервалом в тридцать минут и оценивали по окислению ортофенилендиамина (ОФД), иницированного щавелевой кислотой, в результате окислительного распада которой с участием растительной оксалатоксидазы образуется H₂O₂. Оптическую плотность образцов измеряли при 490 нм на фотометре Benchmark (Bio-Rad Laboratories, США). Активность окисления ОФД выражали в единицах на 1 г сырой массы корней в мин [Хайруллин и др. (Khairullin et al.), 2001].

Тотальную активность пероксидазы оценивали в замороженных корнях 4-х суточных проростков пшеницы после воздействия на них 12% ПЭГ в течение 1 - 7 ч с интервалом в один час [Власова (Vlasova), 1994]. Метод основан на способности пероксидазы в присутствии субстрата перекиси водорода образовывать с гваяколом цветной комплекс, за развитием образования которого следили по секундомеру при 440 нм с использованием фотоэлектрического концентрационного колориметра ФЭК (КФК-2МП, СССР). Контролем служила кювета,

в которую вместо надосадочной жидкости добавляли дистиллированную воду. Активность пероксидазы определяли в корнях проростков пшеницы и выражали в усл.ед./ мг белка. Содержание белка оценивали по Бредфорд [Bradford, 1976].

Корни 4-суточных проростков пшеницы после 4 и 24-х ч воздействия 12% ПЭГ фиксировали для подсчета митотического индекса (МИ) клеток апикальной меристемы, анализируя по 2000 клеток в каждом варианте, для чего после отмывки от осмотика корни вместе с корневым чехликом фиксировали в смеси уксусной кислоты с этанолом (в соотношении объем : объем = 1 : 3) в течение 1.5 ч. Далее растительный материал отмывали водопроводной водой и обрабатывали в течение 1 ч смесью 5% пектиназы (ЕС 3.2.1.15) (ICN, USA) и 5% целлюлазы (ЕС 3.2.1.4) (ICN, USA) при 37°C. Каждый вариант опыта содержал не менее 15 проростков. Давленные препараты окрашивали ацетокармином, приготовленном на 45% уксусной кислоте. Используя микроскоп AxioImager M1 (Carl Zeiss, Германия) подсчитывали МИ клеток апикальной корневой меристемы как сумму клеток в стадии профазы, метафазы, анафазы и телофазы, выраженную в проценте от общего числа подсчитанных клеток [Безрукова и др. (Bezrukova et al.), 2016].

Статистическую обработку данных проводили с помощью MS Excel. В рисунках представлены средние значения 3-5 биологических повторностей, указаны их стандартные ошибки.

Результаты и их обсуждение

По мере увеличения интенсивности и продолжительности дефицита воды в растениях последовательно реализуются соответствующие механизмы, направленные на поддержание водного баланса и интенсивности ростовых процессов для выживания растений в стрессовых условиях. Фитогормоны, в том числе brassinosteroids, задействованы в реализации стресс-устойчивости растений. Важную роль в засухоустойчивости отводят окислительно-восстановительной и антиоксидантной системам растений [Laha et al., 2019]. Несомненно, для согласованной работы гормональной и антиоксидантной систем необходимо их взаимовлияние друг на друга. Такие данные приводятся в литературе, например, после воздействия натрий-хлоридного засоления опрыскивание растений сои ЭБ не только снижало генерацию перекиси водорода, степень повреждения мембранных структур, но и увеличивало показатели роста, при этом концентрация ЭБ не являлась рост-стимулирующей [Alam et al., 2019]. В нашей работе использовалась рост-стимулирующая концентрация ЭБ [Авальбаев и др. (Aval'baev et al.), 2010].

Процесс деления клеток апикальной меристемы корней является важной составляющей роста растений. Дефицит воды вызывал снижение показателя МИ на 25% после 4-х ч воздействия 12% ПЭГ и в два раза по сравнению с контролем после 24-х ч действия дефицита воды (рис.1). Предобработка проростков пшеницы 0.4 мкМ ЭБ в течение 24 ч стимулировала рост клеток корней пшеницы делением на 30% по сравнению с контролем. Интересно отметить, что после 4-х ч воздействия осмотика в корнях, предобработанных ЭБ проростков пшеницы, МИ клеток апикальной меристемы снижался, но был все еще выше контроля, а после 24-х ч воздействия 12% ПЭГ этот показатель сравнивался с контролем. Снижение доступности воды уменьшило количество делящихся клеток апикальной меристемы корней ЭБ-предобработанных проростков пшеницы лишь на 10 - 20% по сравнению с ЭБ-необработанными растениями (рис. 1). Это свидетельствует о том, что предобработка фитогормоном 24-эпибрасинолидом оказывает рост-стимулирующее и защитное действие на растения пшеницы в условиях дефицита влаги.

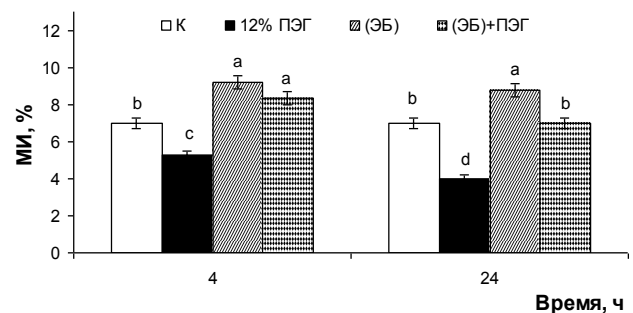


Рис. 1. Митотический индекс (МИ) клеток апикальной меристемы корней 4-х суточных проростков пшеницы, предобработанных 0.4 мкМ 24-эпибрасинолидом (ЭБ) в течение 24-х ч, а затем подвергшихся воздействию 12% ПЭГ в течение 4-х и 24-х ч.

Fig. 1. Mitotic index (MI) of cells of the apical meristem of the roots of 4-day-old wheat seedlings, pretreated with 0.4 μM 24-epibrassinolide (EB) for 24 h, and then exposed to 12% PEG for 4 and 24 hours.

Ранее было показано, что в основе протекторного действия 0.4 мкМ ЭБ лежит его способность влиять на метаболизм цитокининов, стабилизируя состояние гормональной системы в условиях 2% натрий-хлоридного засоления [Авальбаев и др. (Aval'baev et al.), 2010]. Наряду с гормональной системой, рост и развитие растений на протяжении онтогенеза контролируется антиоксидантной системой, ее роль при стрессовых воздействиях является крайне важной и определяет в целом степень потенциала выживаемости растений при стрессе [Laha

et al., 2019]. Поэтому далее мы провели анализ содержания пероксида водорода и активности пероксидазы в предобработанных и необработанных 0.4 мкМ ЭБ корнях проростков пшеницы в ходе воздействия 12% ПЭГ.

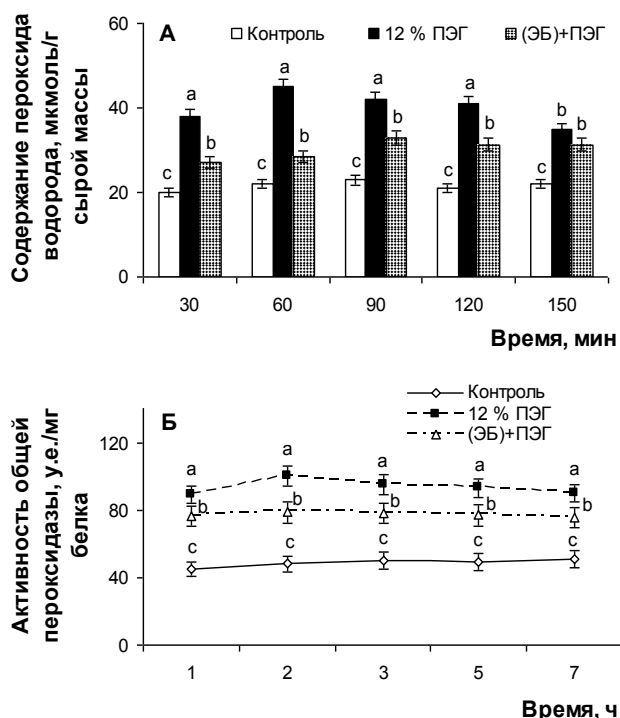


Рис. 2. Динамика содержания пероксида водорода (А) и активности пероксидазы (Б) при воздействии 12% ПЭГ в корнях 4-х суточных проростков пшеницы, предобработанных 0.4 мкМ ЭБ в течение 24 ч.

Fig. 2. Dynamics of hydrogen peroxide content (A) and peroxidase activity (B) under the influence of 12% PEG in the 4-day-old 0.4 μ M EB-pretreated wheat seedlings roots during 24 h.

Данные, представленные на рис. 2, демонстрируют практически двукратное накопление H_2O_2 , наблюдаемое через 30 мин, и пик активации пероксидазы через 2 ч воздействия осмотика, что свидетельствует о том, что растения испытывают значительный окислительный стресс.

Такое раннее накопление АФК логично, поскольку засуха приводит в первую очередь к накоплению супероксид-аниона и пероксида водорода, что в свою очередь вызывает активацию антиоксидантных ферментов. Предобработка ЭБ значительно уменьшила стресс-индуцированное резкое накопление пероксида водорода и активность пероксидазы (рис. 2). Нужно отметить достаточно пролонгированный эффект дефицита воды, поскольку и у ЭБ-предобработанных и у ЭБ-необработанных

растений пшеницы на протяжении 7 ч опыта наблюдается значительное повышение активности пероксидазы по сравнению с контролем (рис. 2Б). Полученные результаты расширяют наше понимание уже известной способности ЭБ модулировать обе составляющие про- и антиоксидантной системы в реализации под влиянием этого фитогормона антистрессовых реакций [Alam et al., 2019].

В наших экспериментах воздействие 12% ПЭГ постепенно повышало содержание пролина в побегах проростков пшеницы по сравнению с контролем, к 24 ч опыта количество этой аминокислоты в три раза превосходило контрольный уровень (рис. 3). В первые 6 часов стрессового воздействия в ЭБ-предобработанных растениях наблюдалось дополнительное 20% накопление пролина по сравнению с ЭБ-необработанными проростками пшеницы. Таким образом, при дефиците воды обработка ЭБ не только поддерживает деление клеток апикальной меристемы на уровне, близком к контролю (рис. 1), стабилизирует антиоксидантную систему (рис. 2), но и вызывает дополнительное увеличение содержания пролина в растениях пшеницы (рис. 3).

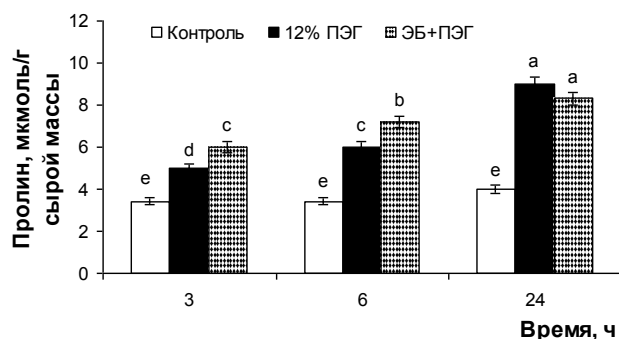


Рис. 3. Динамика содержания свободного пролина в 4-суточных 0.4 мкМ ЭБ-предобработанных в течение 24 ч растениях пшеницы при засухе, моделируемой 12% ПЭГ.

Fig. 3. Dynamics of free proline content in 4-day-old 0.4 μ M EB-pretreated wheat plants under water deficit, induced by 12% PEG.

В литературе описываются эксперименты, где после воздействия засоления опрыскивание сои ЭБ также приводило к увеличению содержания пролина, стимуляции активности супероксиддисмутазы, аскорбатпероксидазы и каталазы по сравнению с ЭБ-необработанными растениями [Alam et al., 2019].

Наряду с этим, пролин рассматривают в качестве химического шаперона и участника антиоксидантных защитных реакций растений [Matysik et al., 2002]. Совместная обработка растений горчицы ЭБ и пролином успешно нейтрализовала

стресс-индуцированное уменьшение роста, водного потенциала в листьях и урожайности семян, активируя антиоксидантную систему растений [Wani et al., 2019]. Известно, что устойчивые сорта растений при стрессе быстрее накапливают пролин, его содержание достигает более высокого уровня [Sripinyowanich et al., 2013], кроме того, существует положительная корреляция между урожаем пшеницы в условиях засухи и накоплением пролина [Mwadzingeni et al., 2016].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что предобработка 24-эпибрассинолидом способна оказывать защитное действие на деление клеток апикальной меристемы корней пшеницы, позитивно регулировать накопление пролина и стабилизировать состояние антиоксидантной системы растений пшеницы при стрессе.

Работа в рамках госзадания (№ гос. регистрации АААА-А21-121011990120-7) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

Литература

1. Авальбаев А.М., Юлдашев Р. А., Фатхутдинова Р. А., Урусов Ф. А, Сафутдинова Ю. В., Шакирова Ф. М. Влияние 24-эпибрассинолида на гормональный статус растений пшеницы при действии хлорида натрия // Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т. 46 (1). С.109-112.
2. Аллагулова Ч.Р., Масленникова Д.Р., Авальбаев А.М., Федорова К.А., Юлдашев Р.А., Шакирова Ф.М. Влияние 24-эпибрассинолида на рост растений пшеницы и содержание дегидринов в условиях кадмиевого стресса // Физиология растений. 2015. Т.62 (№ 4). С. 499-505. DOI: 10.7868/S0015330315040028
3. Безрукова М.В., Фатхутдинова Р.А., Шакирова Ф.М. Защитное действие агглютинина зародыша пшеницы на протекание митоза в корнях проростков *Triticum aestivum* при воздействии кадмия // Физиология растений. 2016. Т. 63 (№ 3). С. 382-389. DOI: 10.7868/S0015330316030027
4. Власова Т.А. Малый практикум по физиологии растений. М.: Изд-во МГУ. 1994. 183 с. (In Russian)
5. Хайруллин Р.М., Яруллина Л.Г., Трошина Н.Б., Ахметова И.Э. Активация хитоолигосахаридами окисления ортофенилендиамина проростками пшеницы в присутствии щавелевой кислоты // Биохимия. 2001. Т. 66 (3). С. 354-358
6. Alam P., Albalawi T. H., Altalayan F. H., Bakht M.A., Ahanger M.A., Raja V., Ashraf M., Ahmad P. 24-epibrassinolide (EBR) confers tolerance against NaCl stress in soybean plants by up-regulating antioxidant system, ascorbate-glutathione cycle, and glyoxalase system // Biomolecules. 2019. V. 9. Article: 640. DOI: 10.3390/biom9110640
7. Bates L.S., Waldran R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205-208. DOI: 10.1007/bf00018060
8. Bradford M.M. A rapid and sensitive methods for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding // Anal. Biochem. 1976. P. 248-254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999
9. Fabregas N., Lozano-Elena F., Blasco-Escamez D., Tohge T., Martinez-Andujar C., Albacete A., Osorio S., Bustamante M., Riechmann J. L., Nomura T., Yokota T., Conesa A., Afocea F.P., Fernie A.R., Cano-Delgado A.I. Overexpression of the vascular brassinosteroid receptor BRL3 confers drought resistance without penalizing plant growth // Nat. Commun. 2018. V. 9 (4680). DOI: 10.1038/s41467-018-06861-3
10. González-García M.-P., Vilarrasa-Blasi J., Zhiponova M., Divol F., Mora Garcia S., Russinova E., Cano-Delgado A. I. Brassinosteroids control meristem size by promoting cell cycle progression in Arabidopsis roots // Development. 2011. V. 138. P. 849-859. DOI: 10.1242/dev.057331
11. Kishor P.B.K., Sangam S., Amrutha R.N., Laxmi P.S., Naidu K.R., Rao S., Rao S., Reddy K.J., Theriappan P., Sreenivasulu N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implication in plant growth and abiotic stress tolerance // Current Sci. 2005. V. 88. P. 424-438
12. Laxa M., Liebthal M., Telman W., Chibani K., Dietz K. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance // Antioxidants. 2019. V. 8 (94). DOI: 10.3390/antiox8040094
13. Lima J. V., Lobato A. K. S. Brassinosteroids improve photosystem II efficiency, gas exchange, antioxidant enzymes and growth of cowpea plants exposed to water deficit // Physiol. Mol. Biol. Plants. 2017. V. 23. P. 59-72. DOI: 10.1007/s12298-016-0410-y
14. Matysik J., Alia B.B., Mohanty P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants // Curr. Sci. 2002. V. 82. P. 525-532.
15. Mhamdi A., Van Breusegem F. Reactive oxygen species in plant development // Development. 2018. V. 145 (dev164376). DOI: 10.1242/dev.164376
16. Miransari M., Smith D.L. Plant hormones and seed germination // Environ. Exp. Bot. 2014. V. 99. P. 110-121. DOI :10.1016/j.envexpbot.2013.11.005

17. Mwadzingeni L., Shimelis H., Tesfay S., Tsilo T.J. Screening of bread wheat genotypes for drought tolerance using phenotypic and proline analyses // *Front. Plant Sci.* 2016. V. 7 (1276). DOI: 10.3389/fpls.2016.01276
18. Osmolovskaya N., Shumilina J., Kim A., Didio A., Grishina T., Bilova T., Keltsieva O.A., Zhukov V., Tikhonovich I., Tarakhovskaya E., Frolov A., Wessjohann L.A. Methodology of drought stress research: experimental setup and physiological characterization // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19 (4089). DOI: 10.3390/ijms19124089
19. Planas-Riverola A., Gupta A., Betegón-Putze I., Bosch N., Ibañez M., Caño-Delgado A.I. Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress // *Development.* 2019. V. 146 (dev151894). DOI:10.1242/dev.151894.
20. Segal L.M., Wilson R.A. Reactive oxygen species metabolism and plant-fungal interactions // *Fungal Genet. Biol.* 2018. V. 110. P. 1-9. DOI: 10.1016/j.fgb.2017.12.003
21. Sripinyowanich S., Klomsakul P., Boonburapong B., Banguyeechun T., Asami T., Gu H., Buaboocha T., Chadchawan S. Exogenous ABA induces salt tolerance in indica rice (*Oryza sativa* L.): The role of OsP5CS1 and OsP5CR gene expression during salt stress // *Environ. Exp. Bot.* 2013. V. 86. P. 94-105. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2010.01.009
22. Szabados L., Savoute A. Proline: a multifunctional amino acid // *Trends Plant Sci.* 2010. V. 15 (2). P. 89-97. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.11
23. Tunc-Ozdemir M., Jones A. M. BRL3 and AtRGS1 cooperate to fine tune growth inhibition and ROS activation // *PLoS ONE.* 2017. V. 12 (e0177400). DOI: 10.1371/journal.pone.0177400
24. Wani A.S., Ahmad A., Hayat Sh., Tahir I. Epibrassinolide and proline alleviate the photosynthetic and yield inhibition under salt stress by acting on antioxidant system in mustard // *Plant Physiol. Biochem.* 2019. V. 135. P.385-394. DOI: 10.1016/j.plaphy.2019.01.002
3. Aval'baev A.M., Yuldashev R. A., Fatkhutdinova R. A., Urusov F. A., Safutdinova Yu. V., Shakirova F. M. Vliyanie 24 epibrassinolida na gormonal'nyi status rastenii pshenitsy pri deistvii khlorida natriya. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya.* 2010. T. 46(1). S.109-112. [Effect of 24 epibrassinolide on the hormonal status of wheat plants under the action of sodium chloride] (In Russian)
4. Bates L.S., Waldran R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 1973. V. 39. P. 205-208. DOI: 10.1007/bf00018060
5. Bezrukova M.V., Fatkhutdinova R.A., Shakirova F.M. Zashchitnoe deistvie agglutinina zarodysha pshenitsy na protekanie mitozy v kornyakh prorstkov *Triticum aestivum* pri vozdeistvii kadmia. *Fiziologiya rastenii.* 2016. T. 63 (№3). S. 382-389. DOI: 10.7868/S0015330316030027 [Protective effect of wheat germ agglutinin on the course of mitosis in the roots of *Triticum aestivum* seedlings under the influence of cadmium] (In Russian)
6. Bradford M.M. A rapid and sensitive methods for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 1976. P. 248-254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999
7. Fabregas N., Lozano-Elena F., Blasco-Escamez D., Tohge T., Martinez-Andujar C., Albacete A., Osorio S., Bustamante M., Riechmann J. L., Nomura T., Yokota T., Conesa A., Afocea F.P., Fernie A.R., Cano-Delgado A.I. Overexpression of the vascular brassinosteroid receptor BRL3 confers drought resistance without penalizing plant growth. *Nat. Commun.* 2018. V. 9 (4680). DOI: 10.1038/s41467-018-06861-3
8. González-García M.-P., Vilarrasa-Blasi J., Zhiponova M., Divol F., Mora Garcia S., Russinova E., Cano-Delgado A. I. Brassinosteroids control meristem size by promoting cell cycle progression in Arabidopsis roots. *Development.* 2011. V. 138. P. 849-859. DOI: 10.1242/dev.057331
9. Khairullin R.M., Yarullina L.G., Troshina N.B., Akhmetova I.E. Aktivatsiya khitoooligosakharidami okisleniya ortofenilendiamina prorstkami pshenitsy v prisutstvii shchhavevoi kisloty. *Biokhimiya.* 2001. T. 66 (3). S. 354-358 [Activation by chitoooligosaccharides of orthophenylenediamine oxidation by wheat seedlings in the presence of oxalic acid] (In Russian)
10. Kishor P.B.K., Sangam S., Amrutha R.N., Laxmi P.S., Naidu K.R., Rao S., Rao S., Reddy K.J., Theriappan (№ 4). S. 499-505. DOI: 10.7868/S0015330315040028 [Effect of 24-epibrassinolide on wheat plant growth and dehydrin content under cadmium stress] (In Russian)

References

1. Alam P., Albalawi T. H., Altalayan F. H., Bakht M.A., Ahanger M.A., Raja V., Ashraf M., Ahmad P. 24-epibrassinolide (EBR) confers tolerance against NaCl stress in soybean plants by up-regulating antioxidant system, ascorbate-glutathione cycle, and glyoxalase system. *Biomolecules.* 2019. V. 9. Article: 640. DOI: 10.3390/biom9110640
2. Allagulova Ch.R., Maslennikova D.R., Aval'baev A.M., Fedorova K.A., Yuldashev R.A., Shakirova F.M. Vliyanie 24-epibrassinolida na rost rastenii pshenitsy i sodержanie degidrinov v usloviyakh kadmievogo stressa. *Fiziologiya rastenii.* 2015. T.62

- P., Sreenivasulu N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implication in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Sci.* 2005. V. 88. P. 424-438
11. Laxa M., Liebthal M., Telman W., Chibani K., Dietz K. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants.* 2019. V. 8 (94). DOI: 10.3390/antiox8040094
 12. Lima J. V., Lobato A. K. S. Brassinosteroids improve photosystem II efficiency, gas exchange, antioxidant enzymes and growth of cowpea plants exposed to water deficit. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2017. V. 23. P. 59-72. DOI: 10.1007/s12298-016-0410-y
 13. Matysik J., Alia B.B., Mohanty P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Curr. Sci.* 2002. V. 82. P. 525-532.
 14. Mhamdi A., Van Breusegem F. Reactive oxygen species in plant development. *Development.* 2018. V. 145 (dev164376). DOI: 10.1242/dev.164376
 15. Miransari M., Smith D.L. Plant hormones and seed germination. *Environ. Exp. Bot.* 2014. V. 99. P. 110-121. DOI :10.1016/j.envexpbot.2013.11.005
 16. Mwadzingeni L., Shimelis H., Tesfay S., Tsilo T.J. Screening of bread wheat genotypes for drought tolerance using phenotypic and proline analyses. *Front. Plant Sci.* 2016. V. 7 (1276). DOI: 10.3389/fpls.2016.01276
 17. Osmolovskaya N., Shumilina J., Kim A., Didio A., Grishina T., Bilova T. , Keltsieva O.A. , Zhukov V., Tikhonovich I., Tarakhovskaya E., Frolov A., Wessjohann L.A. Methodology of drought stress research: experimental setup and physiological characterization. *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19 (4089). DOI: 10.3390/ijms19124089
 18. Planas-Riverola A., Gupta A. , Betegón-Putze I. , Bosch N. , Ibañes M., Caño-Delgado A.I. Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development.* 2019. V. 146 (dev151894). DOI:10.1242/dev.151894.
 19. Segal L.M., Wilson R.A. Reactive oxygen species metabolism and plant-fungal interactions. *Fungal Genet. Biol.* 2018. V. 110. P. 1-9. DOI: 10.1016/j.fgb.2017.12.003
 20. Sripinyowanich S., Klomsakul P., Boonburapong B., Bangyeekhun T., Asami T., Gu H., Buaboocha T., Chadchawan S. Exogenous ABA induces salt tolerance in indica rice (*Oryza sativa* L.): The role of OsP5CS1 and OsP5CR gene expression during salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 2013. V. 86. P. 94-105. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2010.01.009
 21. Szabados L., Savoute A. Proline: a multifunctional aminoacid. *Trends Plant Sci.* 2010. V. 15 (2). P. 89-97. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.11
 22. Tunc-Ozdemir M., Jones A. M. BRL3 and AtRGS1 cooperate to fine tune growth inhibition and ROS activation. *PLoS ONE.* 2017. V. 12 (e0177400). DOI: 10.1371/journal.pone.0177400
 23. Vlasova T.A. Malyi praktikum po fiziologii rastenii. M.: Izd-vo MGU. 1994. 183 s. [Small workshop on plant physiology] (In Russian)
 24. Wani A.S., Ahmad A. Hayat Sh., Tahir I. Epibrassinolide and proline alleviate the photosynthetic and yield inhibition under salt stress by acting on antioxidant system in mustard. *Plant Physiol. Biochem.* 2019. V. 135. P.385-394. DOI: 10.1016/j.plaphy.2019.01.002