

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 581.19:632.3
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-1-15-24>

Поступила в редакцию 09.11.2023
Received 09.11.2023

Н. В. Балюк, Н. А. Ламан, Ж. Н. Калацкая

*Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛОНАЛЬНО МИКРОРАЗМНОЖЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ИХ ОБРАБОТКЕ ИММУНОСТИМУЛЯТОРАМИ

Аннотация. Изучено влияние эпибрассинолида в сочетании с салициловой кислотой и метилжасмонатом на формирование комплексной устойчивости клонально микропропагированных растений картофеля сорта Бриз к вирусу Y картофеля и недостатку влаги, функционирование про-/антиоксидантной системы, а также на физиологическое состояние, продуктивность и качество полученных мини-клубней. Выявлено, что антивирусная устойчивость в условиях комбинированного стресса формируется только в присутствии эпибрассинолида, который запускает серию защитных механизмов за счет накопления перекиси водорода, фенольных соединений и возрастания активности пероксидаз, в результате чего сохраняется продуктивность и улучшается качество получаемой продукции. Применение трехкомпонентной смеси позволяет получить наибольшие массу и количество мини-клубней картофеля, при этом ее защитное действие против вирусной инфекции не проявляется.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, недостаток влаги, вирус Y картофеля, эпибрассинолид, салициловая кислота, метилжасмонат, перекись водорода, антиоксидантные ферменты, пролин, фенольные соединения

Для цитирования: Балюк, Н. В. Физиолого-биохимические особенности реализации адаптивного потенциала клонально микропропагированных растений картофеля при их обработке иммуностимуляторами / Н. В. Балюк, Н. А. Ламан, Ж. Н. Калацкая // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2024. – Т. 69, № 1. – С. 15–24. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-1-15-24>

Natallia V. Baliuk, Nikolai A. Laman, Joanna N. Kalatskaja

*V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF IMPLEMENTATION OF THE ADAPTIVE POTENTIAL OF CLONALLY MICROPROPAGATED POTATO PLANTS USING IMMUNOSTIMULANTS

Abstract. The effect of epibrassinolide in combination with salicylic acid and methyl jasmonate on the formation of complex resistance of clonally micropropagated potato plants of the Briz variety to the potato virus Y and to moisture lack, their physiological state, the functioning of the pro-/antioxidant system, as well as on the productivity and quality of the obtained mini-tubers was studied. It was revealed that antiviral resistance under combined stress conditions is formed only in the presence of epibrassinolide that triggers a series of protective mechanisms through accumulation of hydrogen peroxide, phenolic compounds and an increase in peroxidase activity, while maintaining productivity and improving the quality of the products obtained. The use of a three-component mixture is accompanied by the largest mass and a number of potato mini-tubers, while its protective effect against a viral infection is not manifested.

Keywords: *Solanum tuberosum*, moisture deficiency, potato virus Y, epibrassinolide, salicylic acid, methyl jasmonate, hydrogen peroxide, antioxidant enzymes, proline, phenolic compounds

For citation: Baliuk N. V., Laman N. A., Kalatskaja J. N. Physiological and biochemical features of implementation of the adaptive potential of clonally micropropagated potato plants using immunostimulants. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2024, vol. 69, no. 1, pp. 15–24 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-1-15-24>

Введение. Вирусы растений распространены по всему миру и считаются одними из наиболее опасных патогенов, что приводит к серьезным экономическим потерям в плане продуктивности и качества урожая. В отличие от вредителей, грибов и бактерий, против вирусов нельзя использовать методы прямого контроля. Борьба с вирусными заболеваниями растений зависит от генетической устойчивости растений-хозяев, организации агротехнических приемов ухода, способных

активизировать потенциальные защитные силы растений. Кроме того, растения подвергаются (одновременно или последовательно) неблагоприятным воздействиям абиотической природы, что может существенно влиять на формирование их защитных реакций. Проблема оптимального водообеспечения на территории Республики Беларусь возникает также в регионах с достаточным годовым количеством осадков из-за неравномерности их выпадения в течение вегетационного периода.

В настоящее время малоизученными остаются комбинированные условия окружающей среды (вирусное заражение и недостаток влаги) и физиолого-биохимические механизмы, которые могут приводить к различным взаимоотношениям растений с вирусами – от мутуализма до паразитизма. С одной стороны, засуха повышает восприимчивость растений к патогенам [1], а с другой – вирусы могут повышать способность растений противостоять абиотическим стрессам, вызывая засухоустойчивость или холодостойкость [2].

Анализ литературы по данной проблеме свидетельствует об эффективности некоторых соединений (иммуностимуляторов), таких как брассиностероиды, салициловая кислота (СК) и метилжасмонат (МеЖ), в формировании у растений устойчивости к вирусам и в повышении их засухоустойчивости путем индукции системной устойчивости [3, 4].

Цель данной работы – установить физиолого-биохимические особенности формирования комплексной устойчивости клонально микроразмноженных растений картофеля к вирусному заражению на фоне действия абиотического стресса при их обработке иммуностимуляторами.

Материалы и методы исследования. Опыты проведены на клонально микроразмноженных растениях картофеля белорусской селекции сорта Бриз, предоставленных РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству». Культивирование растений-регенерантов осуществляли на торфяном почвогрунте «Двина» в условиях водного дефицита – 40–45 % от полной влагоемкости. Листовую поверхность растений обрабатывали путем ее опрыскивания эпибрасинолидом (ЭБЛ) в составе препарата «Эпин-Экстра» (10–7 моль/л) с МеЖ (10–7 моль/л) и/или СК (10–6 моль/л). Для искусственного заражения Y-вирусом картофеля (YVK) листья натирали клеточным соком растений-доноров при помощи мелкозернистой наждачной бумаги через 3 сут после обработки смесями. Условия водного дефицита создавали через неделю после обработки растений и продолжали в течение 14 сут до появления симптомов повреждений на листьях, после чего их фиксировали. Растения выращивали при температуре 20–21 °С, освещенности 12 000 лк и фотопериоде 16/8 ч (день/ночь).

YVK определяли с помощью иммуноферментного анализа согласно инструкции Коренево, содержание перекиси водорода (H_2O_2) – по цветной реакции с ксиленовым оранжевым; сумму фенольных соединений – согласно методу, основанному на реакции фенолов с реактивом Фолина–Чокальтеу; интенсивность перекисного окисления липидов мембран (ПОЛ) – по способности 2-тиобарбитуровой кислоты связываться с липидными перекисями; содержание пролина – по цветной реакции с нингидрином при нагревании; извлечение фотосинтетических пигментов осуществляли 96%-ным ацетоном по Lichtenthaler.

Общую активность растворимой пероксидазы определяли по Бояркину, используя в качестве хромогенного субстрата бензидин; активность глутатионредуктазы (ГР) – по кинетике окисления НАДФ(Н) согласно методике, предложенной Smith с соавт.; активность аскорбатпероксидазы (АПО) – по реакции восстановления пероксида водорода аскорбатом согласно методу Nakano и Asada; активность полифенолоксидазы (ПФО) – по изменению оптической плотности продуктов реакции, которые образуются при окислении пирокатехина за определенный промежуток времени.

Для статистической обработки использовали программу Statistica 8.0. Каждый опыт проводили в трех биологических и трех аналитических повторностях. В работе приведены средние статистические значения и их стандартные ошибки. Различия между вариантами оценивали с помощью критерия Краскела–Уоллеса и считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Достоверно различающиеся значения обозначали буквами a, b, c, d.

Результаты и их обсуждение. В наших исследованиях дефицит почвенной влаги приводил к снижению степени заражения YVK у инфицированных растений на 35,2 % по сравнению с оп-

тимальными условиями выращивания [5]. Показано, что недостаток влаги негативно влияет на транслокацию вируса в растениях. Например, при засухе за счет активации аутофагии в растениях томата подавляется распространение вируса желтой курчавости листьев [6]. Более того, обнаружено, что повышенная интенсивность засухи снижает вирусную инфекцию в листьях фасоли [7]. Это указывает на то, что уровень водного дефицита имеет важное значение при взаимодействии растений и вирусов.

В условиях комбинированного стресса только при использовании ЭБЛ наблюдалось снижение степени заражения УВК на 27,3 % (рис. 1). В работе [8] показано, что применение ЭБЛ замедляло развитие вируса огуречной мозаики за счет индукции защитных генов, а обработка растений огурца ингибитором синтеза брассинозолом способствовала развитию вирусной инфекции. Применение смесей ЭБЛ + СК и ЭБЛ + МеЖ не вызывало достоверно значимых отличий по содержанию вирусных частиц в сравнении с зараженным контролем, что, вероятно, связано с ингибированием ЭБЛ экспрессии генов, отвечающих за салицилат- и жасмонат-зависимые ответы. Ранее антагонистические взаимодействия были продемонстрированы на растениях риса при экзогенной обработке ЭБЛ против галловой нематоды, что выражалось в подавлении двух основных генов (*OsAOS2* и *OsJAMYB*) жасмонат-индуцируемого сигнального пути [9]. Применение трехкомпонентной смеси (ЭБЛ с СК и МеЖ) приводило к накоплению УВК в листьях картофеля, что может быть связано с интерференцией отдельных сигнальных систем, индуцируемых одновременно засухой и вирусным заражением.

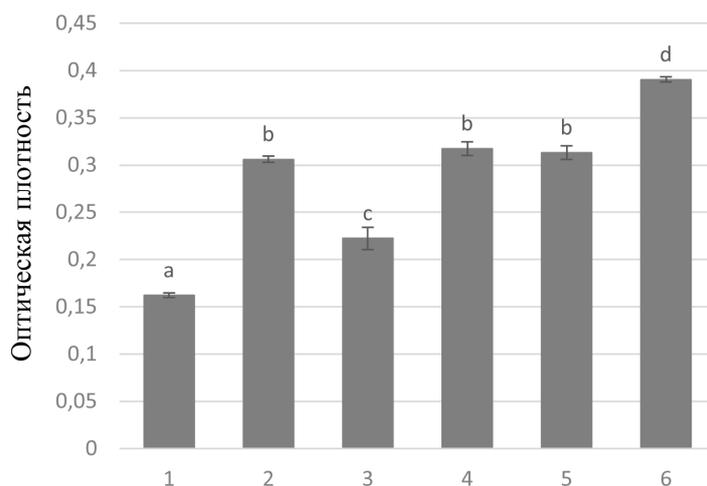


Рис. 1. Антивирусная активность в листьях инфицированных растений картофеля на фоне водного дефицита при обработке смесями иммуностимуляторов (1 – контроль; 2 – УВК; 3 – ЭБЛ; 4 – ЭБЛ + СК; 5 – ЭБЛ + МеЖ; 6 – ЭБЛ + СК + МеЖ)

Fig. 1. Antiviral activity in the leaves of the infected potato plants against the water deficiency background when treated with mixtures of immunostimulants (1 – control; 2 – potato virus Y; 3 – epibrassinolide; 4 – epibrassinolide + salicylic acid; 5 – epibrassinolide + methyl jasmonate; 6 – epibrassinolide + salicylic acid + methyl jasmonate)

Чаще всего в результате вирусного заражения и недостатка влаги отмечается торможение роста растений, что имеет решающее значение для их выживания в условиях стресса. В наших исследованиях инфицирование УВК на фоне дефицита влаги вызывало ингибирование ростовых процессов и уменьшение длины побегов на 26,6 % по сравнению со здоровым контролем (рис. 2, таблица).

Применение всех исследуемых вариантов обработки иммуностимуляторами способствовало индукции ростовых процессов и увеличению длины побегов на 15–37 %. Известно, что брассиностероиды участвуют в ростовых процессах, вызывая удлинение гипокотилия и эпикотилия, увеличивая высоту растения и накопление надземной массы [10]. Увеличение длины побегов при обработке МеЖ в условиях водного дефицита, вероятно, связано с регуляцией синтеза фитогормонов, отвечающих за ростовые процессы. Сообщалось, что комбинированная обработка



Рис. 2. Внешний вид растений картофеля при обработке иммуностимуляторами в условиях вирусного заражения и недостатка влаги

Fig. 2. Appearance of the potato plants when treated with immunostimulants under the conditions of viral infection and moisture lack

Высота побегов и сумма хлорофиллов в зараженных УВК листьях картофеля в условиях недостатка влаги при обработке иммуностимуляторами

Height of shoots and the total chlorophyll content in the potato virus Y-infected potato leaves against the moisture lack background when treated with immunostimulants

Вариант обработки	Высота побегов		Сумма хлорофиллов	
	см	% к УВК	мг/г сухой массы	% к УВК
Контроль	15,7 ± 0,6 ^{ac}	126,6	21,0 ± 0,2 ^{ad}	122,8
УВК	12,4 ± 1 ^b	100,0	17,1 ± 1 ^b	100,0
ЭБЛ	14,2 ± 0,7 ^a	114,5	15,9 ± 0,4 ^b	93,0
ЭБЛ + СК	14,4 ± 0,7 ^a	116,1	19,2 ± 0,2 ^c	112,3
ЭБЛ + МеЖ	14,7 ± 0,4 ^a	118,6	19,5 ± 0,7 ^{ac}	114,0
ЭБЛ + СК + МеЖ	17,0 ± 0,7 ^c	137,1	22,6 ± 0,2 ^d	132,2

смесью МеЖ с СК способствовала наибольшему увеличению длины побегов и корней кукурузы в условиях засухи по сравнению с индивидуальной (МеЖ либо СК), что согласуется с полученными экспериментальными данными [4].

Общеизвестно, что одним из наиболее важных физиологических процессов у растений является фотосинтез, поэтому структурно-функциональное состояние фотосинтетического аппарата может служить индикатором неблагоприятных условий при взаимодействии вирус–растение в условиях водного дефицита. По нашим данным (см. таблицу), инфицирование УВК на фоне дефицита влаги вызвало снижение общего содержания хлорофиллов *a* и *b* в листьях картофеля на 22,8 % по отношению к неинфицированному контролю, что может быть вызвано активацией компонентов хлорофилл-синтезной системы, таких как хлорофиллаза, или прямым воздействием вируса на синтез пигментов.

Обработка ЭБЛ в смеси с сигнальными молекулами оказала положительное влияние на биосинтез фотосинтетических пигментов при совокупном действии стрессоров, что подтверждалось увеличением суммы хлорофиллов *a* и *b* на 12–32 % по отношению к инфицированному контролю. Показано, что обработка СК улучшает проницаемость мембран, облегчая поглощение и использование минеральных питательных веществ, таких как Mg и Fe, которые необходимы для биосинтеза хлорофилла и транспорта ассимилятов [11]. Кроме того, имеются данные о влиянии МеЖ на фотосинтетическую активность. Так, при обработке жасмонатами отмечалось увеличение пула хлорофиллов и повышение эффективности фотосистемы II вследствие активации двух ферментов – протохлорофиллидредуктазы и дегидратазы α -аминолевулиновой кислоты [12].

Повышение устойчивости картофеля к УВК в условиях водного дефицита под влиянием иммуностимуляторов может быть связано с изменением концентрации H_2O_2 в тканях растений. Применение ЭБЛ вызывало значительное накопление H_2O_2 , которое, вероятно, способствовало снижению вирусного заражения. Однако в данном варианте содержание ПОЛ не изменилось относительно инфицированного контроля (рис. 3). Полученные результаты согласуются с литературными данными. Так, при опрыскивании растений *Nicotiana benthamiana* brassиностероидами в верхних необработанных листьях наблюдалась резистентность к вирусу, сопровождающаяся накоплением H_2O_2 [3]. Накопление H_2O_2 в стрессовых условиях происходило также при применении варианта ЭБЛ с МеЖ (содержание продуктов ПОЛ сохранялось на уровне инфицированного контроля). Вероятно, способность МеЖ вызывать оксидативный стресс связана с ингибированием общей активности пероксидазы. Сообщалось, что добавление МеЖ к суспензионной культуре *Panax ginseng* индуцировало окислительный стресс, о чем свидетельствовало повышение в клетках содержания H_2O_2 и снижение активности каталазы и супероксиддисмутазы [13]. Пониженный уровень H_2O_2 при применении ЭБЛ + СК, вероятно, является следствием функциональной общей активности пероксидазы. Обработка растений трехкомпонентной смесью (ЭБЛ с СК и МеЖ) вызывала меньшее накопление H_2O_2 , что может быть результатом образования гидроксильного радикала, более токсичного по сравнению с H_2O_2 , который способен проходить через мембраны и запускать процесс самоокисления липидов, что подтверждается максимальным накоплением продуктов ПОЛ при применении данного варианта.

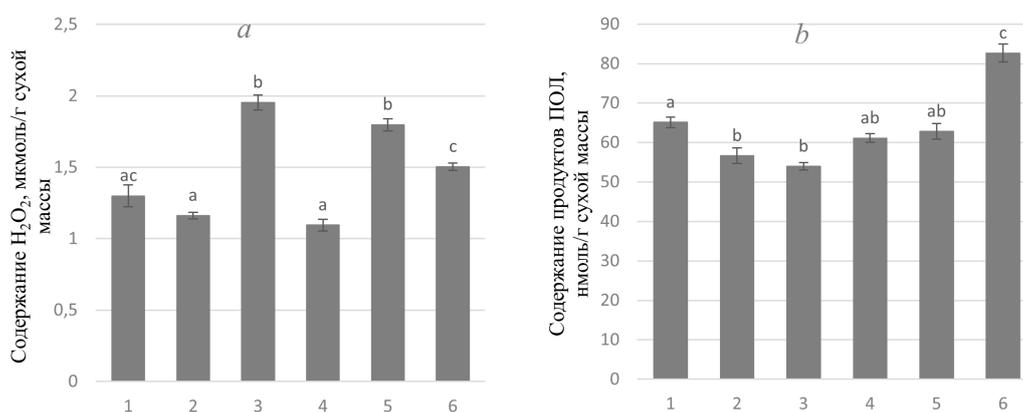


Рис. 3. Содержание H_2O_2 (a), продуктов ПОЛ (b) в листьях картофеля на фоне вирусного заражения и недостатка влаги при обработке иммуностимуляторами: 1 – контроль; 2 – УВК; 3 – ЭБЛ; 4 – ЭБЛ + СК; 5 – ЭБЛ + МеЖ; 6 – ЭБЛ + СК + МеЖ

Fig. 3. Content of H_2O_2 (a), lipid peroxidation products (b) in potato leaves against the background of viral infection and moisture lack when treated with immunostimulants: 1 – control; 2 – potato virus Y; 3 – epibrassinolide; 4 – epibrassinolide + salicylic acid; 5 – epibrassinolide + methyl jasmonate; 6 – epibrassinolide + salicylic acid + methyl jasmonate

Далее была изучена сравнительная активность антиоксидантных ферментов у растений картофеля в условиях совокупно действующих факторов при обработке иммуностимуляторами (рис. 4). При заражении растений картофеля УВК активность ГР повышалась, а общая активность пероксидазы и АПО сохранялась на уровне неинфицированного контроля. Обработка ЭБЛ способствовала увеличению общей активности пероксидазы и АПО, что может свидетельствовать о формировании защитных реакций, направленных на детоксикацию активных форм кислорода. Использование ЭБЛ + СК вызывало увеличение общей активности пероксидазы на фоне снижения активности АПО и ГР, что, вероятно, указывает на участие СК в регуляции внутриклеточной концентрации H_2O_2 . В варианте с обработкой ЭБЛ с МеЖ наблюдалось снижение общей активности пероксидазы и ГР по сравнению с инфицированным контролем. Считается, что активность ферментов зависит от продолжительности стрессового воздействия и приводит к изменению активности других сопряженных ферментов. Можно предположить, что повышение активности пероксидазы в ответ на воздействие стресс-факторов происходит на ранних этапах

формирования адаптивных реакций, а к концу эксперимента снижается на фоне индукции других антиоксидантных ферментов, участвующих в утилизации H_2O_2 . Это предположение подтверждает сохранение активности АПО на уровне инфицированного контроля.

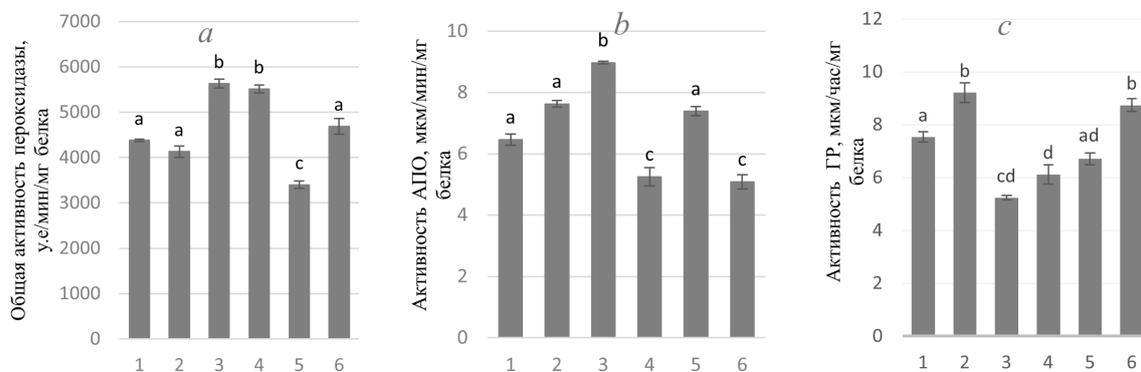


Рис. 4. Общая активность пероксидазы (a), АПО (b) и ГР (c) в листьях картофеля на фоне недостатка влаги и вирусного заражения при обработке растений иммуностимуляторами (1 – контроль; 2 – УВК; 3 – ЭБЛ; 4 – ЭБЛ + СК; 5 – ЭБЛ + МеЖ; 6 – ЭБЛ + СК + МеЖ)

Fig. 4. Total activity of peroxidase (a), ascorbate peroxidase (b) and glutathione reductase (c) in potato leaves against the background of moisture deficiency and viral infection when plants are treated with immunostimulants (1 – control; 2 – potato virus Y; 3 – epibrassinolide; 4 – epibrassinolide + salicylic acid; 5 – epibrassinolide + methyl jasmonate; 6 – epibrassinolide + salicylic acid + methyl jasmonate)

Применение трехкомпонентной смеси (ЭБЛ с МеЖ и СК) вызывало увеличение активности пероксидазы, что можно объяснить участием антиоксидантной системы в ответ на повышенное содержание ПОЛ и H_2O_2 . При тех же условиях наблюдалось ингибирование активности АПО и увеличение ГР.

Таким образом, иммуностимуляторы позволяют кардинально изменять активность антиоксидантных ферментов путем формирования адаптивных реакций к вирусному заражению на фоне водного дефицита.

В условиях недостаточного почвенного влагообеспечения активность ПФО при заражении растений вирусом УВК выросла практически в 2 раза, а общее содержание фенольных соединений сохранялось на уровне неинфицированного контроля (рис. 5). Так как в обработанных ЭБЛ растениях существенно возростала общая активность пероксидазы и снижалась ПФО, можно

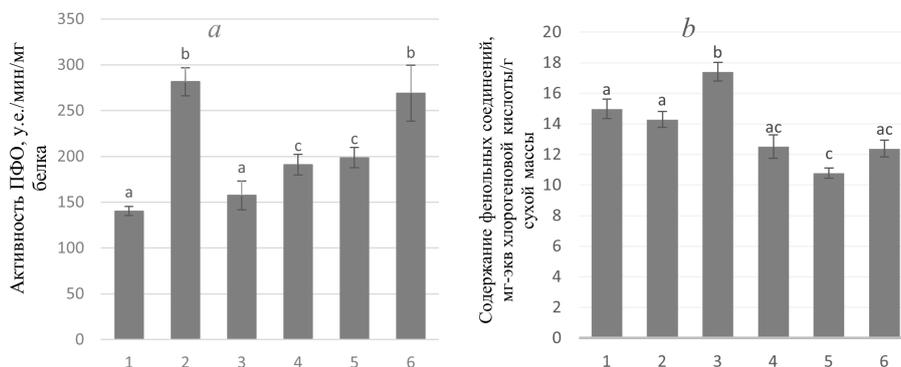


Рис. 5. Активность ПФО (a) и содержание фенольных соединений (b) в листьях картофеля на фоне недостатка влаги и вирусного заражения при обработке растений иммуностимуляторами (1 – контроль; 2 – УВК; 3 – ЭБЛ; 4 – ЭБЛ + СК; 5 – ЭБЛ + МеЖ; 6 – ЭБЛ + СК + МеЖ)

Fig. 5. Activity of polyphenol oxidase (a) and the content of phenolic compounds (b) in potato leaves against the background of moisture lack and viral infection when plants are treated with immunostimulants (1 – control; 2 – potato virus Y; 3 – epibrassinolide; 4 – epibrassinolide + salicylic acid; 5 – epibrassinolide + methyl jasmonate; 6 – epibrassinolide + salicylic acid + methyl jasmonate)

предположить, что в патосистеме картофель–УВК при недостатке влаги защитное действие связано с формированием адаптивных реакций на уровне индукции фенолпропаноидного метаболизма, который приводит к синтезу фенолов-прекурсоров лигнина. Во-первых, это выполняет важную защитную функцию в растении, создавая механический барьер на пути проникающих вирусов. Во-вторых, предшественники лигнина и свободные радикалы, образующиеся при их окислении, являются высокотоксичными соединениями для патогена.

Обработка СК или МеЖ способствует ингибированию активности ПФО, а в варианте с ЭБЛ + МеЖ – статистически значимому уменьшению содержания фенольных соединений по отношению к инфицированному контролю. Применение трехкомпонентной смеси способствовало сохранению активности ПФО и содержания фенольных соединений на уровне инфицированного контроля (рис. 5), что может быть связано с образованием токсичных для патогена хинонов, принимающих участие в образовании фитоалексинов, синтезе лигнина и суберина, генерировании активных форм кислорода.

При стрессовых условиях, особенно связанных с водным дефицитом, в растениях возрастает содержание низкомолекулярных протекторов, таких как пролин. При этом основной функцией пролина является поддержание водного баланса, а именно связанной воды в растительной клетке, и, как следствие, защита биологических мембран и органических молекул от деструкции. В условиях абиотического стресса содержание пролина регулируется не только синтезом, но и деградацией с участием сигнальных посредников и фитогормонов. Ферментом, лимитирующим скорость деградации пролина, является пролиндегидрогеназа, играющая важную роль в накоплении пролина. По сравнению с инфицированным вариантом обработка ЭБЛ не привела к статистически значимому отличию по содержанию пролина и активности пролиндегидрогеназы. Показано, что у растений арабидопсиса обработка экзогенным брассиностероидом ингибирует экспрессию гена основного изофермента $\Delta 1$ -пирролин-5-карбоксилатсинтазы и не воздействует на образование транскриптов пролиндегидрогеназы [14], что согласуется с нашими результатами. В варианте с обработкой ЭБЛ + СК отмечалось снижение накопления пролина и ингибирование активности пролиндегидрогеназы на 22,5 и 25 % соответственно (рис. 6).

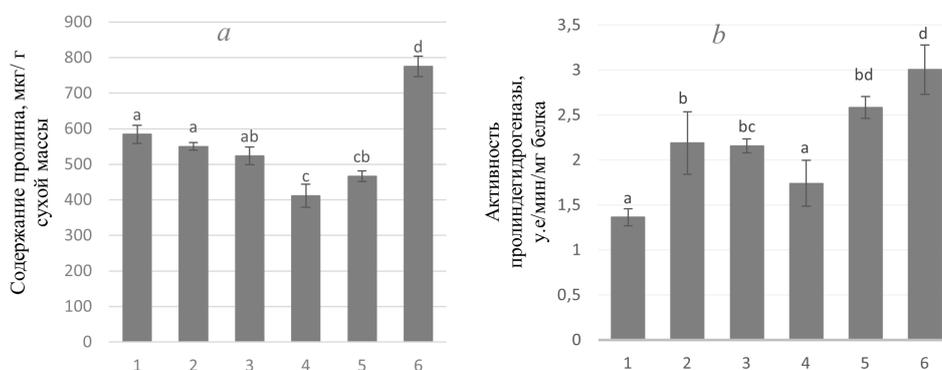


Рис. 6. Содержание пролина (а) и активность пролиндегидрогеназы (б) в листьях картофеля на фоне недостатка влаги и вирусного заражения при обработке растений иммуностимуляторами (1 – контроль; 2 – УВК; 3 – ЭБЛ; 4 – ЭБЛ + СК; 5 – ЭБЛ + МеЖ; 6 – ЭБЛ + СК + МеЖ)

Fig. 6. Proline content (a) and proline dehydrogenase activity (b) in potato leaves against the background of moisture lack and viral infection when plants are treated with immunostimulants (1 – control; 2 – potato virus Y; 3 – epibrassinolide; 4 – epibrassinolide + salicylic acid; 5 – epibrassinolide + methyl jasmonate; 6 – epibrassinolide + salicylic acid + methyl jasmonate)

Незначительное снижение содержания пролина при действии ЭБЛ с МеЖ происходит, вероятно, за счет увеличения активности фермента пролиндегидрогеназы. Кроме того, нельзя исключать влияние МеЖ на метаболизм пролина со стресс-индуцируемым накоплением H_2O_2 в качестве сигнального посредника, так как этот фитогормон активно воздействует на системы образования и деградации активных форм кислорода. Увеличение содержания аминокислоты и активности пролиндегидрогеназы на 47,2 % отмечено только при применении смеси

ЭБЛ + СК + МеЖ. В работе [15] показано накопление пролина при заражении риса сферическим тунгровирусом, при этом его содержание увеличивается с развитием заболевания, что согласуется с нашими данными, где в варианте с обработкой смесью ЭБЛ + СК + МеЖ вирусное заражение было максимальным. Полученные результаты доказывают, что при накоплении вируса растения стараются повысить содержание пролина в клетке для формирования защитных реакций.

Для растений картофеля свойственно слабое развитие корневой системы, поэтому представляло интерес изучить продуктивность растений картофеля в условиях вирусного заражения и недостатка влаги. При обработке иммуностимуляторами наблюдали сохранение или увеличение количества мини-клубней, однако их масса снижалась. Максимальный коэффициент размножения и увеличение общей массы полученных мини-клубней зафиксированы при обработке трехкомпонентной смесью иммуностимуляторов – ЭБЛ + СК + МеЖ. Статистически значимое накопление сухого вещества и крахмала в таких же условиях отмечалось в вариантах с ЭБЛ, а увеличение содержания аскорбиновой кислоты в мини-клубнях картофеля – при обработке ЭБЛ + МеЖ.

Заключение. Оценено влияние эписининолида в сочетании с салициловой кислотой и метилжасмонатом на формирование комплексной устойчивости клонально микроразмноженных растений к УВК и недостатку влаги, их физиологическое состояние, функционирование про-антиоксидантной системы (содержание пероксида водорода и продуктов ПОЛ, активность антиоксидантных ферментов, содержание фенольных соединений и пролина), продуктивность и качество мини-клубней картофеля. В условиях совокупно действующих факторов – вирусного заражения и недостаточного почвенного влагообеспечения – только использование эписининолида способствует снижению содержания вирусных частиц, что сопровождается значительным накоплением H_2O_2 в тканях и активизацией адаптивных процессов, включая увеличение содержания фенольных соединений и активности пероксидаз, а также сохранение продуктивности и улучшение качества сформированных мини-клубней картофеля. Вместе с тем при применении трехкомпонентной смеси отмечаются наибольшие масса и количество получаемых мини-клубней, при этом ее защитное действие против вирусной инфекции не проявляется. По сравнению с действием эписининолида на биохимическом уровне зарегистрировано низкое содержание H_2O_2 и фенольных соединений, незначительное накопление ПОЛ и пролина, отсутствие изменений в активности ферментов пероксидаз и увеличение содержания пролиндегидрогеназы.

Таким образом, выявленное положительное влияние эписининолида в условиях комбинированного стресса при подавлении вирусного заражения и сохранении продуктивности подтверждает их взаимный вклад в поддержание баланса между развитием растений и их иммунитетом. Понимание физиолого-биохимических механизмов и специфики интегрирования различных гормональных сигналов под действием иммуностимуляторов при формировании защитного ответа растений к совокупному действию неблагоприятных факторов необходимо для разработки стратегии повышения стресс-толерантности сельскохозяйственных культур.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № B22M-037).

Acknowledgements. This work was financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (project no. B22M-037).

Список использованных источников

1. Combined biotic and abiotic stress resistance in tomato / S. Kissoudis [et al.] // *Euphytica*. – 2015. – Vol. 202. – P. 317–332. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1363-x>
2. Environment and host genotype determine the outcome of a plant-virus interaction: from antagonism to mutualism / J. Hily [et al.] // *New Phytologist*. – 2016. – Vol. 209, N 2. – P. 812–822. <https://doi.org/10.1111/nph.13631>
3. Orchestration of hydrogen peroxide and nitric oxide in brassinosteroid-mediated systemic virus resistance in *Nicotiana benthamiana* / X. G. Deng [et al.] // *Plant J.* – 2016. – Vol. 85, N 4. – P. 478–493. <https://doi.org/10.1111/tbj.13120>
4. Combined seed and foliar pre-treatments with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid mitigate drought-induced stress in maize / N. Tayyab [et al.] // *PLoS ONE*. – 2020. – Vol. 15, N 5. – P. e0232269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232269>
5. Балюк, Н. В. Защитные реакции инфицированных вирусом у растений картофеля при обработке 24-эписининолидом с салициловой кислотой и метилжасмонатом / Н. В. Балюк, Ж. Н. Калацкая, Н. А. Ламан // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 95–103.

6. Interplay between abiotic (drought) and biotic (virus) stresses in tomato plants / R. Mishra [et al.] // *Molec. Plant Pathol.* – 2022. – Vol. 23, N 4. – P. 475–488. <https://doi.org/10.1111/mpp.13172>
7. Yarwood, C. E. Virus susceptibility increased by soaking bean leaves in water / C. E. Yarwood // *Plant Dis. Reporter.* – 1959. – Vol. 43. – P. 841–844.
8. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber / X. J. Xia [et al.] // *Plant Physiol.* – 2009. – Vol. 150, N 2. – P. 801–814. <https://doi.org/10.1104/pp.109.138230>
9. Brassinosteroids suppress rice defense against root-knot nematodes through antagonism with the jasmonate pathway / K. Nahar [et al.] // *Molec. Plant-Microbe Interact.* – 2013. – Vol. 26, N 1. – P. 106–115. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-12-0108-FI>
10. Yusuf, M. Brassinosteroids: Physiological roles and its signalling in plants / M. Yusuf, T. A. Khan, Q. Fariduddin // *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective* / ed.: M. Sarwat [et al.]. – New York, 2017. – Vol. 2. – P. 241–260. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42183-4_10
11. Effects of salicylic acid on yield and quality characters of tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill.) / M. Javaheri [et al.] // *Int. J. Agric. Crop Sci.* – 2012. – Vol. 4, N 16. – P. 1184–1187.
12. Jasmonic acid and methyl jasmonate modulate growth, photosynthetic activity and expression of photosystem II subunit genes in *Brassica oleracea* L / G. Sirhindi [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10, N 1. – P. 9322–1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65309-1>
13. Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and nonenzymatic antioxidant in suspension culture *Panax ginseng* roots in bioreactors / B. M. Ali [et al.] // *Plant Cell Rep.* – 2006. – Vol. 25, N 6. – P. 613–620. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0065-6>
14. Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis* / E. Abraham [et al.] // *Plant Mol. Biol.* – 2003. – Vol. 51. – P. 363–372. <https://doi.org/10.1023/A:1022043000516>
15. Mohanty, S. K. Physiology of rice tungro virus disease: proline accumulation due to infection / S. K. Mohanty, R. Sridhar // *Phys. Plantarum.* – 1982. – Vol. 56, N 1. – P. 89–93. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1982.tb04904.x>

References

1. Kissoudis C., Chowdhury R., van Heusden S., van de Wiel C., Finkers R., Visser R. G., Bai Y., van der Linden G. Combined biotic and abiotic stress resistance in tomato. *Euphytica*, 2015, vol. 202, pp. 317–332. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1363-x>
2. Hily J.-M., Poulicard N., Mora M.-Á., Pagán I., García-Arenal F. Environment and host genotype determine the outcome of a plant-virus interaction: from antagonism to mutualism. *New Phytologist*, 2016, vol. 209, no. 2, pp. 812–822. <https://doi.org/10.1111/nph.13631>
3. Deng X. G., Zhu T., Zou L. J., Han X. Y., Zhou X., Xi D. H., Zhang D. W., Lin H. H. Orchestration of hydrogen peroxide and nitric oxide in brassinosteroid-mediated systemic virus resistance in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Journal*, 2016, vol. 85, no. 4, pp. 478–493. <https://doi.org/10.1111/tpj.13120>
4. Tayyab N., Naz R., Yasmin H., Nosheen A., Keyani R., Sajjad M., Hassan M. N., Roberts T. H. Combined seed and foliar pre-treatments with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid mitigate drought-induced stress in maize. *PLoS ONE*, 2020, vol. 15, no. 5, p. e0232269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232269>
5. Balyuk N. V., Kalatskaya Zh. N., Laman N. A. Protective reactions of potato plants infected with Y virus when treated with 24-epibrassinolide with salicylic acid and methyl jasmonate. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 2, pp. 95–103 (in Russian).
6. Mishra R., Shteinberg M., Shkolnik D., Anfoka G., Czosnek H., Gorovits R. Interplay between abiotic (drought) and biotic (virus) stresses in tomato plants. *Molecular Plant Pathology*, 2022, vol. 23, no. 4, pp. 475–488. <https://doi.org/10.1111/mpp.13172>
7. Yarwood C. E. Virus susceptibility increased by soaking bean leaves in water. *Plant Disease Reporter*, 1959, vol. 43, pp. 841–844.
8. Xia X. J., Wang Y. J., Zhou Y. H., Tao Y., Mao W. H., Shi K., Asami T., Chen Z., Yu J. Q. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiology*, 2009, vol. 150, no. 2, pp. 801–814. <https://doi.org/10.1104/pp.109.138230>
9. Nahar K., Kyndt T., Hause B., Höfte M., Gheysen, G. Brassinosteroids suppress rice defense against root-knot nematodes through antagonism with the jasmonate pathway. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2013, vol. 26, no. 1, pp. 106–115. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-12-0108-FI>
10. Yusuf M., Khan T. A., Fariduddin Q. Brassinosteroids: Physiological roles and its signalling in plants. *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective. Vol. 2*. New York, 2017, pp. 241–260. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42183-4_10
11. Javaheri M., Mashayekhi K., Dadkhah A., Tavallae F. Z. Effects of salicylic acid on yield and quality characters of tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 2012, vol. 4, no. 16, pp. 1184–1187.
12. Sirhindi G., Mushtaq R., Gill S. S., Sharma P., Abd Allah E. F., Ahmad P. Jasmonic acid and methyl jasmonate modulate growth, photosynthetic activity and expression of photosystem II subunit genes in *Brassica oleracea* L. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, no. 1, pp. 9322–1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65309-1>

13. Ali M. B., Yu K. W., Hahn E. J., Paek K. Y. Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and nonenzymatic antioxidant in suspension culture *Panax ginseng* roots in bioreactors. *Plant Cell Reports*, 2006, vol. 25, no. 6, pp. 613–620. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0065-6>

14. Abrahám E., Rigó G., Székely G., Nagy R., Koncz C., Szabados L. Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 2003, vol. 51, pp. 363–372. <https://doi.org/10.1023/A:1022043000516>

15. Mohanty S. K., Sridhar R. Physiology of rice tungro virus disease: proline accumulation due to infection. *Physiologia Plantarum*, 1982, vol. 56, no. 1, pp. 89–93. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1982.tb04904.x>

Информация об авторах

Балюк Наталья Валерьевна – канд. биол. наук. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: balyuck.natalya@yandex.ru

Ламан Николай Афанасьевич – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-1067-4936>. E-mail: laman.nikolai@gmail.com

Калацкая Жанна Николаевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-6395-0757>. E-mail: kalatskayaj@mail.ru

Information about the authors

Natallia V. Balyuk – Ph. D. (Biol.). V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: balyuck.natalya@yandex.ru

Nikolai A. Laman – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-1067-4936>. E-mail: laman.nikolai@gmail.com

Joanna N. Kalatskaja – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-6395-0757>. E-mail: kalatskayaj@mail.ru