

**К.М. Кулдошова**

**А.А. Ахунов, доктор биологических наук, профессор**

**Н.Р. Хашимова, доктор биологических наук**

**Д.Т. Бабаева, кандидат биологических наук**

**М.И. Нурматова**

*Институт биоорганической химии имени академика А.С. Садыкова АН РУз*

*100125, Республика Узбекистан, г. Ташкент, просп. Мирзо Улугбека, 83*

E-mail: zarabarlos90@bk.ru

УДК 577.124.5:633.511

DOI:10.30850/vrsn/2021/5/57-60

## **ВЛИЯНИЕ АБК И ИУК НА СОДЕРЖАНИЕ РЕДУЦИРУЮЩИХ САХАРОВ И ЭНДОГЕННЫХ ФИТОГОРМОНОВ В ХЛОПЧАТНИКЕ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ**

*В статье приведены результаты исследования влияния экзогенных фитогормонов АБК и ИУК на содержание редуцирующих сахаров и эндогенных фитогормонов в проростках хлопчатника сортов Порлок-4 и Равнак-1. Экзогенные фитогормоны (АБК и ИУК) способны заметно изменять уровень устойчивости хлопчатника к неблагоприятным факторам среды. Действие АБК повышает устойчивость хлопчатника к засолению. Биотехнологический сорт Равнак-1 проявил чувствительность к длительному воздействию засоления. В комплексе с фитогормонами в растениях увеличивается содержание редуцирующих сахаров и эндогенных фитогормонов в зависимости от продолжительности солевого стресса. У сорта Порлок-4 под воздействием засоления содержание редуцирующих сахаров и эндогенных фитогормонов повышалось незначительно, в силу заложенной способности сорта к адаптации. Проведенные исследования позволяют заключить, что фитогормоны активно вовлекаются в процессы формирования устойчивости хлопчатника к действию неблагоприятных факторов среды абиотической природы.*

**Ключевые слова:** хлопчатник, засоление, редуцирующие сахара, фитогормоны, абсцизовая кислота, индолуксусная кислота.

**K.M. Kuldoshova**

**A.A. Akhunov, Grand PhD in Biological sciences, Professor**

**N.R. Khashimova, Grand PhD in Biological sciences**

**D.T. Babaeva, PhD in Biological sciences**

**M.I. Nurmatova**

*A.S. Sadykov Institute of Bioorganic chemistry*

*100125, Republica Uzbekistan, g. Tashkent, prosp. Mirzo Ulugbeka, 83*

E-mail: zarabarlos90@bk.ru

## **THE EFFECT OF ABA AND IAA PHYTOHORMONES ON THE REDUCING SUGARS AND ENDOGENOUS PHYTOHORMONES CONTENT OF COTTON PLANT UNDER SALIFICATION**

*This article investigates the effect of exogenous phytohormones ABA and IAA on the content of reducing sugars and endogenous phytohormones in cotton seedlings of varieties Porlok-4, obtained on the basis of gene knockout technology and a marker of associated breeding – Ravnak-1. Exogenous phytohormones (ABA and IAA) can significantly change the level of cotton resistance to unfavorable environmental factors. Under the action of exogenous ABA causes an increase of cotton resistance to salinity. Biotechnological cotton variety Ravnak-1 showed sensitivity to prolonged exposure to salinity in combination with phytohormones, increasing the content of reducing sugars and endogenous phytohormones, depending on the duration of salt stress. In the Porlok-4 variety, under the influence of salinity, the content of reducing sugars and endogenous phytohormones had an insignificant increase, due to the inherent adaptive capacity of the variety. The conducted studies allow us to conclude that phytohormones are actively involved in the formation of cotton resistance to the action of unfavorable environmental factors of an abiotic nature.*

**Key words:** cotton, salinization, reducing sugars, phytohormones, abscisic acid, indoleacetic acid.

Фитогормоны – важные компоненты регуляторной системы хлопчатника. Они играют ключевую роль не только в ростовых и морфогенетических процессах, но и адаптивных реакциях, связанных с влиянием неблагоприятных факторов. Стрессовые гормоны могут регулировать ответ растительных клеток на широкий спектр негативных воздействий. [5] Эндогенные сигнальные молекулы абсцизовой кислоты (АБК) помогают растениям выживать в неблагоприятных условиях окружающей среды, таких как солевой стресс и засуха. [11] АБК способствует биосинтезу сахаров в растениях при абиотическом стрессе и повышению их устойчивости к аномальным условиям роста. [9] Уровни глюкозы и фруктозы повышаются при дефиците воды, что сопровождается повышенной активностью вакуолярной инвертазы, а экспрессия гена фермента инвертазы (IVR2) усиливается при участии АБК. [13] Фарук и Бано отмечают, что АБК регулирует накопление растворимых сахаров, модулируя активность фермента амилазы в условиях стресса. [7]

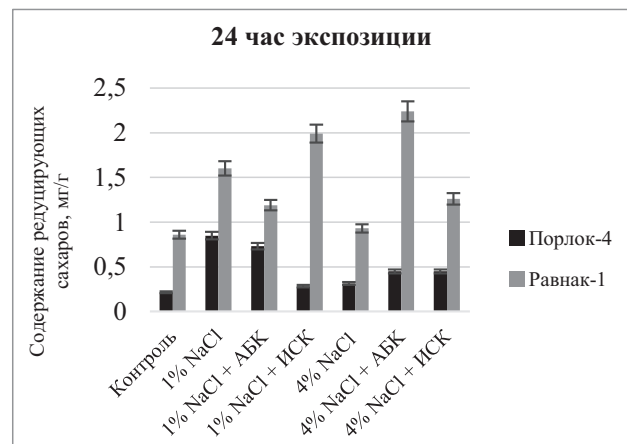
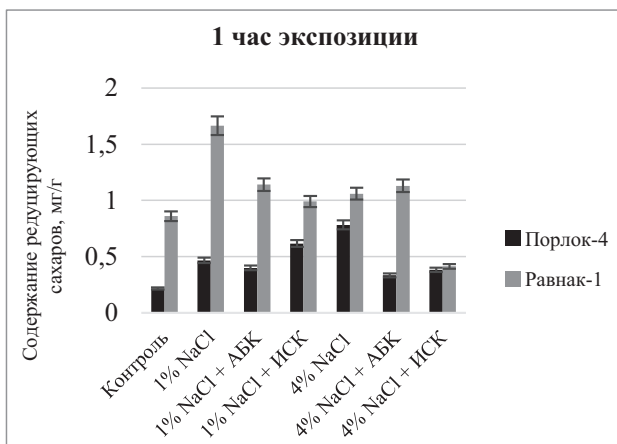
Индолилуксусная кислота (ИУК) влияет на рост и развитие растений, способствует формированию сосудистой ткани, удлинению клеток, органогенезу и апикальному доминированию из-за максимального накопления ауксина. [10] Информации об участии ИУК в механизме регуляции при солевом стрессе у растений недостаточно.

Важная адаптивная реакция растений при засолении – накопление неорганических и органических осмолитов, способствующих поддержанию тургора, предотвращающих инактивацию ферментов и повреждение клеточных мембран и органелл. [4, 8]

Углеводы служат основным дыхательным субстратом, формой запасаания и транспорта углерода, обуславливают устойчивость растений к неблагоприятным условиям.

Редуцирующие сахара предотвращают повреждение, которые могут быть вызваны засухой и действием солей. Увеличивая стабильность мембраны, РНК, ДНК, рибосом, они функционируют в качестве сигнальных молекул, контролируя метаболизм, рост, развитие и устойчивость растений. [12]

Цель работы – выявление роли фитогормонов в ответных реакциях различных сортов хлопчатника на начальных этапах действия засоления.



Содержание редуцирующих сахаров в семисуточных проростках хлопчатника *Порлок-4* и *Равнак-1* при комплексном воздействии фитогормонов и солевого стресса.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – биотехнологические сорта хлопчатника, выведенные методами – геннакаут (*Порлок-4*) и МАС (маркер ассоциированная селекция) *Равнак-1*.

Семена хлопчатника, предоставленные Центром геномики и биоинформатики Академии Наук Республики Узбекистан, обрабатывали концентрированной серной кислотой, промывали под струей холодной воды, затем заворачивали в бумажные рулоны, помещали в сосуды с водой и проращивали в течение семи суток. Проростки помещали отдельно в растворы АБК, ИУК концентрацией  $10^{-7}$  М. Солевой стресс имитировали 1%-м раствором NaCl (172 мМ), 4%-м (688 мМ) совместно с фитогормонами. Экспозиция – 1 ч и 24 ч. Контрольные проростки помещали в воду.

Содержание редуцирующих сахаров определяли методом Шомоди-Нельсона [1]. АБК и ИУК из проростков выделяли по схеме: разрушение клеточных стенок жидким азотом → экстракция метанолом → очистка полученного экстракта от сопутствующих соединений → выпаривание под вакуумом (40°C) до водного остатка, который подкисляли  $2\text{H}_2\text{SO}_4$ , pH – 3...3,5 → фиксирование экстракта серным эфиром – четырехкратно → упаривание объединенных полученных эфирных фракций под вакуумом (30°C) досуха.

Количественный анализ фитогормонов АБК и ИУК проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в Agilent technologies 1200. Колонку 250 x 4,6 мм сильного анионита (сферические частицы 5 мкм от Adsorbosphere SAX, Alltech Associates) использовали для следующего этапа очистки. Образцы (35 %) растворяли в ацетонитриле, 65 % – в 0,1%-й фосфорной кислоте. Детектор УФ-поглощения с фиксированной длиной волны модели 440 Waters (254 нм) для обнаружения АБК и ИУК был соединен последовательно.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Фитогормоны АБК и ИУК способствовали накоплению редуцирующих сахаров в сортах хлопчатника *Порлок-4* и *Равнак-1* при продолжительном воздействии солевого стресса (см. рисунок). У *Пор-*

**Влияние экзогенных фитогормонов на содержание эндогенных в семисуточных проростках хлопчатника сортов Порлок-4 и Равнак-1 при засолении**

| Вариант опыта   | Порлок-4      |               | Равнак-1      |               |
|-----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                 | 1 ч           | 24 ч          | 1 ч           | 24 ч          |
| Контроль        | 0,2133        | 0,2892        | 0,9456        | 1,0065        |
|                 | 0,2023        | 0,2920        | 0,4768        | 0,4361        |
| 1%-й NaCl       | 0,2324        | <b>0,6227</b> | <b>1,8449</b> | 0,5507        |
|                 | 0,1952        | <b>0,5503</b> | <b>0,6109</b> | 0,3180        |
| 1%-й NaCl + АБК | <b>0,3707</b> | 0,3752        | 0,6773        | 0,7240        |
|                 | 0,2590        | 0,1999        | 0,2363        | 0,2250        |
| 1%-й NaCl + ИУК | 0,215         | 0,3500        | 0,5147        | <b>1,5952</b> |
|                 | 0,1750        | 0,200         | 0,2299        | 0,5306        |
| 4%-й NaCl       | <b>0,4118</b> | 0,3713        | 0,6971        | <b>1,3218</b> |
|                 | <b>0,300</b>  | 0,2094        | 0,1997        | 0,5084        |
| 4%-й NaCl + АБК | 0,3072        | <b>0,5322</b> | 0,900         | 1,0131        |
|                 | 0,2330        | 0,1361        | 0,255         | 0,3558        |
| 4%-й NaCl + ИУК | 0,1780        | 0,225         | <b>1,0024</b> | 1,5046        |
|                 | 0,1550        | 0,1100        | 0,3062        | 0,8660        |

Примечание. Верхняя строка – содержание АБК, нижняя – ИУК, мкг/г сырой массы.

лок-4 через час воздействия 4%-м NaCl их количество было в 3,6 раза больше, 1%-м NaCl совместно с ИУК – в 2,8 раза по сравнению с контролем. На 24 ч экспозиции в вариантах с 1%-м NaCl и 1%-м NaCl+АБК содержание редуцирующих сахаров возросло в 3,9 и 3,4 раза соответственно.

У сорта Равнак-1 через час воздействия 1%-м NaCl и 1%-м NaCl+АБК значения содержания сахаров превышали контроль в 1,9 и 1,3 раза соответственно, 24 ч (1%-й NaCl+ИУК и 4%-й NaCl+АБК) – 2,6 и 2,3 раза соответственно.

Накопившиеся в цитоплазме органические соединения, например, растворимые углеводы и пролин, в отличие от одновалентных ионов, не оказывая отрицательного действия на мембраны и ферменты, уравновешивают осмотический потенциал в вакуолях растений. [2]

Определили влияние АБК и ИУК на содержание эндогенных фитогормонов в условиях засоления (см. таблицу).

Формирование устойчивости растений к действию стресс-факторов представляет собой сложный, многокомпонентный процесс, включающий в себя как специфические, так и общие реакции. К числу последних относят, в частности, изменение количества отдельных фитогормонов и их баланса. Чаще всего под влиянием стрессоров в тканях растений снижается содержание гормонов, стимулирующих рост и развитие (ауксины, гиббереллины, цитокинины) и повышается концентрация гормонов – ингибиторов роста (АБК, этилен, жасмоновая кислота). [6]

У сорта Порлок-4 самое высокое содержание фитогормона АБК после часа экспозиции наблюдали при действии 1%-м NaCl + АБК и 4%-м NaCl, превышающее значение контроля в 1,7 и 1,9 раза соответственно, через 24 ч (1%-й NaCl и 4%-й NaCl + АБК) – в 2,2 и 1,8 раза соответственно.

Максимальное количество фитогормона ИУК выявлено после часа воздействия стресса (4%-й NaCl) у сорта Порлок-4, превысившее в 1,5 раза контроль, через 24 ч (1%-й NaCl) – 1,9 раза.

У хлопчатника сорта Равнак-1 максимальное содержание АБК после часа стресса обнаружено при действии 1%-м NaCl и 4%-м NaCl + ИУК, которое превышало значение контроля в 1,9 и 1,0 раза, после 24 ч (1%-й NaCl + ИУК, 4%-й NaCl и 4%-й NaCl + ИУК) – в 1,6, 1,3 и 1,5 раза соответственно.

Количество ИУК через час опыта (1%-й NaCl) увеличилось в 1,3 раза по сравнению с контролем, 24 ч (4%-й NaCl + ИУК) – 1,9 раза.

В растениях при действии дефицита влаги, засоления, низких и высоких температур, тяжелых металлов повышается содержание эндогенной АБК. Установлена связь между ее количеством и формированием устойчивости растений к стрессорам. [3]

Накопление фитогормонов в проростках хлопчатника при засолении было временным. Повидимому, АБК способна влиять на экспрессию генетических программ в клетках и индуцировать деятельность генов, контролирующих синтез белков, имеющих значение для формирования устойчивости. Изменение баланса фитогормонов в сторону снижения уровня стимуляторов (ИУК) и накопления ингибиторов (АБК) в более поздние периоды адаптации также имеет важное значение, поскольку приводит к торможению ростовых процессов, в результате чего энергетические и пластические ресурсы не тратятся на рост, а направляются на поддержание структур клетки в неблагоприятных условиях. [5]

Таким образом, сорт хлопчатника Равнак-1 чувствителен к засолению. В комплексе с фитогормонами в растениях увеличивается содержание редуцирующих сахаров и эндогенных фитогормонов в зависимости от продолжительности солевого стресса.

Сорт Порлок-4 – солеустойчивый. Под воздействием засоления содержание редуцирующих сахаров и эндогенных фитогормонов в растениях повышалось незначительно из-за заложенной способности сорта к адаптации.

**СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

1. Варфоломеева, С.Д. Методы изучения и свойства целлюлолитических ферментов. Итоги науки и техники, серия биотехнология. – М., 1990. – Т. 25. – 150 с.
2. Кафи, М. Содержание углеводов и пролина в листьях, корнях и апексах сортов пшеницы, устойчивых и чувствительных к засолению / М. Кафи, В.С. Стюарт, А.М. Борланд. // Физиология растений. – 2003. – Т. 50. – С. 174–182, 321–336.
3. Колупаев, Ю.Е. Активные формы кислорода, антиоксиданты и устойчивость растений к действию стрессоров / Ю.Е. Колупаев, Ю.В. Карпец. – Киев: Логос, 2019. – 277 с.
4. Кузнецов, В.В. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / В.В. Кузнецов, Н.И. Шевакова. // Физиология растений. – 1999. – Т. 46. – С. 321–336.
5. Таланова, В.В. Фитогормоны как регуляторы устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды: автореф. дис.... д. б. н. – Петрозаводск, 2009. – 44 с.
6. Титов, А.Ф. Устойчивость растений и фитогормоны / А.Ф. Титов, В.В. Таланова. – Петрозаводск, 2009. – 206 с.
7. Farooq, U. Effect of abscisic acid and chlorocholine chloride on nodulation and biochemical content of Vigna radiate L. under water stress / U. Farooq, A. Bano. // Pak. J. Bot. – 2006. – № 38. – P. 1511–1518.

8. Hare, P.D. Dissecting the role of osmolyte accumulation during stress / P.D. Hare, W.A. Cress, van Staden. // *J. Plant Cell Environ.* – 1998. – V. 21. – P. 535–553.
9. Karimi, R. Role of exogenous abscisic acid in adapting of ‘Sultana’grapevine to low-temperature stress / R. Karimi, A. Ershadi. // *Acta Physiol. Plant.* – 2015. – № 37. – P. 151.
10. Lau, S. The evolving complexity of the auxin pathway / S. Lau, G. Jurgens, I. De Smet. // *Plant Cell.* – 2008. – V. 20. – P. 1738–1746.
11. Raghavendra, A.S. ABA perception and signalling / A.S. Raghavendra, V.K. Gonugunta, A. Christmann, E. Grill. // *Trends Plant Sci.* – 2010. – V. 15. – P. 395–401.
12. Rolland, F. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms / F. Rolland, B. Gonzelez, J. Sheen. // *Ann. Rev. Plant Biol.* – 2006. – V. 57. – P. 675–709.
13. Trouverie, J. Regulation of vacuolar invertase by abscisic acid or glucose in leaves and roots from maize plantlets / J. Trouverie, S. Chateau-Joubert, C. Thevenot et al. // *Planta.* – 2004. – V. 219. – P. 894–905.
4. Kuznetsov, V.V. Prolin pri stresse: biologicheskaya rol', metabolism, regulyatsiya / V.V. Kuznetsov, N.I. Shevyakova. // *Fiziologiya rasteniya.* – 1999. – T. 46. – S. 321–336.
5. Talanova, V.V. Fitogormony kak regulatory ustoychivosti rastenij k neblagopriyatnym faktoram sredy: avtoref. dis.... d.b.n. – Petrozavodsk, 2009. – 44 s.
6. Titov, A.F. Ustoychivost' rastenij i fitogormony / A.F. Titov, V.V. Talanova. – Petrozavodsk, 2009. – 206 s.
7. Farooq, U. Effect of abscisic acid and chlorocholine chloride on nodulation and biochemical content of *Vigna radiata* L. under water stress / U. Farooq, A. Bano. // *Pak. J. Bot.* – 2006. – № 38. – P. 1511–1518.
8. Hare, P.D. Dissecting the role of osmolyte accumulation during stress / P.D. Hare, W.A. Cress, van Staden. // *J. Plant Cell Environ.* – 1998. – V. 21. – P. 535–553.
9. Karimi, R. Role of exogenous abscisic acid in adapting of ‘Sultana’grapevine to low-temperature stress / R. Karimi, A. Ershadi. // *Acta Physiol. Plant.* – 2015. – № 37. – P. 151.
10. Lau, S. The evolving complexity of the auxin pathway / S. Lau, G. Jurgens, I. De Smet. // *Plant Cell.* – 2008. – V. 20. – P. 1738–1746.
11. Raghavendra, A.S. ABA perception and signalling / A.S. Raghavendra, V.K. Gonugunta, A. Christmann, E. Grill. // *Trends Plant Sci.* – 2010. – V. 15. – P. 395–401.
12. Rolland, F. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms / F. Rolland, B. Gonzelez, J. Sheen. // *Ann. Rev. Plant Biol.* – 2006. – V. 57. – P. 675–709.
13. Trouverie, J. Regulation of vacuolar invertase by abscisic acid or glucose in leaves and roots from maize plantlets / J. Trouverie, S. Chateau-Joubert, C. Thevenot et al. // *Planta.* – 2004. – V. 219. – P. 894–905.

#### LIST OF SOURCES

1. Varfolomeeva, S.D. Metody izucheniya i svoystva cellyulozoliticheskix fermentov. Itogi nauki i tekhniki, seriya biotexnologiya. – M., 1990. – T. 25. – 150 s.
2. Kafi, M. Soderzhaniy uglevodov i prolina v listyax, kornyax i apeksax sortov pshenitsy, ustoychivyykh b chuvstvitel'nykh k zasoleniyu / M. Kafi, V.S. Styuart, A.M. Borland. // *Fiziologiya rasteniya.* – 2003. – T. 50. – S. 174–182.
3. Kolupayev, Yu.E. Aktivniye formy kisloroda, antioksidany i ustoychivost' rasteniy k deystviyu stressorov / Yu.E. Kolupayev, Yu.V. Karpets. – Kiev: Logos. – 2019. – 277 s.