

# BRASSINOSTEROIDS AND WATER STRESS

## BRASSINOSTEROIDY A VODNÍ STRES

**Vlašánková E.\*, Kohout L.\*\*\*, Klemš M.\*, Hradilík J.\***

\*Ústav botaniky a fyziologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika.

\*\*Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha, Česká republika.

E-mail: eva.vlasankova@seznam.cz

### ABSTRACT

In our experiments the plants of rape (*Brassica napus* L.) were used. The plants were exposed to drought and flooding stresses. These plants were treated with new synthetic brassinosteroid analogues and their influence on the suppression of water stress was studied. The first variant was treated with brassinosteroids before the beginning of stress as foliar sprays, the second variant was sprayed after the beginning of stress. The influence of stress in all variants was determined by means of dry weight changes, ethylene production and fluctuation of abscisic acid content.

### ABSTRAKT

Pro pokusy byla zvolena jako modelová rostlina řepka ozimá (*Brassica napus* L.). Rostliny vystavené stresu sucha a zamokření substrátu byly ošetřeny novými syntetickými brassinosteroidy a byl sledován vliv látek na potlačení stresu. První skupina rostlin byla ošetřena před počátkem stresu, druhá v průběhu stresu. Vliv stresu na rostliny byl sledován změnou sušiny, produkcí etylénu a hladinou kyseliny abscisové.

**Klíčová slova:** Brassinosteroidy, 24-epibrassinolid, stres suchem, zamokření substrátu, řepka ozimá (*Brassica napus* L.)

### ÚVOD

Objev brassinosteroidů (BRs) před dvaceti lety otevřel novou éru studia bioregulace v živých organismech (Khripach et al., 2000). Brassinolid byl jako první steroid s regulačním účinkem u rostlin objeven v pylu řepky (*Brassica napus* L.) v roce 1979 (Grove et al., 1979). Od té doby bylo objeveno více než 40 přirozených BR u různých rostlinných druhů (Ramírez et al., 2000). Výsledky studií izolace a identifikace rostlinného chování ukazují na účast BR skoro v každém pletivu nebo orgánu, jako v pylu, semenech, květech, plodech, ve výhonech a listech, přítomnost BRs v kořenech nebyla ještě zcela prokázána (Sakurai & Fujioka, 1993). BRs jsou účinné již ve velmi malých koncentracích, 24-EPI podporuje prodlužovací růst rostlin při aplikaci 0,001-0,1 ppm (Takemasu, Takeuchi, 1989). Bylo popsáno (Khripach et al., 1999), že

24-epibrassinolid (24-EPI) při aplikaci postřikem na vyvinuté rostliny zvyšuje kořenovou aktivitu, růst rostlin a nárůst sušiny kořenů a výhonů při vodním stresu.

Jednou z první reakcí rostliny na stres, je produkce etylenu (Procházka, Šebánek et al., 1997). Syntéza etylénu se zvyšuje různorodě dle stresu. Produkce etylénu rostlinou je přesně regulována a liší se jak u jednotlivých orgánů tak u jednotlivých rostlinných druhů (Varvara, Bernard 2001).

Nedostatek vody vyvolává také velmi rychlý nárůst obsahu volné kyseliny abscisové (ABA) v listech i v kořenech. ABA vyvolá zvýšení hydraulické vodivosti kořenů pro snadnější příjem vody rostlinou a zároveň způsobí uzavření průduchů pro omezení ztrát vody výparem (Procházka, Šebánek et al., 1997).

## **METODIKA**

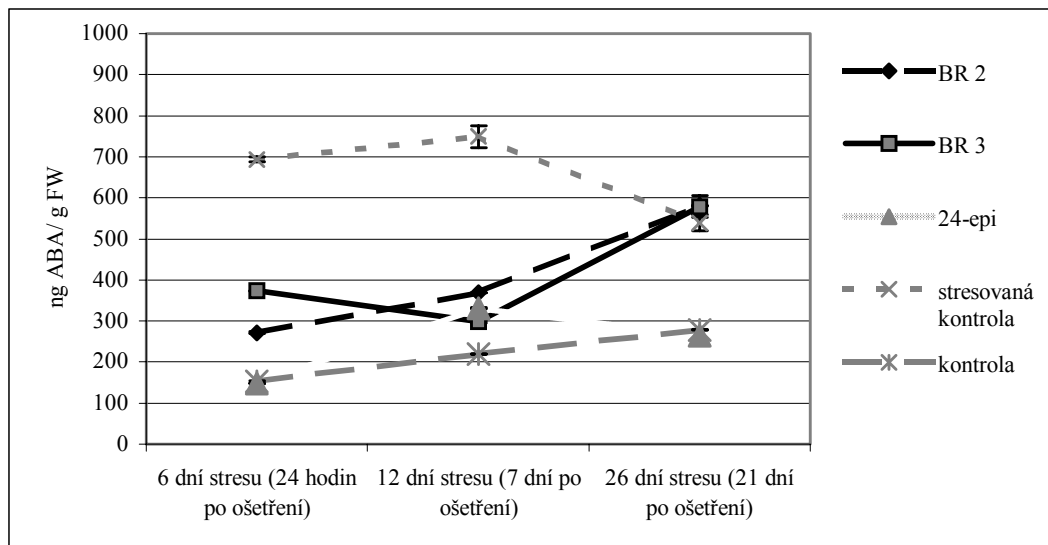
Rostliny řepky ozimé (odrůda Orkan) byly pěstovány ve skleníku při teplotě  $22\pm 4^{\circ}\text{C}$  a 12 hodinové světelné periodě. Rostliny byly ošetřeny brassinosteroidy (4 varianty) a byl sledován vliv látek na produkci etylénu a kyseliny abscisové při vodním stresu. Sledované rostliny byly vystaveny dvěma variantám stresu – sucho a zamokření substrátu, a dvěma termínům ošetření. První varianta aplikace látek byla 7 dní před počátkem stresu, postřikem na list. Druhá aplikace látek proběhla 5 dní po počátku stresu. Jako kontrolní varianty byly zvoleny: nestresovaná kontrola, ošetření rostlin BRs bez stresu, stresované rostliny bez ošetření, stresované rostliny ošetřené 24-EPI.

Pro sledování produkce etylénu byly rostliny v květináčích umístěny do 5-litrových lahví a uzavřeny na 3 hodiny, po té byl odebrán 1 ml vzduchu z lahve a změřen na plynovém chromatografu (Fisons 8000) (Fišerová, Hradilík, 1996). Produkce etylénu byla sledována po dobu tří týdnů ve dvoudenních intervalech.

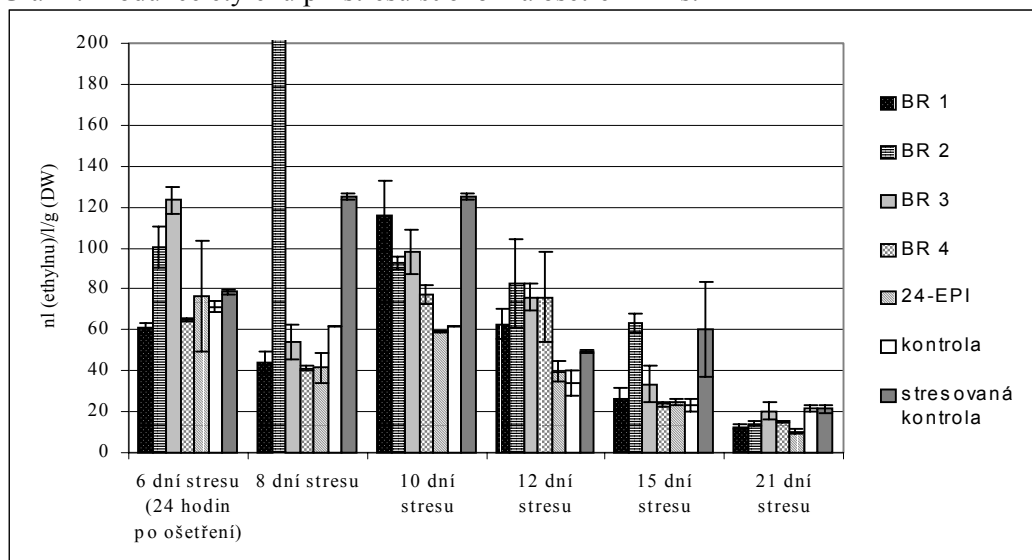
Obsah kyseliny abscisové (ABA) byl stanoven po vodné extrakci vzorků vysoce citlivou kvantitativní (detekční limit v pg) metodou RIA (radioimunoanalytické stanovení). Tato imunochemická metoda stanovení ABA, využívá schopnosti rozpoznání molekuly ABA monoklonální protilátkou MAC 252 (Quarrie et al. 1988) s velmi vysokou specificitou. Měření bylo prováděno na scintilačním spektrofotometru Packard 2000 CA.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

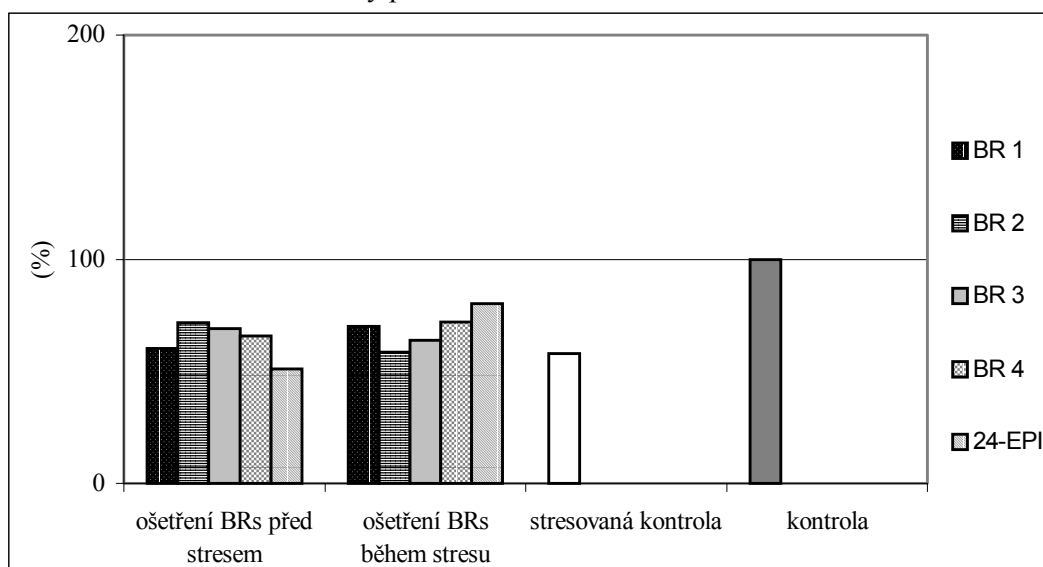
Graf 1: Obsah ABA v listech u stresu **suchem** a ošetření BRs.



Graf 2: Produkce etylénu při stresu **suchem** a ošetření BRs.

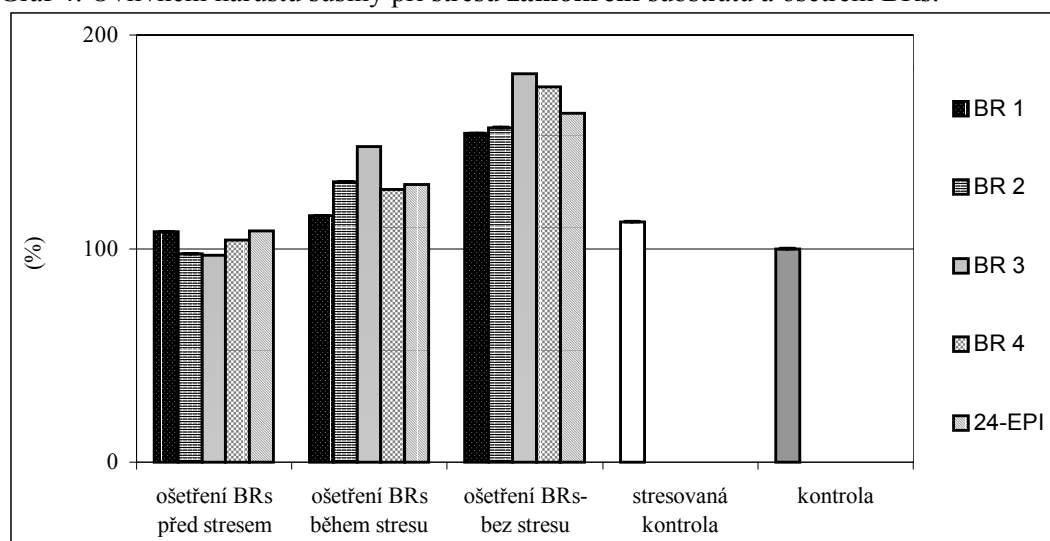


Graf 3: Ovlivnění nárůstu sušiny při stresu **suchem** a ošetření BRs.

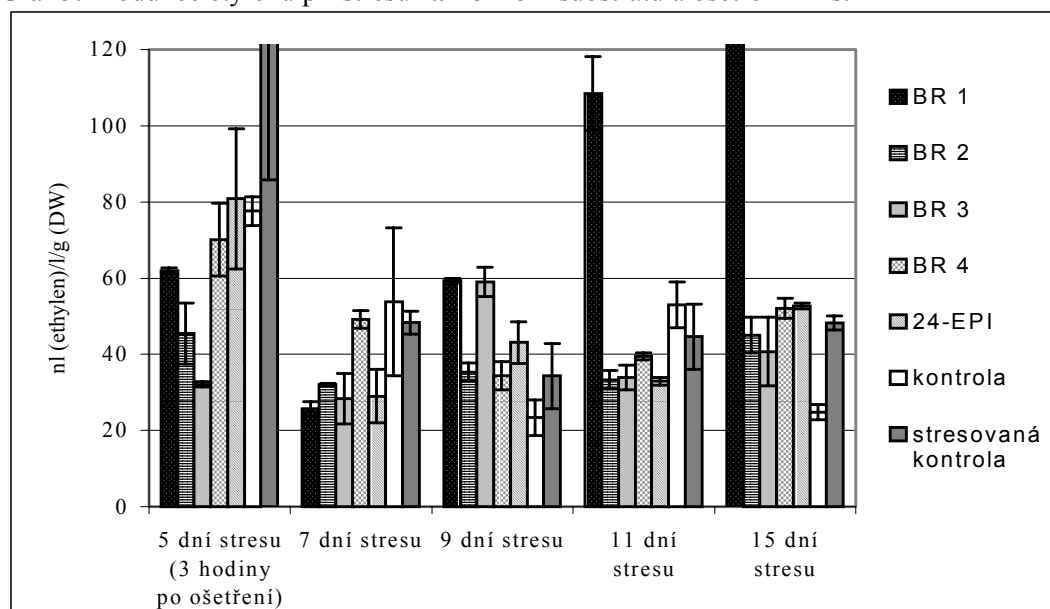


BRs snižují hladinu ABA a produkci etylénu u rostlin stresovaných suchem a při aplikaci 5 dní po počátku stresu (graf 1 a 2). Výrazné snížení hladiny ABA bylo zaznamenáno již po 24 hodinách po aplikaci BRs, u etylénu bylo snížení jeho produkce pozorováno až po 48 hodinách. Tento efekt byl pozorován ještě 7 dní po aplikaci a po 2-3 týdnech vymizel. Efekt ošetření rostlin BRs během stresu suchem byl výraznější než ošetření před počátkem stresu (data neuvedena). Aplikace BRs jak před, tak během působením stresu mírně zvyšovala akumulaci sušiny.

Graf 4: Ovlivnění nárůstu sušiny při stresu **zamokření** substrátu a ošetření BRs.



Graf 5: Produkce etylénu při stresu **zamokření** substrátu a ošetření BRs.



Produkce etylénu během stresu zamokřením substrátu u rostlin ošetřených před počátkem stresu nebyla ovlivněna. Při ošetření během stresu se produkce etylénu snížila oproti kontrole na 48 hodin po aplikaci (graf 5). Nárůst sušiny u ošetřených a nestresovaných rostlin byl u všech preparátů výrazný oproti kontrole. Nárůst sušiny při stresu přemokřením byl významně zvyšován při aplikaci látek 5 dní po počátku stresu (graf 4).

Brassinosteroidy jsou v literatuře často uváděny jako látky, které zvyšují toleranci k různým typům stresu, jako jsou vysoké a nízké teploty, stres zasolením a také stres suchem (Sasse et. al, 1997). Vliv aplikace exogenních BRs na endogenní hladiny ABA je velmi různorodý a na jedné straně po aplikaci 24-EPI dochází ke zvýšení hladiny ABA v rostlinách bavlníku (*Gossypium hirsutum* L.) a ABA v hypokotylech okurku (Khripach et. al, 1999). Na druhé straně bylo popsáno snížení hladiny ABA po aplikaci 24-EPI v etiolovaných hypokotylech tykve a zároveň nebyla příliš ovlivněna produkce etylénu (Eun et. al, 1989). Většina prací však uvádí stimulaci syntézy etylénu aplikací BRs (Sakurai & Fujioka, 1993), např. u etiolovaných rostlin bobu (*Vigna radiata* L.) cv. Berken (Arteca et al. 1985).

## ZÁVĚR

Z výsledků dosavadních experimentů vlivu 24-epibrassinolidu a nových syntetických brassinosteroidů na překonání stresu u rostlin řepky ozimé, způsobeného suchem nebo přemokřením substrátu je zřejmé, že všechny použité látky mají pozitivní vliv na akumulaci sušiny, snižují po určité době po aplikaci produkci etylénu a také endogenní hladinu abscisové kyseliny. Pozorované změny hladin ABA a etylénu jsou v souladu s předpokladem, že méně stresované rostliny mají nižší endogenní obsah ABA a uvolňují méně etylénu.

## PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR - FRVŠ 1190.

## POUŽITÁ LITERATURA

- Arteca R.N., Bachman J.M., Yopp J.H., Mandava N.B. (1985). *Physiol. Plant.* 64, 13-16.
- Eun J.S., Kuraishi S., Sakurai N. (1989). *Plant Cell Physiol.* 30, 807-810.
- Fišerová H., Hradilík J. (1996). *Rostlinná výroba* 42, 517-521.
- Grove M.D., Spencer G.F., Rohwedder W.K., et al. (1979). *Nature* 281, 216–217.
- Khripach V.A., Zhabinskii V.N., De Groot A.E. (2000). *Annals of Botany* 86, 441-447.
- Khripach V.A., Zhabinskii V.N., De Groot A.E. (1999). *Brassinosteroids - A New Class of Plants Hormones*. pp. 237-240.
- Procházka S., Šebánek J., et al. (1997). *Regulátory rostlinného růstu*. pp. 96-99, 350-353.
- Quarrie, S.A. et al. (1988). *Planta* 183, 330 – 339.
- Ramírez J.A., Teme Centurión O.M., Gros E.G., Galagovsky L.R. (2000). *Steroids* 65, 329-337.
- Sakurai A., Fujioka S. (1993). *Plant Growth Regulation* 13, 147-159.
- Sasse J.M. (1997). *Physiol. Plant.* 100, 696-701.
- Varvara P.G, Bernard R.G. (2001). *Plant Physiol. Biochem.* 39, 1-9.