



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ПРОТЕОМ ПРОРОСТКОВ РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ОБЕЗВОЖИВАНИЯ

**Авальбаев А.М., Аллагулова Ч.Р.,
Федорова К.А., Юлдашев Р.А., Шакирова Ф.М.**

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального
исследовательского центра РАН, г. Уфа, Россия
E-mail: avalbaev@yahoo.com

Данная работа посвящена изучению влияния 24-эпибрасинолида (ЭБ) на протеомные перестройки в растениях пшеницы (*Triticum aestivum* L.) двух различающихся по засухоустойчивости сортов, Омская 35 (О-35, устойчивый сорт) и Салават Юлаев (СЮ, восприимчивый сорт), в условиях дефицита влаги. С помощью метода двумерного электрофореза было выявлено, что воздействие обезвоживания привело к снижению содержания большинства полипептидов, в частности, белков, участвующих в процессах фотосинтеза, роста и энергетического обмена растений. Интересно, что стресс-индуцированные изменения в протеоме были более выражены в неустойчивом сорте СЮ. Предобработка растений ЭБ оказала протекторный эффект на протеом растений обоих сортов пшеницы к действию засухи, о чем свидетельствуют данные о предотвращении стресс-индуцированного снижения уровня белков фотосинтеза, роста и энергетического обмена растений в ЭБ-предобработанных проростках. Вместе с тем, в условиях дефицита влаги предобработанные гормоном проростки характеризовались заметно меньшим уровнем накопления ряда защитных белков, в том числе и антиоксидантных ферментов, в сравнении с необработанными гормоном образцами, что свидетельствует о снижении стрессовой нагрузки на предобработанные ЭБ растения. Таким образом, одним из механизмов выявленного нами защитного действия предобработки ЭБ на проростки различающихся по засухоустойчивости сортов пшеницы Омская-35 и Салават Юлаев в условиях обезвоживания является предотвращение гормоном существенных стресс-индуцированных сдвигов в протеоме.

Ключевые слова: брасиностероиды, засуха, протеом, пшеница, устойчивость

PROTECTIVE EFFECT OF 24-EPIBRASSINOLIDE ON PROTEOME OF WHEAT CULTIVARS WITH DIFFERING DROUGHT TOLERANCE UNDER DEHYDRATION

**Avalbaev A.M., Allagulova Ch.R.,
Fedorova K.A., Yuldashev R.A., Shakirova F.M.**

Institute of Biochemistry and Genetics
of the Ufa Federal Research Centre of RAS, Ufa, Russia
E-mail: avalbaev@yahoo.com

This work is devoted to study the effect of 24-epibrassinolide (EBR) on proteomic changes in wheat plants (*Triticum aestivum* L.) of two cultivars with different drought tolerance, Omskaya 35 (O-35, tolerant cultivar) and Salavat Yulaev (SYu, less tolerant cultivar), under water stress conditions. Using two-dimensional electrophoresis it was found that the dehydration led to a decrease in the content of most polypeptides, in particular, those proteins involved in the processes of photosynthesis, growth and energy metabolism of plants. Interestingly, stress-induced changes in the proteome were more pronounced in the less tolerant cultivar SYu. Pretreatment with EBR had a protective effect on the proteome of both wheat cultivars plants in response to drought as evidenced by data on prevention of stress-induced decrease in the contents of proteins involved in photosynthesis, growth and energy metabolism processes in EBR-pretreated seedlings. At the same time, under dehydration conditions hormone-pretreated seedlings were characterized by a significantly lower accumulation of protective proteins, including antioxidant enzymes, in comparison with hormone-untreated samples, which pointed to a decrease of the stress pressure on EBR-pretreated plants. Thus, we have revealed that prevention by 24-epibrassinolide of significant stress-induced changes in the proteome contributed significantly to protective action of EBR on seedlings of Omskaya-35 and Salavat Yulaev wheat cultivars with different drought tolerance under dehydration conditions.

Keywords: brassinosteroids, drought, proteome, wheat, tolerance

Поступила в редакцию: 28.04.2020

[DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-2-204-212](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-2-204-212)

ВВЕДЕНИЕ

Одним из фундаментальных направлений исследований современной биологии растений может считаться протеомика. Ее задачей является получение информации о протеомах – совокупности белков организма, изменениях в наборе и содержании белков в ходе развития растения и при изменении условий существования, в том числе при действии различных эффекторов, в частности, фитогормонов. Несмотря на то, что секвенирование ряда геномов в последнее десятилетие позволило установить последовательности огромного числа генов, однако анализ профиля транскрипции не дает полной информации о функциональной активности клеток, тканей и в целом растительного организма, поскольку транскрипционная активность генов не всегда приводит к синтезу белков. Такую информацию может дать только протеомный анализ, поскольку позволяет выявить совокупность всех белков, которые определяют функциональную специфичность клеток, тканей и целого организма.

Брассиностероиды (БС) – фитогормоны стероидной природы в настоящее время привлекают пристальное внимание исследователей во всем мире, не в последнюю очередь благодаря их высокой антистрессовой активности [Khripach et al., 2000; Gruszka, 2018; Nolan et al., 2020]. Сведения об участии БС в регуляции разнообразных физиологических процессов, лежащих в основе жизнедеятельности растений, как в норме, так и при стрессе свидетельствуют об их активном воздействии на протеом [Hou et al., 2017; Li et al., 2019]. Следует отметить, что в настоящее время протеомный анализ находит все большее применение как мощный и перспективный инструмент для изучения молекулярных механизмов действия фитогормонов, в частности брассиностероидов [Černý et al., 2016; Hou et al., 2017; Chen et al., 2018; Sharma et al., 2018; Shaki et al., 2020]. Если ранее исследователи имели возможность анализировать только отдельные фитогормон-индуцируемые белки, то сейчас постоянно совершенствующиеся методы протеомики позволяют изучить качественные и количественные изменения во всем белковом спектре [Тарчевский, Егорова, 2015; Cheng et al., 2020]. Вместе с тем, на данный момент комплексных исследований о спектре белков, вовлеченных в реализацию физиологического действия БС в растениях, пока не так много. Так, выявлены полипептиды, участвующие в защитном эффекте БС на растения банана при холодовом стрессе [Li et al., 2018]. Изучение вовлечения БС в регуляцию прорастания семян риса позволило обнаружить около 800 индуцируемых брассиностероидами полипептидов, причем 10% из их числа имели крайне высокую чувствительность к обработке БС [Li et al., 2016].

Ранее нами были получены данные о сочетании у фитогормона 24-эпибрассинолида (ЭБ) ростстимулирующего в норме и протекторного эффектов в условиях засухи на растения пшеницы различающихся по засухоустойчивости сортов Омская-35 (О-35, устойчивый сорт) и Салават Юлаев (СЮ, восприимчивый сорт) [Shakirova et al., 2016; Avalbaev et al., 2020], что свидетельствует об активном влиянии ЭБ на протеом проростков О-35 и СЮ. В связи с этим, встает задача выявления роли протеомных перестроек в реализации протекторного действия ЭБ на проростки пшеницы при воздействии засухи. Цель настоящей работы заключалась в изучении действия 24-эпибрассинолида на содержание растворимых белков и идентификации методом MALDI-TOF масс-спектрометрии наиболее ярко отзывающихся на обработку ЭБ полипептидов в условиях обезвоживания в проростках пшеницы различающихся по засухоустойчивости сортов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили на контрастных по засухоустойчивости сортах пшеницы *Triticum aestivum* L.: Омская-35 и Салават Юлаев, подвергнутых воздействию засухи. Семена после стерилизации проращивали на светоплощадке в течение 3 суток (16 часовая световая день, 15 клк) при 22–24°C. После отделения эндосперма 3-суточные проростки инкубировали 24 ч в растворе 2%-ной сахарозы в смеси с 0,4 мкМ ЭБ. Далее 4-суточные необработанные и обработанные ЭБ проростки инкубировали в течение 24 ч на растворе 5% маннита, имитирующего засуху. Контролем служили не подвергнутые действию ЭБ и маннита проростки.

Для анализа использовали побеги 5-суточных проростков, которые отделяли от корней и фиксировали в жидком азоте. Экстракцию растворимых белков проводили с помощью буфера, содержащего: 50 мМ HEPES–KOH, pH 7,5; 1 мМ PMSF; 10 мМ ЭГТА; 0,1 мМ ортованадат натрия. Белки осаждали ледяным 80% ацетоном, промывали 3 раза ледяным ацетоном и растворяли в изофокусирующем буфере. Белки разделяли методом двумерного электрофореза (2DE), количество нанесенного белка составляло 150 мкг [Федина, 2013].

Для идентификации белков из геля вырезали белковые пятна и проводили триптический гидролиз белка. Масс-спектры фрагментов белков получали на тандемном MALDI-TOF-TOF масс-спектрометре Ultraflex II («Bruker», Германия). Идентификацию белков осуществляли при помощи программы Mascot. Поиск белков осуществлялся в базах данных NCBI и UniProt (подбаза – растения). Регистрацию масс-спектров и идентификацию белков проводили в Междисциплинарном центре протеомных исследований при ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

Эксперименты проводили в двух–трех повторностях; приведены результаты типичного опыта.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведение двумерного электрофореза позволило выявить ЭБ-индуцированное увеличение уровня большого количества белков в широком диапазоне молекулярных масс и изоэлектрических точек в побегах проростков обоих сортов (рис. 1). Вместе с тем, в устойчивом сорте О-35 уровень накопления ряда белков был заметно выше в сравнении с сортом СЮ (рис. 1). Вероятно, выявленная нами ранее ЭБ-индуцированная стимуляция роста побегов обоих сортов [Shakirova et al., 2016] связана с изменением содержания ряда полипептидов, в связи с чем, далее методом MALDI-TOF масс-спектрометрии были идентифицированы белки, которые вовлечены в ответ на обработку ЭБ. Характеристики и названия идентифицированных полипептидов, которые разделяли по функциональным группам, представлены в таблице.

Среди идентифицированных полипептидов особый интерес вызывают белки фотосинтеза (таблица). Так, идентифицированы предшественники полипептидов, входящих в состав кислород-выделяющего комплекса фотосистемы II (№ 3, 4, 9). Считается, что увеличение уровня данных белков способствует большей устойчивости комплекса фотосистемы II хлоропластов [Wueman, Yocum, 2005]. Кроме того, обнаружены белки цикла Кальвина, среди которых выявлены изоформы малой (№ 1) и большой (№ 2) субъединиц рибулозобисфосфаткарбоксилазы (РБФК), составляющие основу холофермента РБФК – ключевого фермента фотосинтеза. Обработка ЭБ способствовала увеличению содержания β -

субъединицы РБФК-связывающего белка (№ 6) и активазы РБФК (№ 7), необходимых для эффективного функционирования РБФК. Среди индуцируемых в ответ на ЭБ полипептидов были идентифицированы и другие ферменты цикла Кальвина, в частности, фруктозо-1,6-бисфосфат альдолаза (№ 5) и фосфоглицерат киназа (№ 8).

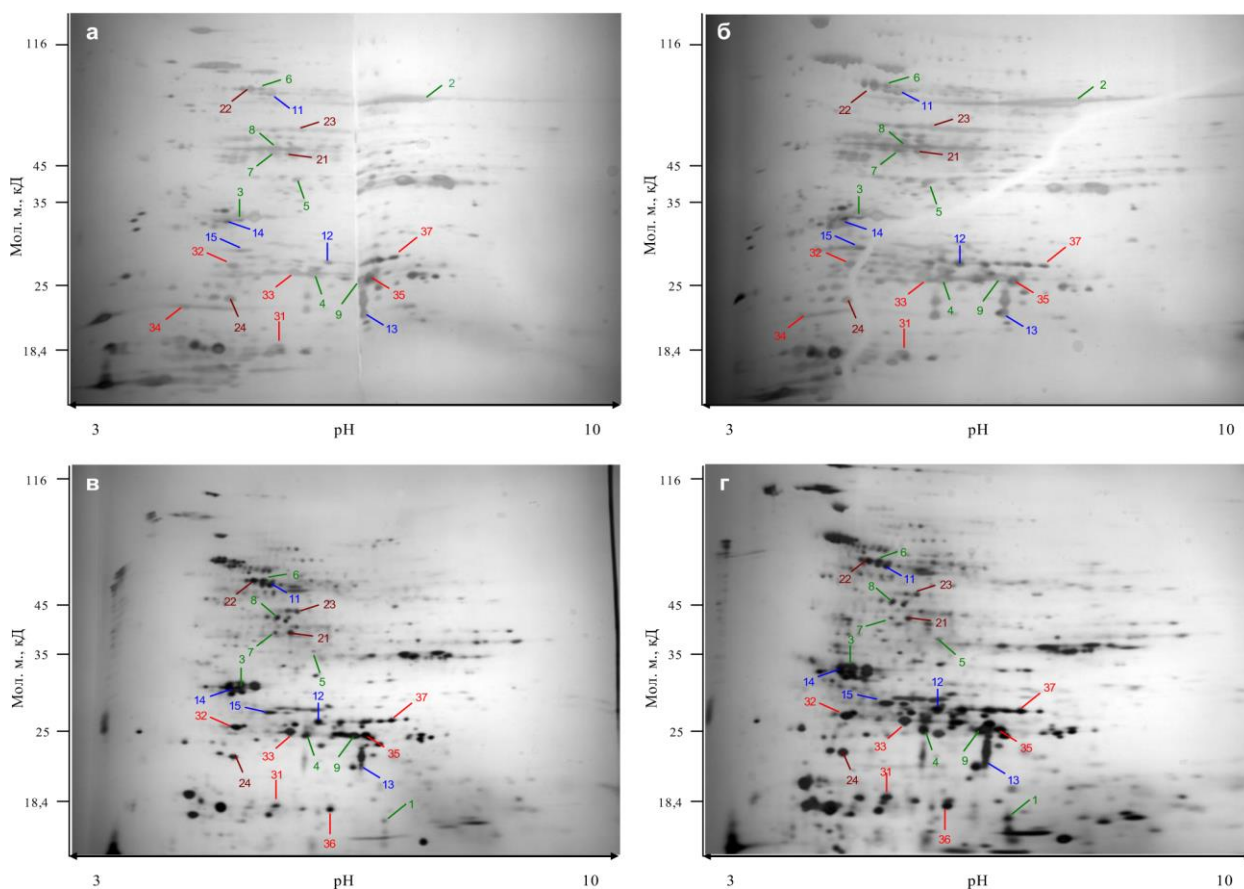


Рис. 1. Влияние ЭБ на разделение растворимых полипептидов побегов 4-суточных проростков пшеницы сортов Салават Юлаев (а – контроль, б – 0,4 мкМ ЭБ) и Омская-35 (в – контроль, г – 0,4 мкМ ЭБ) при помощи 2DE. Идентифицированные белки пронумерованы, информация о них приведена в таблице.

В литературе есть данные о положительном влиянии БС на интенсивность процесса фотосинтеза, которое сопровождается стимуляцией роста и увеличением продуктивности растений [Xia et al., 2009; Gruszka, 2018]. Это может быть связано с усилением экспрессии генов малой и большой субъединиц РБФК, а также увеличением активности РБФК [Xia et al., 2009; Siddiqui et al., 2018]. Наряду с белками, участвующими в фотосинтезе, выявлено вызываемое ЭБ увеличение содержания белков, вовлеченных в рост и энергетический обмен растений. Так, идентифицированы актин (№ 21), субъединицы тубулина (№ 22 и 23), белок CDC48 (№ 24), которые задействованы в делении клеток. Среди белков, принимающих участие в энергетическом обмене растений, обнаружены различные субъединицы АТФ-синтазы (№ 11–13), протеинкиназы семейства SHAGGY (№ 14), рибунуклеопротеин (№ 15), а также фермент глутамин синтетаза (№ 16). Вместе с тем, повышение содержания идентифицированных белков под влиянием ЭБ в целом было более отчетливо выражено в устойчивом сорте О-35 относительно неустойчивого сорта СЮ (рис. 1).

Таблица 1. Характеристика растворимых белков побегов проростков пшеницы идентифицированных с помощью MALDI-TOF MS

№ пятна ^а	№ белка в базе NCBI или UniProt	Достоверность поиска ^б	Идентифицированные белки <i>Triticum aestivum</i> и тождественные белкам других организмов ^в
Фотосинтез			
1	gi 11990895	100	Малая субъединица рибулозобисфосфат карбоксилазы (РБФК) <i>Triticum aestivum</i>
2	gi 14017580	221	Большая субъединица РБФК <i>Triticum aestivum</i>
3	gi 474352688	76	Предшественник белка 1, входящего в состав кислород-выделяющего комплекса фотосистемы II <i>Triticum urartu</i>
4	gi 131394	104	Предшественник белка 2, входящего в состав кислород-выделяющего комплекса фотосистемы II <i>Triticum urartu</i>
5	gi 357157399	76	Хлоропластная фруктозо-бисфосфат альдолаза <i>Brachypodium distachyon</i>
6	gi 474438538	74	β -субъединица хлоропластного РБФК-связывающего белка <i>Triticum urartu</i>
7	gi 723047999	130	Активваза РБФК <i>Triticum aestivum</i>
8	gi 3293043	62	Фосфоглицерат киназа <i>Triticum aestivum</i>
9	gi 474077556	118	Предшественник белка 2, входящего в состав кислород-выделяющего комплекса фотосистемы II <i>Triticum urartu</i>
Энергетический обмен			
11	gi 473798701	61	β -субъединица митохондриальной АТФ синтазы <i>Triticum urartu</i>
12	gi 47607439	94	Предшественник митохондриальной АТФ синтазы <i>Triticum aestivum</i>
13	gi 474066813	72	d -субъединица митохондриальной АТФ синтазы <i>Triticum urartu</i>
14	gi 474323684	61	Протеинкиназа семейства SHAGGY <i>Triticum urartu</i>
15	gi 473997750	69	Хлоропластный рибонуклеопротеин 31 kDa <i>Triticum urartu</i>
16	GLNA2_HORVU	58	Изоформа хлоропластной глутамин синтазы <i>Hordeum vulgare</i>
Рост растений			
21	ACT1_ORYSI	64	Актин 1 <i>Oryza sativa</i>
22	gi 90289596	81	α -тубулин <i>Triticum aestivum</i>
23	TBB3_WHEAT	96	β -тубулин <i>Triticum aestivum</i>
24	gi 473821746	128	Белок группы CDC 48 <i>Triticum urartu</i>
Защитные белки			
31	gi 474145957	112	Хлоропластный 2-цис-пероксиредоксин <i>Triticum urartu</i>
32	gi 474407512	129	Хлоропластный 20 kDa шаперонин <i>Triticum urartu</i>
33	gi 473945885	186	Хлоропластный 20 kDa шаперонин <i>Triticum urartu</i>
34	gi 376372849	63	Полипептид семейства PINB-2v2-2 <i>Triticum aestivum</i>
35	gi 20067415	121	Глутатион-S-трансфераза <i>Triticum aestivum</i>
36	gi 123545	122	Белок 1 теплового шока 16,9 kDa класса I <i>Triticum aestivum</i>
37	gi 474311703	127	L-аскорбат пероксидаза 1 <i>Triticum urartu</i>

Примечание. ^а – № пятна на 2D-геле. ^б – Достоверность идентификации белков (Score) в базах данных NCBI и UniProt (подбаза – растения) с использованием программы Mascot, где предел отсечения составлял 58 ($p < 0,05$). Критерием достоверности поиска является значение, характеризующееся уникальностью регистрируемого набора масс для белка из базы данных, количеством предполагаемых пептидов и полнотой перекрытия последовательности. ^в – Название белка согласно базам данных NCBI и UniProt.

На данный момент в литературе встречается не так много данных о спектре белков, вовлеченных в реализацию физиологического действия БС в разных видах растений. Так, в

растениях арабидопсиса с помощью протеомного анализа удалось выявить чувствительные к обработке БС белки, которые участвуют в процессах фотосинтеза, энергетического обмена, передачи сигналов, перестройки цитоскелета, везикулярного обмена, а также биосинтеза гормонов и витаминов [Deng et al., 2007].

В последующих исследованиях были идентифицированы белки, которые задействованы в регуляции БС роста клеток растяжением растений риса и арабидопсиса [Tang et al., 2008; Wang et al., 2010]. Вероятно, что обнаруженное нами ЭБ-индуцированное увеличение содержания белков, вовлеченных в фотосинтез, рост и энергетический обмен, сопровождается усилением интенсивности метаболизма, что в конечном итоге приводит к стимуляции роста растений пшеницы обоих сортов [Shakirova et al., 2016].

Вместе с тем обнаружено, что предобработка ЭБ способствовала снижению уровня повреждающего действия засухи на рост проростков обоих сортов [Shakirova et al., 2016; Avalbaev et al., 2020], что также может быть обусловлено изменениями в протеоме. С целью выявления значения протеомных перестроек в реализации протекторного действия ЭБ, нами проведен анализ влияния предпосевной обработки ЭБ на распределение пула растворимых белков в побегах проростков сортов СЮ и О-35, подвергнутых засухе (рис. 2 и 3).

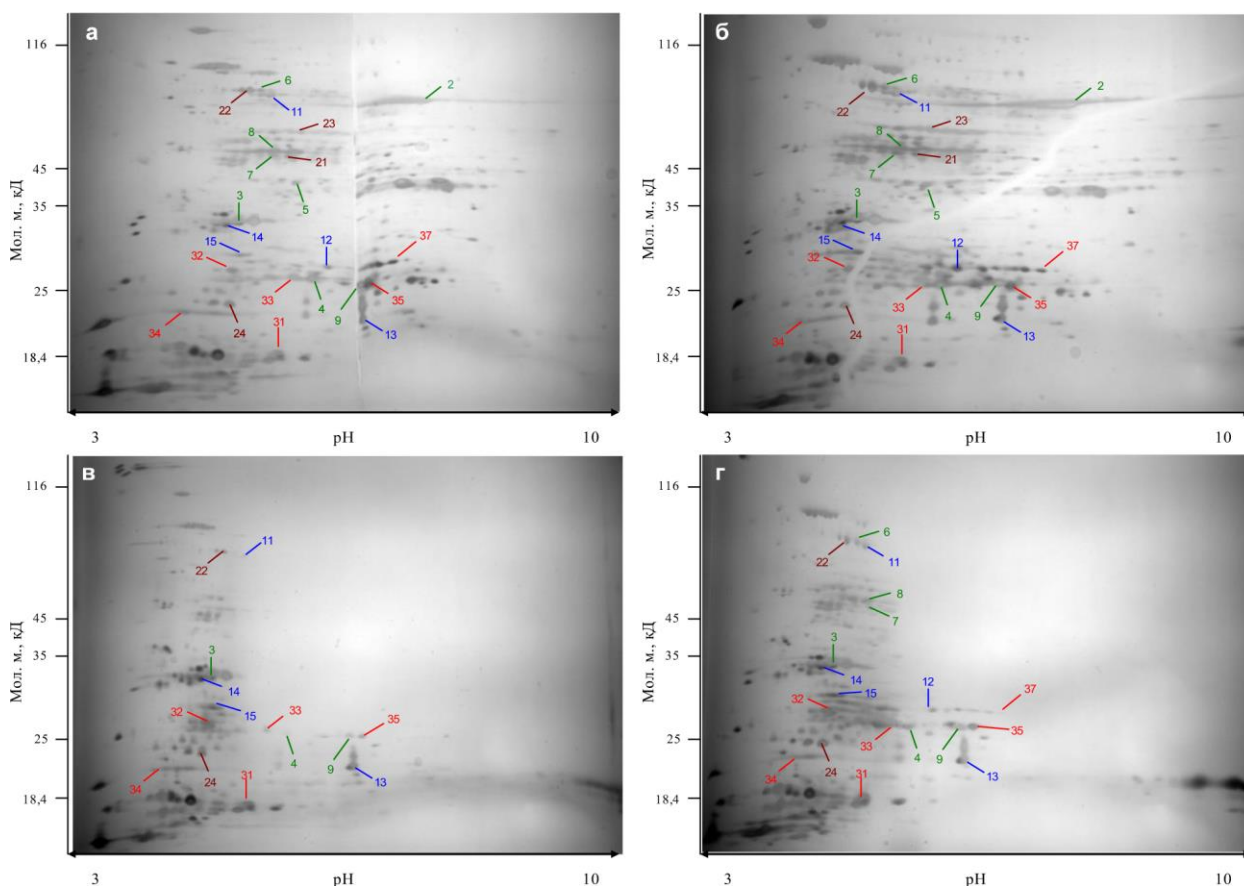


Рис. 2. Разделение растворимых полипептидов побегов ЭБ-предобработанных 5-суточных проростков пшеницы сорта Салават Юлаев при помощи 2ДЕ в условиях засухи. а - контроль; б – 0,4 мкМ ЭБ; в - маннит; г – 0,4 мкМ ЭБ + маннит. 3-суточные проростки инкубировали в течение 24 ч на среде, содержащей 0,4 мкМ ЭБ, и затем 4-суточные проростки подвергали воздействию 5% маннита в течение 24 ч. Идентифицированные белки пронумерованы, информация о них приведена в таблице.

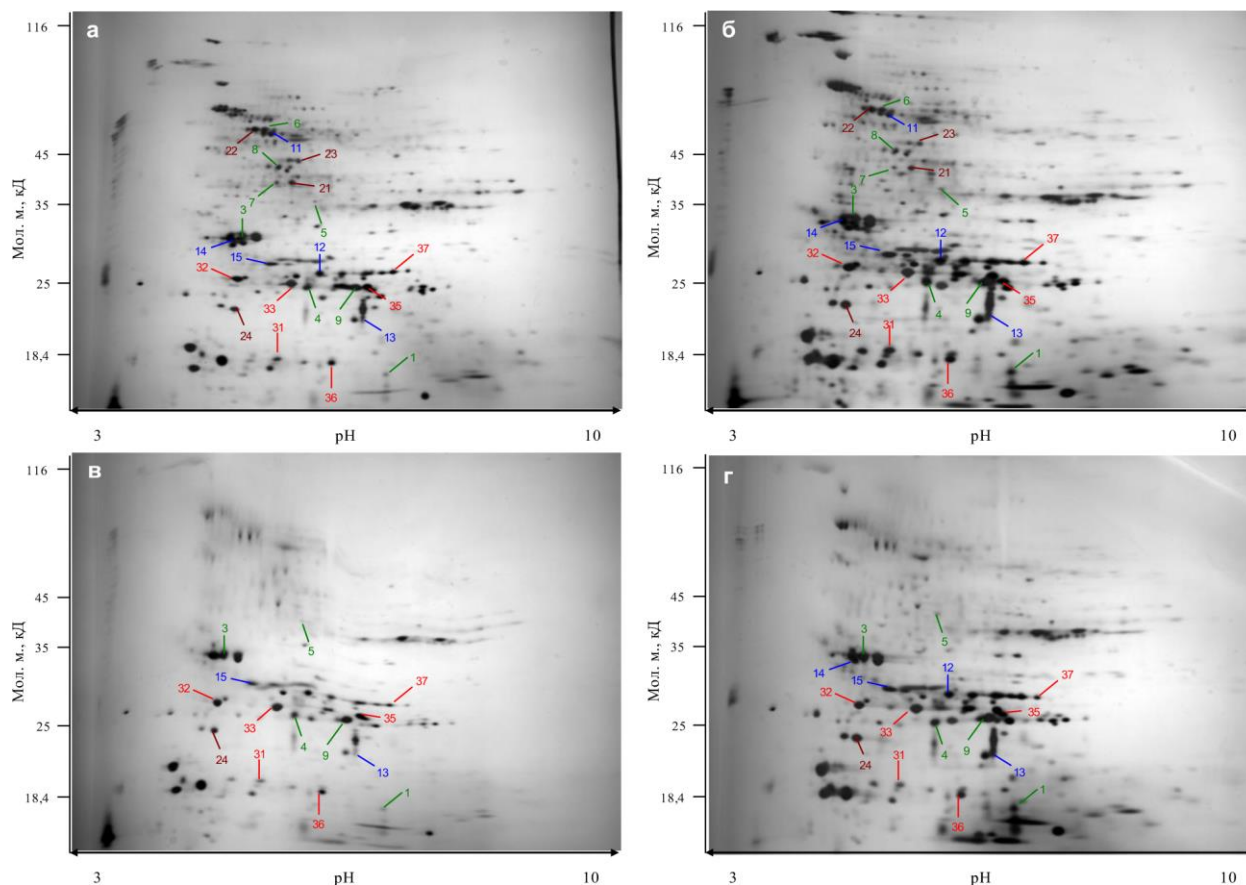


Рис. 3. Разделение растворимых полипептидов побегов ЭБ-предобработанных 7-суточных проростков пшеницы сорта Омская-35 при помощи 2DE в условиях засухи: а - контроль; б – 0,4 мкМ ЭБ; в - маннит; г – 0,4 мкМ ЭБ + маннит. 3-суточные проростки инкубировали в течение 24 ч на среде, содержащей 0,4 мкМ ЭБ, и затем 4-суточные проростки подвергали воздействию 5% маннита в течение 24 ч. Идентифицированные белки пронумерованы, информация о них приведена в таблице.

Так, воздействие маннита привело к значительным количественным и качественным изменениям в белковом спектре растений пшеницы обоих сортов (рис. 2в и 3в). У подвергнутых засухе проростков выявлено уменьшение содержания большинства белков, в частности, идентифицированных нами белков фотосинтеза, роста и энергетического обмена растений, причем, снижение уровня этих полипептидов гораздо сильнее выражено у неустойчивого сорта СЮ (рис. 2в). Вместе с тем, наблюдалось также и исчезновение ряда полипептидов (рис. 2в и 3в). Предпосевная обработка ЭБ оказывает защитный эффект на рост растений пшеницы в условиях засухи [Shakirova et al., 2016; Avalbaev et al., 2020], в связи с чем можно было ожидать активацию ЭБ адаптационного потенциала протеома к возможным стрессам. В пользу этого свидетельствуют данные об увеличении в растениях в ответ на саму обработку ЭБ содержания таких защитных белков как хлоропластный 2-ципероксиредоксин (№ 31), хлоропластные шаперонины (№ 32 и 33), полипептид PINB-2v2-2 (№ 34) из семейства PINB (пуриноидины В) белков, а также антиоксидантных ферментов – *L*-аскорбат пероксидаза (№ 37) и глутатион-*S*-трансфераза (№ 35) (рис. 1б, г), тогда как в условиях засухи в предобработанных ЭБ проростках обоих сортов уровень накопления этих белков в сравнении с необработанными гормоном растениями был существенно ниже, что указывает на снижение стрессовой нагрузки на предобработанные гормоном проростки (рис. 2г и 3г). Как показано в ряде работ, некоторые из этих защитных белков, в частности, *L*-

аскорбат пероксидаза и глутатион-S-трансфераза, имеют существенное значение для формирования БС-индуцированной устойчивости растений к стрессовым факторам, вызывающим обезвоживание [Anwar et al., 2018; Tanveer et al., 2019]. Вместе с тем, ЭБ предотвращает стресс-индуцированное снижение уровня белков фотосинтеза, роста и энергетического обмена (рис. 2г и 3г), с чем, вероятно, и связано сохранение ростовой активности ЭБ-предобработанных проростков обоих сортов при засухе [Shakirova et al., 2016]. Следовательно, регуляция ЭБ содержания белков, вовлеченных в фотосинтез, рост, энергетический обмен и защиту растений, в норме и в условиях засухи вносит важный вклад в реализацию ростстимулирующего и протекторного действия этого гормона на проростки пшеницы обоих сортов.

Таким образом, 24-эпибрасинолид играет важную роль в регуляции активации белкового метаболизма, лежащего в основе проявления его протекторного эффекта на проростки обоих сортов в условиях засухи, что в целом отражается в предотвращении резких стресс-индуцированных сдвигов в протеоме ЭБ-предобработанных растений сортов Омская-35 и Салават Юлаев.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках госзадания (тема № АААА-А16-116020350029-1) при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-04-00904_а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тарчевский И.А., Егорова А.М. Протеомный анализ влияния циклогексимида на корни гороха // Физиология растений. 2015. Т. 62 (6). С. 893–905. <https://doi.org/10.7868/S0015330315060172>
2. Федина Е.О. Влияние 24-эпибрасинолида на фосфорилирование белков по тирозину у гороха после действия засоления // Физиология растений. 2013. Т. 60 (3). С. 360–368. <https://doi.org/10.7868/S0015330313020085>
3. Anwar A., Liu Y., Dong R., et al. The physiological and molecular mechanism of brassinosteroid in response to stress: a review // Biological Research. 2018. V. 51. 46. <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0195-2>
4. Avalbaev A., Bezrukova M., Allagulova Ch., et al. Wheat germ agglutinin is involved in the protective action of 24-epibrassinolide on the roots of wheat seedlings under drought conditions // Plant Physiology and Biochemistry. 2020. V. 146. P. 420–427. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.038>
5. Černý M., Novák J., Habánová H., et al. Role of the proteome in phytohormonal signaling // Biochimica Biophysica Acta. 2016. V. 1864. P. 1003–1015. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2015.12.008>
6. Chen W., Wan S., Shen L., et al. Histological, physiological, and comparative proteomic analyses provide insights into leaf rolling in *Brassica napus* // Journal of Proteome Research. 2018. V. 17. P. 1761–1772. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00744>
7. Cheng L., Wang D., Wang Y., et al. An integrative overview of physiological and proteomic changes of cytokinin-induced potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber development *in vitro* // Physiologia Plantarum. 2020. V. 168 (3). P. 675–693. <https://doi.org/10.1111/ppl.13014>
8. Deng Z., Zhang X., Tang W., et al. A proteomics study of brassinosteroid response in arabidopsis // Molecular & Cellular Proteomics. 2007. V. 6. P. 2058–2071. <https://doi.org/10.1074/mcp.M700123-MCP200>

9. Gruszka D. Crosstalk of the brassinosteroid signalosome with phytohormonal and stress signaling components maintains a balance between the processes of growth and stress tolerance // *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. V. 19 (9). 2675. <https://doi.org/10.3390/ijms19092675>
10. Hou Y., Qiu J., Wang Y., et al. A quantitative proteomic analysis of brassinosteroid-induced protein phosphorylation in rice (*Oryza sativa* L.) // *Frontiers in Plant Science*. 2017. V. 8. 514. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00514>
11. Khripach V., Zhabinskii V., de Groot A. Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century // *Annals of Botany*. 2000. V. 86. P. 441–447. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1227>
12. Li L., Xu Y., Ren Y., et al. Comparative proteomic analysis provides insights into the regulatory mechanisms of wheat primary root growth // *Scientific Reports*. 2019. V. 9. 11741. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47926-7>
13. Li Q.F., Xiong M., Xu P., et al. Dissection of brassinosteroid-regulated proteins in rice embryos during germination by quantitative proteomics // *Scientific Reports*. 2016. V. 6. 34583. <https://doi.org/10.1038/srep34583>
14. Li T., Yun Z., Wu Q., et al. Proteomic profiling of 24-epibrassinolide-induced chilling tolerance in harvested banana fruit // *Journal of Proteomics*. 2018. V. 187. P. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jpro.2018.05.011>
15. Nolan T.M., Vukašinić N., Liu D., et al. Brassinosteroids: multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses // *Plant Cell*. 2020. V. 32. P. 295–318. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00335>
16. Shaki F., Ebrahimzadeh Maboud H., Niknam V. Differential proteomics: effect of growth regulators on salt stress responses in safflower seedlings // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2020. V. 164. P. 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.01.006>
17. Shakirova F., Allagulova Ch., Maslennikova D., et al. Involvement of dehydrins in 24-epibrassinolide-induced protection of wheat plants against drought stress // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2016. V. 108. P. 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.07.013>
18. Sharma M., Gupta S.K., Majumder B., et al. Proteomics unravel the regulating role of salicylic acid in soybean under yield limiting drought stress // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2018. V. 130. P. 529–541. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.08.001>
19. Siddiqui H., Hayat S., Bajguz A. Regulation of photosynthesis by brassinosteroids in plants // *Acta Physiologiae Plantarum*. 2018. V. 40. 59. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2639-2>
20. Tang W., Deng Z., Osés-Prieto J.A., et al. Proteomics studies of brassinosteroid signal transduction using prefractionation and two-dimensional DIGE // *Molecular & Cellular Proteomics*. 2008. V. 7. P. 728–738. <https://doi.org/10.1074/mcp.M700358-MCP200>
21. Tanveer M., Shahzad B., Sharma A., Khan E.A. 24-Epibrassinolide application in plants: an implication for improving drought stress tolerance in plants // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. V. 135. P. 295–303. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.12.013>
22. Wang F., Bai M.Y., Deng Z., et al. Proteomic study identifies proteins involved in brassinosteroid regulation of rice growth // *Journal of Integrative Plant Biology*. 2010. V. 52. P. 1075–1085. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00992.x>
23. Wyman A.J., Yocum C.F. Structure and activity of the photosystem II manganese-stabilizing protein: role of the conserved disulfide bond // *Photosynthesis Research*. 2005. V. 85. P. 359–372. <https://doi.org/10.1007/s11120-005-7385-9>
24. Xia X.-J., Huang L.-F., Zhou Y.-H., et al. Brassinosteroids promote photosynthesis and growth by enhancing activation of Rubisco and expression of photosynthetic genes in *Cucumis sativus* // *Planta*. 2009. V. 230. P. 1185–1196. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-1016-1>