

УЧАСТИЕ ЭТИЛЕНА И АБК В РЕГУЛЯЦИИ УСТЬИЧНОЙ И ГИДРАВЛИЧЕСКОЙ ПРОВОДИМОСТИ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ ПРИ ПОВЫШЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ

© Д.С. Веселов, Г.В. Шарипова

Для проверки роли абсцизовой кислоты (АБК) в регуляции гидравлической проводимости и в устьичной реакции растений на этилен был изучен физиологический ответ на повышение температуры и обработку растений 1-метилциклопропеном (1-МЦП, ингибитор рецепции этилена) у дефицитного по АБК мутанта ячменя AZ34 и его исходной формы *Steptoe*. Транспирационная реакция растений *Steptoe* и AZ34 отличалась как в контроле, так и при обработке 1-МЦП на фоне повышенной температуры. Сравнение характера изменений величин водного потенциала, гидравлической проводимости и концентрации АБК у растений *Steptoe* и AZ34 также выявило серьезные отличия. Полученные результаты подтверждают, что АБК обеспечивает возрастание гидравлической проводимости и поддержание водного потенциала у растений при повышении скорости транспирации.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare*, гидравлическая проводимость, устьица, суховей, АБК, этилен, 1-МЦП.

Введение. Рост растений происходит с наибольшей скоростью на фоне оптимальной температуры, а ее повышение может ингибировать рост [1]. Вместе с тем за счет транспирации температура листьев снижается, что обеспечивает поддержание роста. Способность растений поддерживать транспирацию важна для их адаптации к повышению температуры. Так, высокая скорость роста и урожайность были характерны для растений пшеницы и хлопчатника, способных поддерживать устьица открытыми на фоне сверхоптимальной температуры. В то же время активация транспирации требует повышения притока воды из корней. В противном случае может происходить падение оводненности листа и прекращение его роста [2]. Таким образом, адаптация к повышению температуры требует участия тонких механизмов, обеспечивающих регуляцию устьичной и гидравлической проводимости. Сравнение скорости транспирации и гидравлической проводимости выявило корреляцию между этими показателями: в дневное время активация транспирации была сопряжена с возрастанием гидравлической проводимости корней, что

было связано с повышением экспрессии генов водных каналов аквапоринов. Было показано, что возрастание гидравлической проводимости позволяло растениям пшеницы поддерживать высокий уровень транспирации без снижения оводненности тканей листа при нагреве воздуха. Ранее нами было показано, что при повышении температуры воздуха снижается содержание АБК в листьях и увеличивается в корнях [3]. Было высказано предположение, что эта реакция способствует поддержанию устьиц в открытом состоянии и сохранению оводненности тканей за счет увеличения гидравлической проводимости и притока воды из корней, что именно накопление АБК в корнях обеспечивает повышение гидравлической проводимости при нагреве воздуха. Это предположение опиралось на данные литературы о способности АБК повышать гидравлическую проводимость через изменение активности аквапоринов. Кроме того, с помощью ингибитора рецепции этилена 1-метилциклопропена (МЦП) было показано [4], что этилен может способствовать поддержанию устьиц в открытом состоянии, снижая уровень АБК

в листьях. Для того чтобы проверить роль АБК в регуляции гидравлической проводимости и в устьичной реакции растений на этилен, в данной работе мы изучили физиологический ответ на повышение температуры и обработку растений 1-МЦП у дефицитного по АБК мутанта ячменя AZ34 и его исходной формы *Steptoe*.

Материалы и методы. Семена растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта *Steptoe* и его дефицитного по АБК мутанта AZ34 проращивали на плотиках (связанные вместе полые запаянные стеклянные трубки) в течение трех дней в темноте на водопроводной воде и затем еще 4 дня – на 10% питательном растворе Хогланда-Арнона при освещенности 400 ммоль м⁻²с⁻¹, 14-часовом световом дне и температуре 24±1°C. У семидневных растений после измерений скорости роста, транспирации и водного потенциала листьев температуру повышали на 4±1 градуса по сравнению с исходной с помощью фена, отгородив растения от прямого действия потока воздуха с помощью ширмы из оргстекла. Часть растений перед повышением температуры обрабатывали раствором 1-МЦП. Раствор 1-МЦП получали из предшественника, полученного в качестве подарка от Smart-Fresh, AgroFresh Inc, Spring House PA, США, который растворяли из расчета 0,1 г на 1 л 0,05% (v/v) раствора смачивающего агента (Silwett L-77, De Sangosse Ltd, Кембридж, Великобритания). Полученным раствором опрыскивали листья половины растений не позже, чем через 5 мин после приготовления раствора, в течение которых образовывался газообразный 1-МЦП. Вторую половину растений обрабатывали раствором смачивающего агента. Опрысканные растения изолировали полиэтиленовой пленкой на ночь.

Транспирацию оценивали гравиметрически – по потере веса стаканчиком с 50 мл питательного раствора и десятью проростками. Стаканчик закрывали алюминиевой фольгой с отверстием для проростков с целью предотвращения испарения воды с поверхности питательного раствора. Вес стаканчиков оп-

ределяли каждые 10 мин, и по разнице в весе судили об интенсивности транспирации.

Осмотическую гидравлическую проводимость корней растений рассчитывали по формуле:

$$Lp_r = Jv/\Delta\Pi,$$

где Lp_r – гидравлическая проводимость корней растений (мг*час⁻¹*(г сырого веса корня)⁻¹*МПа⁻¹); Jv – объемный поток ксилемного экссудата через корни (мг*час⁻¹*(г сырого веса корня)⁻¹); $\Delta\Pi$ – разность осмотического давления между ксилемным экссудатом и питательной средой (МПа) [5–6].

Для определения объемного потока через корни (Jv) большую часть побега срезали. Отделенную корневую систему через оставшееся основание соединяли с тонким стеклянным капилляром с помощью силиконовой трубки. Вес ксилемного сока определяли на аналитических весах по разнице веса капилляра вместе с трубочкой до и после сбора сока. Объемный поток (Jv , мг *ч⁻¹*г⁻¹ сырой массы корней) определяли как соотношение веса ксилемного сока к продолжительности его сбора и сырой массе корней [7]. Растения ($n=20$) для сбора ксилемного сока брали перед повышением температуры воздуха и после 20 мин воздействия в течение 1 ч. Во время сбора ксилемного экссудата контрольные и опытные растения находились в одинаковых условиях при температуре 22–24°C.

Осмотический потенциал ксилемного сока и питательной среды (Х-А 10%) определяли по точке замерзания с помощью осмометра (Camlab Limited, Cambridge, UK).

Для определения содержания АБК растительный материал растирали в 80%-м этаноле (соотношение 1:10, вес к объему) и экстрагировали гормоны в течение ночи при 4°C. Затем упаривали спирт до водного остатка. Из его аликвоты экстрагировали АБК диэтиловым эфиром по модифицированной схеме [8]. В полученном таким образом метилированном образце определяли АБК с помощью иммуноферментного анализа с использованием специфических антител [8].

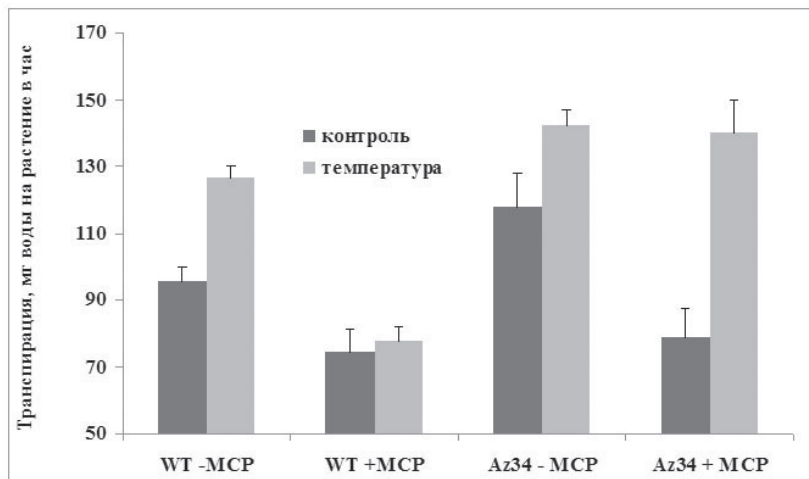


Рис. 1. Влияние повышения температуры воздуха на $4 \pm 1^\circ\text{C}$ на интенсивность транспирации растений *Stephoe* (WT) и AZ34 без обработки 1-МЦП (-МСП) и после обработки (+МСП) ($n=9$)

Опыты повторяли не менее трех раз. В табл. и на графиках представлены средние значения всех биологических повторов (n) и их стандартные ошибки.

Результаты и обсуждение. Известно, что увеличение температуры воздуха снижает его относительную влажность и водный потенциал [9]. При этом транспирационный поток возрастает в результате увеличения разницы между водным потенциалом листа и воздуха, являющего движущей силой транспирации. Действительно, в наших экспериментах повышение температуры сопровождалось возрастанием транспирации у растений обоих генотипов (рис. 1).

Причем в случае растений AZ34 увеличение интенсивности транспирации было более ярко выражено, что может быть связано с пониженным содержанием абсцизовой кислоты, которая, как известно, вызывает закрытие устьиц. В результате предобработки растений *Stephoe* 1-МЦП транспирация после нагрева воздуха не повышалась, а оставалась на уровне контроля, в то время как ее уровень у мутанта не зависел от обработки ингибитором рецепции этилена и оставался высоким. Снижение уровня транспирации у растений *Stephoe*, обработанных 1-МЦП, указывает на роль этилена в поддержании устьиц в открытом состоянии при повышении

температуры, а отсутствие реакции у дефицитного по АБК мутанта соответствует предположению о том, что способность этилена предотвращать закрытие устьиц зависит от его влияния на накопление АБК.

Активация транспирации может привести к дисбалансу между притоком воды из корней и ее транспирационными потерями. Однако водный потенциал листьев растений *Stephoe* не снижался при повышении температуры воздуха, несмотря на увеличение скорости транспирации, и даже несколько вырос, в то время как у растений AZ34 он существенно снизился (рис. 2).

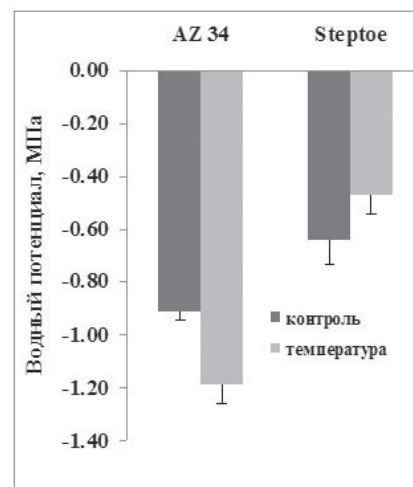


Рис. 2. Величина водного потенциала у мутантных растений ячменя AZ34 и их родительской формы *Stephoe* до (контроль) и 20 мин после (температура) повышения температуры воздуха на $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ($n=6$)

Измерение гидравлической проводимости корней по скорости экссудации ксилемного сока и его осмотическому потенциалу показало, что ее уровень не менялся у дефицитного по АБК мутанта, но возрастал у растений его исходной формы (рис. 3).

Эти результаты косвенно соответствуют предположению о том, что именно АБК обеспечивает возрастание гидравлической проводимости и поддержание водного потенциала у растений при повышении скорости транспирации. Чтобы проверить это, мы измерили содержание абсцизовой кислоты в корнях растений. И действительно, в корнях растений *Steptoe* содержание гормона было выше изначально и возрастало в большей степени, нежели у дефицитного по АБК мутанта (рис. 4).

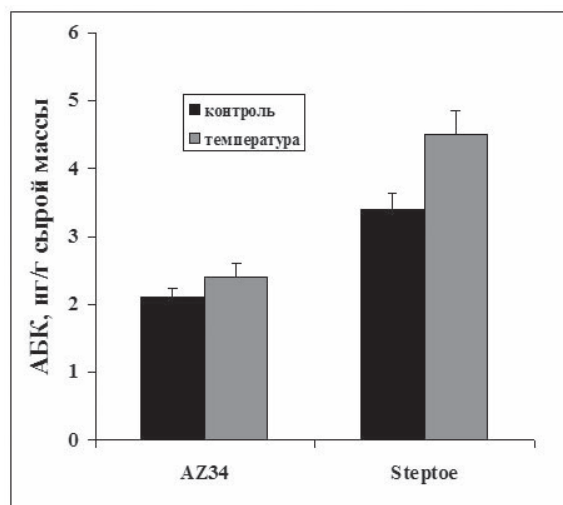


Рис. 4. Концентрация АБК в корнях у мутантных растений ячменя AZ34 и их родительской формы *Steptoe* до (контроль) и 20 мин после (температура) повышения температуры воздуха на $4\pm 1^\circ\text{C}$ ($n=6$)

Обработка корней растений *Steptoe* реактивом Фентона (смесь перекиси водорода и сульфата двухвалентного железа, в результате реакции образуется гидроксил радикал

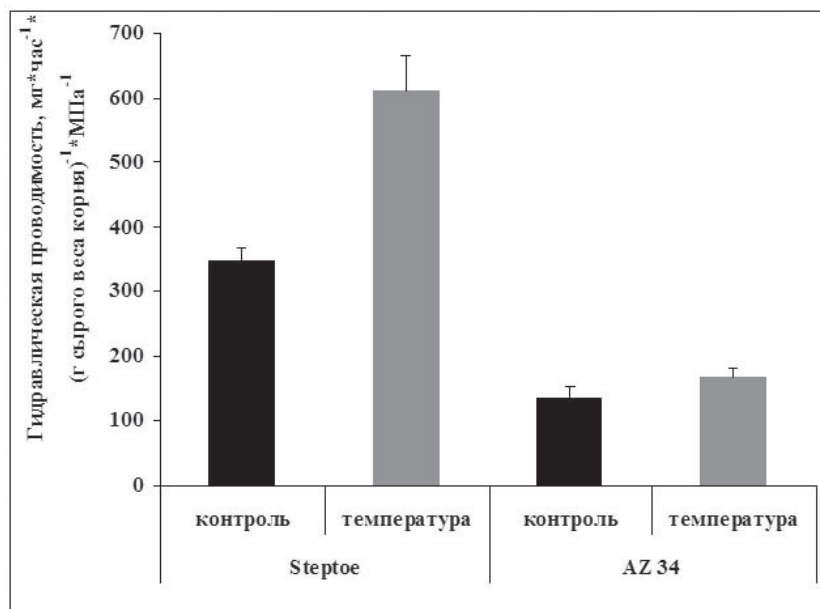


Рис. 3. Осмотическая гидравлическая проводимость корней у мутантных растений ячменя AZ34 и их родительской формы *Steptoe* до (контроль) и 20 мин после (температура) повышения температуры воздуха на $4\pm 1^\circ\text{C}$ ($n=6$)

ОН*, который является ингибитором водных каналов аквапоринов), снижало их гидравлическую проводимость (рис. 5).

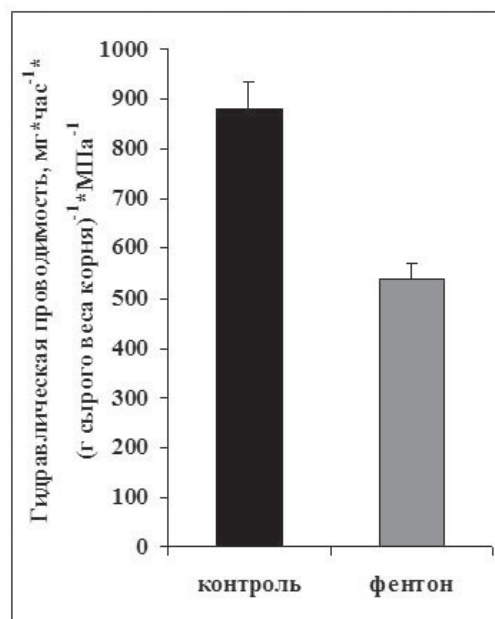


Рис. 5. Величина гидравлической проводимости у растений *Steptoe* до (контроль) и после (фентон) обработки растений реактивом Фентона

В результате реакция растений этого сорта не отличалась от реакции дефицитного по АБК мутанта. Эти результаты подтверждают,

что повышение гидравлической проводимости при нагреве воздуха связано с активностью аквапоринов.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 12-04-01111 и Президента РФ для поддержки российских молодых ученых – докторов наук (МД-3291.2012.4).

ЛИТЕРАТУРА

1. Таланова В.В., Акимова Т.В., Титов А.Ф. Динамика содержания АБК в листьях и корнях проростков огурца и их теплоустойчивости под влиянием общего и локального прогрева // Физиология растений. 2003. Т. 50. С. 100–104.

2. Фархутдинов Р.Г., Веселова С.В., Веселов Д.С., Митриченко А.Н., Дедов А.В., Кудоярова Г.Р. Регуляция скорости роста листьев пшеницы при быстром повышении температуры // Физиология растений. 2003. Т. 50. С. 275–279.

3. Kudoyarova G., Veselova S., Hartung W., Farhutdinov R., Veselov D., Sharipova G. Involvement of root ABA and hydraulic conductivity in the control of water relations in wheat plants exposed to increased evaporation demand // *Planta*. 2011. V. 233. P. 87–94.

4. Шарипова Г.В., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р., Тимергалин М.Д., Wilkinson S. Влияние ингибитора

рецепции этилена на рост, водный обмен и содержание абсцизовой кислоты у растений пшеницы при дефиците воды // Физиология растений. 2012. Т. 59. С. 619–626.

5. Vysotskaya L.B., Arkhipova T.N., Timergalina L.N., Dedov A.V., Veselov S.Y., Kudoyarova G.R. Effect of partial root excision on transpiration, root hydraulic conductance and leaf growth in wheat seedlings // *Plant Physiol Biochem*. 2004. V. 42. P. 251–255.

6. Veselov D., Sharipova G., Veselov S., Kudoyarova G. The effects of NaCl treatment on water relations, growth, and ABA content in barley cultivars differing in drought tolerance // *J Plant Growth Regul*. 2008. V. 27. P. 380–386.

7. Carvajal M., Cooke D.T., Clarkson D.T. Responses of wheat plants to nutrition deprivation may involve the regulation of water-channel function // *Planta*. 1996. V. 199. P. 372–381.

8. Vysotskaya L., Kudoyarova G., Veselov S. Effect on shoot water relations, and cytokinin and abscisic acid levels of inducing expression of a gene coding for isopentenyltransferase in roots of transgenic tobacco plants // *J Exp Bot*. 2010. V. 61. P. 3709–3717.

9. Jones H.G. Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology (2nd edn) // Cambridge University Press. 1992.

INVOLVEMENT OF ETHYLENE AND ABSCISIC ACID (ABA) IN THE REGULATION OF BARLEY HYDRAULIC AND STOMATAL CONDUCTANCE AT HIGHER TEMPERATURES

© D.S. Veselov, G.V. Sharipova

Institute of Biology, Ufa Research Centre, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation

The present investigation was undertaken to examine the role of abscisic acid (ABA) in the regulation of plant hydraulic and stomatal conductance and study physiological responses of ABA-deficient mutant of barley (*Az34*) and its wild type (*Steptoe*) to elevated temperatures and 1-methylcyclopropan (1-MCP) treatment. The transpiration response of the plants differed both in the control and under 1-MCP treatment at higher temperatures. Significant differences were also revealed through a comparison of changes in the values of water potential, hydraulic conductance and ABA concentration in the barley plants (*Steptoe* and *Az34*). Our results support that ABA increases hydraulic conductance and maintains water potential in plants at a higher transpiration rate.

Key words: *Hordeum vulgare*, hydraulic conductance, stomata, hot and dry wind, ABA, ethylene, 1-MCP.