

УДК 631.547:631.811.982:582.683.2

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ НЕЧУВСТВИТЕЛЬНОГО К ЭТИЛЕНУ МУТАНТА АРАБИДОПСИСА *ETR1-1* ПРИ ЕГО ВЫРАЩИВАНИИ В ПЕСКЕ

© А.В. Коробова

Проведено сравнительное изучение ростовых показателей растений арабидопсиса исходной линии *Columbia (col)* и их этиленнечувствительных мутантов (*etr1-1*). Корни *etr1-1* растений были длиннее, и их количество не отличалось от такового растений *col*. Однако масса побегов и корней *etr1-1* по сравнению с *col* была на 25 и 31% ниже соответственно. У *etr1-1* растений зарегистрирован меньший диаметр ксилемных сосудов, что может быть причиной возможного снижения скорости притока воды и минеральных веществ и, как следствие, торможения накопления массы растений.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, *etr1-1*, этилен, корни, рост.

Этилен, один из фитогормонов, обладает многообразным спектром действия, но наиболее широко известна его способность ускорять старение, созревание плодов и опадение листьев [1]. Кроме того, было обнаружено повышение продукции этилена при некоторых стрессовых воздействиях [2], а также участие этиленового сигналинга в запуске защитных реакций растений [3]. На основании этого этилен, как и абсцизовую кислоту, относят к «гормонам стресса» [4]. Аргументом в пользу такой классификации является способность АБК и этилена ингибировать рост растений. Способность подавлять рост ярко проявляется у этилена при его действии на этиолированные проростки. Между тем исследования роста растений на более поздних стадиях онтогенеза показали, что этилен может стимулировать удлинение побега на свету и при затоплении [5]. Высказывается мнение о том, что в зависимости от условий и тканеспецифичности этилен может выступать как в качестве ингибитора, так и стимулятора роста [6]. Решение этой интригующей загадки требует дальнейшего изучения рострегулирующего действия этилена.

В последнее время уделяется много внимания влиянию этилена на ветвление корней и зависимости ростовой реакции корней на

этилен от уровня минерального питания [7]. При этом большинство экспериментов проводили с проростками, которые выращивали в чашках Петри на среде с агаром. Однако в такой среде содержится сахароза, способная повлиять на рост корней и изменить их гормональную реакцию [8], и, действительно, было показано, что ростовая реакция при выращивании растений на среде с агаром и в почве может радикально различаться [9]. В связи с этим цель нашей работы состояла в сравнительном изучении роста корней этиленнечувствительных мутантных растений арабидопсиса *etr1-1* и их исходного генотипа *Columbia (col)* при их выращивании в песчаной культуре. Использование данного субстрата позволяло легко отделять корни растений от песка и изучать их морфологические и анатомические особенности.

Материалы и методы исследования.

Объектами исследований были 3–4-недельные растения арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) исходного экотипа *col* и их этиленнечувствительного мутанта (*etr1-1*). Эксперименты проводили в лабораторных условиях. Для синхронизации прорастания семена арабидопсиса на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри помещали в холодильную

камеру на трое суток. Затем переносили в сосуды с песком, насыщенным питательным раствором Хогланда-Арнона. Растения выращивали в климатической камере (MLR-350H, Sanyo, Japan) при освещенности 120 ммоль фотонов/(м²·с), температуре 23/19°C (день/ночь), продолжительности светового периода 14 ч. Ежедневно сосуды с растениями поливали 3 мл раствора Хогланда-Арнона и дистиллированной водой в количестве, необходимом для поддержания относительной влажности песка на уровне 65%. У растений взвешивали побеги и корни, измеряли максимальную длину корней и фиксировали их сегменты на расстоянии 1,5 см от кончика (апикальная часть) и 1,5 см от корневой шейки (базальная часть) в 4%-м параформальдегиде. После промывки и дегидратации сегментов корней их заключали в метакрилатную смолу JB-4 («Electron Microscopy Sciences», США). Гистологические срезы толщиной 1,5 мкм готовили с помощью ротационного микротомы (HM 325, MICROM Laborgerate, Германия). Диаметр сосудов на цифровом изображении среза определяли с помощью программы Axio Vision 4.

Результаты и их обсуждение. Этиленнечувствительные мутантные растения росли медленнее, поэтому их сажали на неделю раньше исходных растений. Синхронизацию растений по стадии развития проводили, отбирая растения с одинаковым количеством листьев (8 штук на растение). Масса побега растений мутанта была на 25%, а корней – на 31% меньше, чем у растений исходного генотипа (рис.).

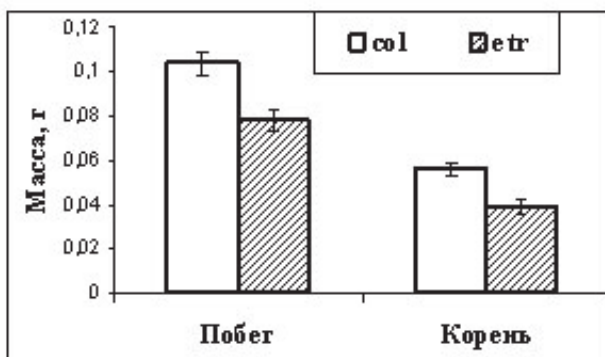


Рис. Масса сырого вещества побега и корня растений арабидопсиса исходной линии (*col*) и их этиленнечувствительных мутантов (*etr1-1*) ($n = 20$)

Таким образом, мутантные растения не только медленнее развивались, но и, достигнув той же стадии развития, что и исходные растения, уступали им по массе. Следовательно, полученные нами результаты свидетельствуют о необходимости чувствительности к этилену для нормального развития растений. В ранних сообщениях о *etr1-1* мутантах отмечалось, что они отличаются от исходной формы большими размерами листа [10]. Однако затем появились сообщения о том, что нечувствительные к этилену мутанты не отличаются по размерам от исходной формы [11], и, наконец, публикации, из иллюстраций к которым можно заметить, что *etr1-1* мутант уступает по весу исходной форме [12]. Это противоречие можно объяснить тем, что этилен может как стимулировать, так и ингибировать рост в зависимости, например, от влажности воздуха [13]. Так или иначе, в наших экспериментах масса побега и корня была меньше, чем у чувствительных к этилену растений. При этом отставание по массе корней было выражено сильнее, чем по массе побега, что привело к увеличению соотношения массы побега и корня у мутанта (1,8 и 2 у *col* и *etr1-1* соответственно). Такое изменение соотношения массы в пользу побега характерно для действия на растения цитокининов [14]. Ранее нами было показано более высокое содержание цитокининов у *etr1-1* растений [15], что можно объяснить известной способностью этилена активировать распад цитокининов [16].

Более высокое соотношение массы побег/корень у *etr1-1* растений могло способствовать снижению поглотительной способности корней и быть причиной более медленного накопления массы растения в целом по сравнению с чувствительными к этилену растениями. Вместе с тем способность корней поглощать воду и ионы зависит не столько от их массы, сколько от площади. Корни *etr1-1* растений были длиннее, чем у исходной формы (84 и 100 мм у корней *col* и *etr1-1* соответственно), а по количеству корней они не уступали *col* растениям. Таким образом, при меньшей массе корней, но их большей длине

у мутантных растений, по сравнению с исходной формой и примерно равном их количестве, поглотительная поверхность их корней не могла быть меньше, чем у растений *col*.

Что же могло быть причиной отрицательного влияния отсутствия чувствительности к этилену на накопления биомассы растениями? По внешнему виду корни мутантных растений были более тонкими. Эта особенность корневой системы нечувствительных к этилену растений вполне соответствует данным о том, что этилен тормозит удлинение корней и увеличивает их толщину [17]. Под влиянием ингибитора рецепции этилена МСР-1 корни растений сои также становились более тонкими и длинными [18]. Можно было предполагать, что уменьшение толщины корней сопровождалось уменьшением диаметра клеток. Измерение поперечного размера ксилемных сосудов подтвердило это предположение. Как видно из таблицы, диаметр сосудов как в апикальной, так и базальной части корней был достоверно меньше у растений *etr1-1* по сравнению с *col*.

Т а б л и ц а

Диаметр ксилемных сосудов в апикальной (1) и базальной (2) частях корней этилен-нечувствительных мутантных растений (*etr1-1*) и их исходного генотипа (*col*), мкм ($n=60$)

Генотипы	1	2
<i>etr1-1</i>	8,7*±0,8	9,8*±0,4
<i>col</i>	12±0,8	15±0,9

П р и м е ч а н и е. * – различия между средними значениями для генотипов достоверны при $<0,01$.

Наши результаты соответствуют данным о том, что этефон (препарат, который в растениях перерабатывается в этилен) вызывал увеличение диаметра сосудов [19]. Хорошо известно, что при уменьшении их диаметра гидравлическое сопротивление движению воды резко снижается [17]. Некоторые данные литературы указывают на нарушение водного обмена у *etr1-1* растений [20]. Эти результаты в сочетании с нашими данными позволяют предполагать, что причиной торможения на-

копления массы у нечувствительных к этилену растений может быть меньший диаметр их сосудов, в результате чего у растений нарушаются водный обмен и скорость притока воды с растворенными в ней макроэлементами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-01111-а.

ЛИТЕРАТУРА

- Pierik R., Sasidharan R., Voeselek L.A.C.J. Growth control by ethylene: adjusting phenotypes to the environment // J. Plant Growth Regul. 2007. V. 26. P. 188–200.
- Ракитин В.Ю., Прудникова О.Н., Карягин В.В., Ракитина Т.Я., Власов П.В., Борисова Т.А., Новикова Г.В., Мошков И.Е. Выделение этилена, содержание АБК и полиаминов в *Arabidopsis thaliana* при УФ-В стрессе // Физиология растений. 2008. Т. 55. С. 355–361.
- Ludwig A.A., Saitoh H., Felix G., Freymark G., Miersch O., Wasternack C., Boller T., Jones J.D., Romeis T. Ethylene-mediated cross-talk between calcium-dependent protein kinase and MAPK signaling controls stress responses in plants // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102. P. 10736–10741.
- Wolters H., Jurgens G. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development // Nat. Rev. Genet. 2009. V. 10. P. 305–317.
- Jackson M.B. Ethylene-promoted elongation: an adaptation to submergence stress // Annals of Botany. 2008. V. 101. P. 229–248.
- Vandenbussche F., Van Der Straeten D. One for all and all for one: cross-talk of multiple signals controlling the plant phenotype // J. Plant Growth Regul. 2007. V. 26. P. 178–187.
- Nacry P., Canivenc G., Muller B., Azmi A., Onckelen H.V., Rossignol M., Doumas P. A role for auxin redistribution in the response of the root system architecture to phosphate starvation in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2005. V. 138. P. 2061–2074.
- Leon P., Sheen J. Sugar and hormone connections // Trends Plant Sci. 2003. V. 8. P. 110–116.
- Chapman N., Whalley R., Lindsey K., Miller A. Water supply and not nitrate concentration determines

primary root growth in *Arabidopsis* // Plant, Cell and Environment. 2011. V. 34. P. 1630–1638.

10. Hua J., Chang C., Sun Q., Meyerowitz E.M. Ethylene insensitivity conferred by *Arabidopsis ERS* gene // Science. 1995. V. 269. P. 1712–1714.

11. Tholen D.J.H., Voeselek L.A.C.J., Poorter H. Ethylene insensitivity does not increase leaf area or relative growth rate in *Arabidopsis*, *Nicotiana tabacum*, and *Petunia x hybrida* // Plant Physiol. 2004. V. 134. P. 1803–1812.

12. LeNoble M.E., Spollen W.G., Sharp R.E. Maintenance of shoot growth by endogenous ABA: genetic assessment of the involvement of ethylene suppression // J. Exp. Bot. 2004. V. 55. P. 237–245.

13. Azuma T., Honda T., Sadai A., Sasayama D., Itoh K. Suppression and promotion of growth by ethylene in rice seedlings depends on ambient humidity // J. Plant Physiol. 2007. V. 164. P. 1683–1687.

14. Werner T., Nehnevajova E., Kollmer I., Novak O., Strnad M., Kramer U., Schmulling T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and *tobacco* // Plant Cell. 2010. V. 98. P. 10487–10492.

15. Васинская А.Н., Коробова А.В. Влияние этилена на рост побегов и корней, соотношение их био-

массы и содержание цитокининов в растениях арабидопсиса // Агробиохимия. 2012. № 5. С. 16–20.

16. Taverner E., Letham D.S., Wang J., Cornish E., Wilkins D.A. Influence of ethylene and cytokinin metabolism in relation to *Petunia corolla* senescence // Photochem. 1999. V. 51. P. 341–347.

17. Qin L., He J., Lee S.K., Dodd I.C. An assessment of the role of ethylene in mediating lettuce (*Lactuca sativa*) root growth at high temperatures // J. Exp. Bot. 2007. V. 58. P. 3017–3024.

18. Tucker M.L., Xue P., Yang R. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) concentration and ACC synthase expression in soybean roots, root tips, and soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*)-infected roots // J. Exp. Bot. 2010. V. 61. P. 463–472.

19. Sanchez-Bravo J., Ortun A.M., Perez-Gilbert M., Acosta M., Sabater F. Modification by ethylene of the cell growth pattern in different tissues of etiolated lupine hypocotyls // Plant Physiol. 1992. V. 98. P. 1121–1127.

20. Tanaka Y., Sano T., Tamaoki M., Nakajima N., Kondo N., Hasezawa S. Ethylene inhibits abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2005. V. 138. P. 2337–2343.

—●—

**MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL FEATURES
OF THE ETHYLENE-INSENSITIVE *ARABIDOPSIS* MUTANT *ETR1-1* ROOT
SYSTEM WHEN GROWN IN SAND**

© A.V. Korobova

This paper deals with a comparative study on the growth parameters of *Arabidopsis* wild-type plants *Columbia (col)* and their ethylene-insensitive mutants (*etr1-1*). *Etr1-1* roots were longer than in *col*, and their amount was the same. However, shoot and root masses of *etr1-1* were 25 pc and 31 pc less than in *col*, respectively. A smaller diameter of xylem vessels was recorded in *etr1-1* plants, responsible for a possible decrease in water and nutrients inflow rate and, consequently, for inhibition of plant mass accumulation.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, *etr1-1*, ethylene, roots, growth.