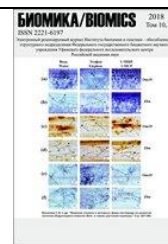




БИОМИКА/BIOMICS

ISSN 2221-6197 <http://biomics.ru>



АКВАПОРИНЫ, АБСЦИЗОВАЯ КИСЛОТА (АБК) И АУКСИНЫ (ИУК) В ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЕНАХ ДЕФИЦИТНОГО ПО АБК МУТАНТА ЯЧМЕНЯ И ЕГО ИСХОДНОГО СОРТА

¹Ахиярова Г.Р., ¹Шарипова Г.В., ¹Иванов И.И., *¹Веселов Д.С., ²Веселов С.Ю., ¹Кудоярова Г.Р.

¹Уфимский институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября, 69

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Башкирский государственный университет, Россия, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32

*E-mail: veselov@anrb.ru

Резюме

С помощью метода иммуногистохимической локализации оценено распределение аквапоринов, абсцизовой кислоты и ИУК в прорастающих семенах дефицитного по АБК мутанта ячменя (AZ34) и его исходного сорта (Steptoe). Обнаружено большее содержание аквапоринов в корнях прорастающих зародышей Steptoe по сравнению с AZ34. Выявлено более интенсивное окрашивание на АБК в coleorhize прорастающих семян зародышей Steptoe. Не зафиксировано отличий по окрашиванию на ИУК между Steptoe и AZ34 ни в coleorhize, ни в корнях растений. Обсуждается влияние аквапоринов, АБК и ИУК на прорастание семян ячменя.

Ключевые слова: ячмень, АБК, ИУК, аквапорины, прорастание семян.

Цитирование: Ахиярова Г.Р., Шарипова Г.В., Иванов И.И., Веселов Д.С., Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р. Аквапорины, абсцизовая кислота (АБК) и ауксины (ИУК) в прорастающих семенах дефицитного по АБК мутанта ячменя и его исходного сорта. Биомика. 2018. Т. 10(4). С. 357-364. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-46

AQUAPORINS, ABSCISIC ACID (ABA) AND AUXIN (IAA) IN GERMINATING SEEDS OF ABA-DEFICIENT BARLEY MUTANT AND ORIGINAL VARIETY

¹Akhiyarova G.R., ¹Sharipova G.V., ¹Ivanov I.I., *¹Veselov D.S., ²Veselov S.Yu., ¹Kudoyarova G.R.

¹Ufa Institute of Biology, UFRS, RAS, Russia, 450054, Ufa, Prospekt Oktyabrya, 69

²Bashkir State University, Russia, 450076, Ufa, Zaki-Validi St., 32

*E-mail: veselov@anrb.ru

Resume

Using the method of immunohistochemical localization the distribution of aquaporins, abscisic acid and IAA in the germinating seeds of the ABA-deficient mutant of barley (AZ34) and its original variety (Steptoe) was estimated. A high content of aquaporins in the roots of germinating embryos of Steptoe was found in comparison with AZ34. Revealed more intense staining of coleorhiza on ABA in germinating seeds embryo Steptoe. No documented differences in staining for IAA between Steptoe and AZ34. The effect of aquaporins, ABA and IAA on seed germination of barley was discussed.

Keywords: barley, IAA, ABA, aquaporins, germinating seeds

Citation: Akhiyarova G.R., Sharipova G.V., Ivanov I.I., Veselov D.S., Veselov S.Yu., Kudoyarova G.R. Aquaporins, abscisic acid (ABA) and auxin (IAA) in germinating seeds of ABA-deficient barley mutant and original variety. *Biomics*. 2018. V.10(4). P. 357-364. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-46 (In Russian)

Введение

Водные каналы аквапорины играют важную роль в диффузии воды через мембраны растений [Chaumont, Tyerman, 2014; Maurel et al., 2015]. Их присутствие особенно заметно в тех клетках и тканях, через которые идет быстрый поток воды (например, в зоне поглощения корнями воды [Hachez et al., 2006; Sharipova et al., 2016; Veselov et al., 2018], удлиняющихся клетках боковых корней [Ахиярова и др. (Akhiyarova et al.), 2017], области сосудов и устьичных клетках [Веселов и др. (Veselov et al.), 2019]). Поступление воды в прорастающие семена растений – важный процесс, обеспечивающий активацию метаболизма и рост за счет увеличения объема клеток [Обручева (Obrucheva), 2012]. Тем не менее, публикации, посвященные роли аквапоринов в процессе прорастания семян, немногочисленны, о чем свидетельствует опубликованный недавно обзор Н.В. Обручевой с соавторами, посвященный водному обмену при прорастании семян [Обручева и др. (Obrucheva et al.), 2017]. Основное внимание уделяется присутствию в прорастающих семенах аквапоринов, локализованных в вакуолях (так называемых TIP – tonoplast intrinsic proteins). TIP аквапорины были обнаружены в прорастающих семенах арабидопсиса [Hunter et al., 2007], табака [Zheng, Staehelin, 2011], ячменя и гороха [Olbrich et al., 2007]. Аквапоринам, локализованным в плазмолемме (PIP) уделялось меньше внимания. Объектом исследований PIP аквапоринов в прорастающих семенах в большинстве работ служили двудольные растения (арабидопсис [Willigen et al., 2006], бобы [Novikova et al., 2014], горох [Веселова, Веселовский, (Veselova, Veselovskii), 2006]). Единственная работа по PIP аквапоринам прорастающих семян однодольных растений, которую нам удалось найти, была посвящена рису [Liu et al., 2013]. Нам также не удалось обнаружить сообщений об аквапоринах в прорастающих семенах, где бы для их изучения использовали иммуногистохимический подход, позволяющий выявлять присутствие аквапоринов в отдельных клетках [Hachez et al., 2006; Sharipova et al., 2016]. Дефицит знаний в области изучения роли аквапоринов при прорастании семян проявляется также в отсутствии сведений об участии гормонов в регуляции их уровня. Между тем, роль гормонов при прорастании хорошо известна и интенсивно изучается (см. обзор Обручевой и др., 2017 и ссылки в нем / see review Obrucheva et al., 2017 and references inside). Кроме того, показана способность гормонов

влиять на уровень экспрессии аквапоринов (АБК [Mahdieh, Mostajeran, 2009] и ауксинов [Péret et al., 2012]).

В данной работе мы провели сравнительное изучение иммунолокализации гормонов и аквапоринов из класса PIP2 в клетках зародышевого корня и coleorizы в процессе прорастания дефицитного по АБК мутанта ячменя Az34 и его родительского генотипа Steptoe с целью выявления возможной связи уровня аквапоринов с содержанием ИУК и АБК.

Материалы и методы

Семена растений ячменя сорта Steptoe и его мутанта Az34 стерилизовали в 2% растворе гипохлорита натрия в течение 10 минут. После этого семена тщательно промывали, переносили в стаканы с водой, ставили в темноту и интенсивно аэрировали. Образцы для иммунолокализации брали через 13 часов после замачивания семян. Фиксацию растительного материала проводили 4% раствором карбодиимида (Sigma, Япония), приготовленном на 0,1 М фосфатном буфере pH 7,2-7,4 (4 ч). Для дальнейшей постфиксации тканей использовали смесь 4% параформальдегида (Riedel-de-Haën, Германия) и 0,1 % глутаральдегида (Sigma, Германия) на 0,1 М фосфатном буфере (в течение ночи). После этапов обезвоживания в спиртах, образцы заливали в гидрофобную метакрилатную смолу JB4 (Electron Microscopy Sciences, США). Гистологические срезы толщиной 1,5 мкм получали на ультрамикротоме (HM 325, MICROM Laborgeräte, Германия) и помещали на предметные стекла. Для иммунолокализации использовали специфические антитела, которые успешно использовали ранее для иммунолокализации ИУК [Высоцкая и др., 2007; Seldimirova et al., 2016], АБК [Sharipova et al., 2016; Veselov et al., 2018] и аквапоринов [Sharipova et al., 2016]. Поликлональные антитела против аквапоринов плазмалеммы HvPIP2s были получены при иммунизации кроликов олигопептидами, соответствующими N-области HvPIP2;1 [Katsuhara et al., 2002], HvPIP2;2 [Horie et al., 2011], HvPIP2;3 и HvPIP2;5 [Sharipova et al., 2016]. Разведения антител к гормонам (1:50 для ИУК и 1:80 для АБК) и к аквапоринам (1:50) готовили на ФоЖТ (0,1 М фосфатный буфер, содержащий 0,2% желатина и 0,05% Твина 20). Для оценки специфичности окрашивания часть срезов обрабатывали неиммунной сывороткой (не содержащей антитела к исследуемым гормонам и аквапоринам). Вторичные

антитела, меченные коллоидным золотом (Aurion, USA) в разведении 1:40 наносили после трехкратной промывки в 0,1 М фосфатном буфере с 0,05% Твином 20. Для детекции гормонов и аквапоринов на гистологические срезы наносили препарат серебряного усилителя (Aurion, USA). За развитием окрашивания наблюдали в световой микроскоп (Carl Zeiss, Германия), оснащенный цифровой камерой AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Германия).

Для количественной оценки иммуногистохимического окрашивания измеряли среднюю интенсивность окрашивания пикселей в представляющей интерес области цифровых снимков анализируемых срезов с помощью программы ImageJ (v.1_48, National Institutes of Health, USA) по шкале в 256 значений от белого (0) до самого черного (255).

Все опыты проводились три раза. На рисунках представлены средние всех значений и их стандартные отклонения. Все статистические

расчеты проводили с помощью стандартных программ Excel.

Результаты и обсуждение

Иммуногистохимическая локализация с помощью специфических антител выявила присутствие аквапоринов класса HvPIP2, АБК и ИУК в первичных корнях и coleoptile зародышей обоих генотипов.

Количественная оценка интенсивности окрашивания на аквапорины выявила большее содержание HvPIP2;1, HvPIP2;2, HvPIP2;3, HvPIP2;5 в корнях прорастающих зародышей Steptoe по сравнению с Az34 (различия между генотипами по аквапоринам достоверны при $p \leq 0.5$, парный t-test) (Рис. 1). По уровню аквапоринов в coleoptile различий между генотипами не было обнаружено (данные не приводятся).

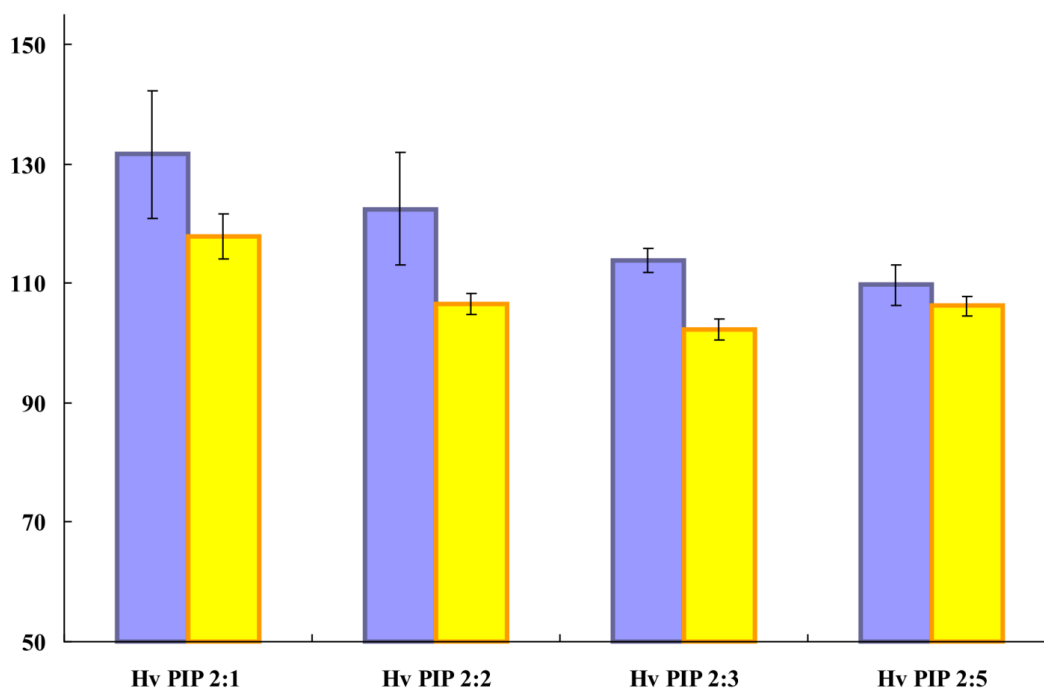


Рис.1. Количественная оценка иммуногистохимического окрашивания на аквапорины в корнях прорастающих зародышей ячменя сорта Steptoe и его дефицитного по АБК мутанта Az34.

Fig. 1. Quantification of immunohistochemical staining for aquaporins in the roots of germinating embryos of barley variety Steptoe and ABA-deficient mutant Az34.

Окрашивание на АБК было более интенсивным в coleoptile прорастающих семян зародышей Steptoe по сравнению с Az34 (различия между генотипами по аквапоринам достоверны при

$p \leq 0.5$, t-test) (Рис. 2). Интенсивность окрашивания первичных корней на АБК была одинаковой у зародышей обоих генотипов (данные не приводятся).

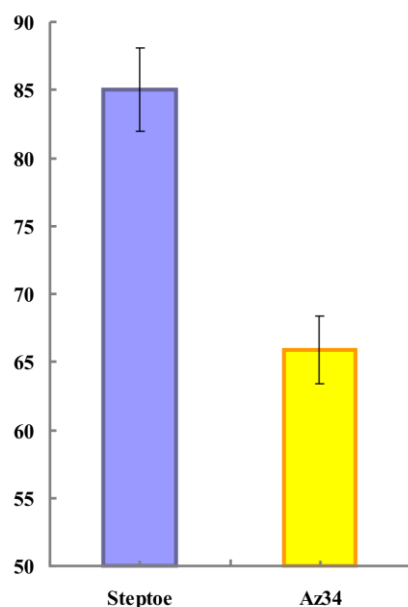


Рис.2. Количественная оценка иммуногистохимического окрашивания на АБК в coleorhiza прорастающих зародышей ячменя сорта Steptoe и его дефицитного по абсцизовой кислоте мутанта Az34.

Fig. 2. Quantification of immunohistochemical staining for abscisic acid in coleorhiza of germinating embryos of barley variety Steptoe and ABA-deficient mutant Az34.

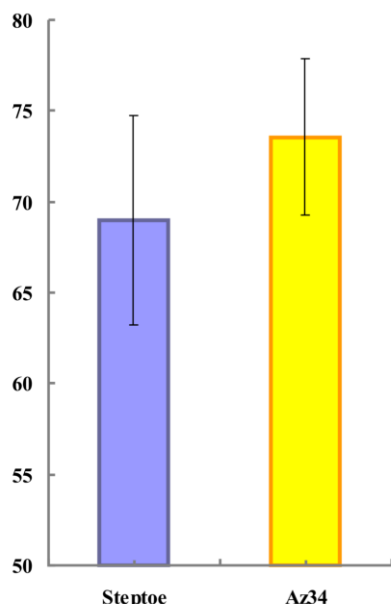


Рис.3. Количественная оценка иммуногистохимического окрашивания на ИУК в coleorhiza прорастающих зародышей ячменя сорта Steptoe и его дефицитного по АБК мутанта Az34.

Fig. 3. Quantification of immunohistochemical staining for IAA in coleorhiza of germinating embryos of barley variety Steptoe and ABA-deficient mutant Az34.

По окрашиванию на ИУК не были выявлены различия между Steptoe и Az34 ни в coleorhiza (рис. 3), ни в корнях (данные не приводятся).

В наших опытах иммуногистохимическая локализация с использованием антител к PIP2 аквапоринам выявила присутствие водных каналов этого класса в coleorhiza и первичных корнях прорастающих зародышей ячменя. В них уровень окрашивания на HvPIP2 аквапорины был не ниже, чем в корнях [Sharipova et al., 2016; Veselov et al., 2018] или листьях проростков [Веселов и др. (Veselov et al.), 2019]. В начале прорастания семян арабидопсиса был продемонстрирован низкий уровень экспрессии генов, кодирующих аквапорины плазмолеммы [Willigen et al., 2006]. Очевидно, аквапорины могли быть синтезированы ранее в процессе созревания семян. С помощью Western blot анализа в начале прорастания семян арабидопсиса был показан довольно низкий уровень PIP2 белков, и только при появлении корней содержание аквапоринов этого класса возрастало [Willigen et al., 2006]. Это противоречие, по сравнению с нашими результатами, можно объяснить тем, что стандартизацию препарата для электрофореза проводили по суммарной концентрации белков, значительную долю которых в начале прорастания составляли запасные белки. По мере их расходования и роста корней доля аквапоринов в препарате должна была возрасти, что и могло быть причиной увеличения уровня их иммунодетекции. В наших опытах мы анализировали иммуногистохимическое окрашивание непосредственно корней и coleorhiza, что позволило выявить его высокий уровень уже через 13 часов после начала прорастания.

Содержание всех изученных PIP2 аквапоринов ячменя было ниже в корнях прорастающих зародышей дефицитного по АБК мутанта ячменя Az34 по сравнению со Steptoe (Рис. 2). Влияние АБК на активность водных каналов интенсивно изучается [например, Wan et al., 2004; Mahdih, Mostajeran, 2009]. Известно, что этот гормон способен повышать уровень аквапоринов в сформированных корнях, что проявлялось в опытах с обработкой растений экзогенным гормоном [Sharipova et al., 2016]. В экспериментах с повышением температуры также было показано возрастание уровня PIP2;2 на фоне накопления АБК в корнях и отсутствие изменений в содержании аквапоринов у дефицитного по АБК мутанта, не способного накапливать этот гормон при стрессе [Veselov et al., 2018]. При прорастании семян, пониженная способность мутанта к накоплению АБК также проявлялась в более слабом окрашивании coleorhiza мутанта ячменя Az34 по сравнению со

Step toe. Вместе с тем, сложность интерпретации этих результатов заключалась в том, что повышенный уровень аквапоринов у Step toe был нами зарегистрирован в корнях, а АБК – в колеоризе. Мы полагаем, что это могло быть связано с тем, что синтез аквапоринов происходил гораздо раньше (вероятно в конце формирования семян), когда уровень АБК у растений Step toe мог быть повышенным не только в колеоризе, но и в корнях.

Влияние ауксинов на накопление аквапоринов изучено в меньшей степени по сравнению с АБК. Тем не менее, есть данные о способности этих гормонов влиять на уровень экспрессии генов, кодирующих аквапорины [Peret et al., 2012]. Однако в наших экспериментах мы не обнаружили корреляции между уровнем PIP2 аквапоринов в корнях прорастающих семян изученных генотипов и содержанием в них ИУК.

Ранее нами было показано, что на поздних стадиях прорастания более высокий уровень АБК в кончиках корней растений Step toe способствовал снижению уровня ауксинов [Ахиярова и др. (Akhiyarova et al.), 2017]. При прорастании семян нам не удалось выявить этой связи. Очевидно, влияние АБК на уровень ауксинов проявляется не на всех стадиях развития.

Также хорошо известна способность АБК ингибировать прорастание семян, и при работе со свежесобранными семенами нами было обнаружена задержка в прорастании семян Step toe по сравнению с семенами Az34 [Ахиярова и др. (Akhiyarova et al.), 2017a]. Семена Step toe нуждались в стратификации для стимуляции прорастания, что свидетельствовало о том, что свежесобранные семена растений ячменя находятся в состоянии покоя [Barrero et al., 2009]. В данных опытах мы работали с семенами, которые хранились в течение двух лет, и за этот период они вышли из состояния покоя. Тем не менее, семена Step toe не опережали семена Az34 по скорости прорастания, несмотря на повышенный уровень аквапоринов в их корнях. Создается впечатление, что аквапорины не играют решающей роли в начале прорастания семян, что соответствует некоторым данным литературы [Обручева и др. (Obrycheva et al.), 2017]. Известно, что прорастание семян связано с образованием активных форм кислорода, способствующих разрыхлению покровных тканей и прорастания корней [Zhang et al., 2014]. Ауксины стимулируют образование АФК в корнях [Schopfer et al., 2002]. Таким образом, одинаковый уровень ауксинов, выявленный нами в корнях и колеоризе в начале прорастания зародышей обоих генотипов, мог способствовать выравниванию скорости прорастания их семян. Тем не менее, мы выявили пониженный уровень PIP2 у дефицитного по АБК мутанта ячменя,

что указывает на участие этого гормона в регуляции уровня аквапоринов в корнях прорастающих зародышей. Требуются более детальные исследования для обнаружения значимости этого эффекта при прорастании.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №17-04-01477).

Литература

- Ахиярова Г.Р., Шарипова Г.В., Высокая Л.Б., Иванов И.И., Веселов С.Ю., Веселов Д.С. Аквапорины в примордиях боковых корней дефицитного по АБК мутанта ячменя и его исходного сорта. *Известия Уфимского научного центра РАН*. 2017. № 3 (1). С. 13-16.
- Ахиярова Г.Р., Шарипова Г.В., Веселов С.Ю., Веселов Д.С. Содержание гормонов в клетках зародыша и влияние перекиси водорода и абсцизовой кислоты на прорастание зерновок пшеницы и ячменя. Материалы II Международного симпозиума «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и Международной научной школы «Роль активных форм кислорода в жизни растений» (Уфа, 26 июня – 1 июля 2017 г.). ред. И.В. Максимов и др. Уфа: ООО «Первая типография», 2017, с. 56-58.
- Веселов Д. С., Шарипова Г. В., Ахиярова Г. Р., Иванов Р. С., Кудоярова Г. Р. Влияние засоления на устьичную проводимость и количество аквапоринов в клетках листьев ячменя. *Агрохимия*. 2019. № 1. С. 71–75.
- Веселова Т.В., Веселовский В.А. Возможность участия аквапоринов в поглощении воды семенами гороха разного качества. *Физиология растений*. 2006. Т. 53. № 1. С. 106-112.
- Высокая Л.Б., Веселов С.Ю., Веселов Д.С., Филиппенко В.Н., Иванов Е.А., Иванов И.И., Г.Р. Кудоярова. Иммуногистохимическая локализация и количественное определение ИУК при исследованиях регуляции роста корней. *Физиология растений*. 2007. Т. 54. № 6. С. 926-931.
- Обручева Н.В. Переход от гормональной к негормональной регуляции на примере выхода семян из покоя и запуска прорастания. *Физиология растений*. 2012. Т. 59. № 4. С. 591-600.
- Обручева Н.В., Синькевич И.А., Литягина С.В., Новикова Г.В. Особенности водного режима при прорастании семян. *Физиология растений*. 2017. Т. 64. № 4. С. 311-320. doi: 10.7868/S0015330317030137
- Barrero JM, Talbot MJ, White RG, Jacobsen JV, Gubler F. Anatomical and transcriptomic studies of the coleorhiza reveal the importance of this tissue in

- regulating dormancy in barley. *Plant Physiol.* 2009. V. 150. P. 1006-1021. doi: 10.1104/pp.109.137901
- Chaumont F, Tyerman SD. Aquaporins: highly regulated channels controlling plant water relations. *Plant Physiol.* 2014. V.164. P. 1600-1618. doi: 10.1104/pp.113.233791
- Hachez C, Moshelion M, Zelazny E, Cavez D, Chaumont F. Localization and quantification of plasma membrane aquaporin expression in maize primary root: a clue to understanding their role as cellular plumbers. *Plant Mol Biol.* 2006. V. 62. P. 305-323. doi: 10.1007/s11103-006-9022-1
- Horie T, Kaneko T, Sugimoto G, Sasano S, Panda SK, Shibasaka M, Katsuhara M. Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots. *Plant Cell Physiol.* 2011. V. 52. P. 663-675. doi:10.1093/pcp/pcr027
- Hunter P.R., Craddock C.P., Benedetto S.D., Roberts L.M., Frigerio L. Fluorescent reporter proteins for the tonoplast and the vacuolar lumen identify a single vacuolar compartment in Arabidopsis cells. *Plant Physiol.* 2007. V. 145. P. 1371-1382. doi: 10.1104/pp.107.103945
- Katsuhara M, Akiyama Y, Koshio K, Shibasaka M, Kasamo K. Functional analysis of water channels in barley roots. *Plant Cell Physiol.* 2002. V. 43. P. 885-893. doi: 10.1093/pcp/pcf102
- Liu C, Fukumoto T, Matsumoto T, Gena P, Frascaria D, Kaneko T, Katsuhara M, Zhong S, Sun X, Zhu Y, Iwasaki I, Ding X, Calamita G, Kitagawa Y. Aquaporin OsPIP1;1 promotes rice salt resistance and seed germination. *Plant Physiol Biochem.* 2013. V. 63. P. 151-158. doi: 10.1016/j.plaphy.2012.11.018
- Mahdieh M, Mostajeran A. Absciscic acid regulates root hydraulic conductance via aquaporin expression modulation in *Nicotiana tabacum*. *J Plant Physiol.* 2009. V. 166. P. 1993-2003. doi: 10.1016/j.jplph.2009.06.001
- Maurel C, Boursiac Y, Luu DT, Santoni V, Shahzad Z, Verdoucq L. Aquaporins in plants. *Physiol Rev.* 2015. V. 95. P. 1321-1358. doi: 10.1152/physrev.00008.2015
- Novikova GV, Tournaire-Roux C, Sinkevich IA, Lityagina SV, Maurel C, Obroucheva N. Vacuolar biogenesis and aquaporin expression at early germination of broad bean seeds. *Plant Physiol Biochem.* 2014. V. 82. P. 123-132. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.05.014
- Olbrich A., Hillmer S., Hinz G., Oliviusson P., Robinson D.G. Newly formed vacuoles in root meristems of barley and pea seedlings have characteristics of both protein storage and lytic vacuoles. *Plant Physiol.* 2007. V. 145. P. 1383-1394. doi: 10.1104/pp.107.108985
- Péret B, Li G, Zhao J, Band LR, Voß U, Postaire O, Luu DT, Da Ines O, Casimiro I, Lucas M, Wells DM, Lazzerini L, Nacry P, King JR, Jensen OE, Schäffner AR, Maurel C, Bennett MJ. Auxin regulates aquaporin function to facilitate lateral root emergence. *Nat Cell Biol.* 2012. V. 14. P. 991-998. doi: 10.1038/ncb2573
- Seldimirova OA, Kudoyarova GR, Kruglova NN, Zaytsev DYU, Veselov SYU. Changes in distribution of zeatin and indole-3-acetic acid in cells during callus induction and organogenesis in vitro in immature embryo culture of wheat. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant.* 2016. V. 52. P. 251-264. doi: 10.1007/s11627-016-9767-4
- Schopfer P, Liskay A, Bechtold M, Frahy G, Wagner A. Evidence that hydroxyl radicals mediate auxin-induced extension growth. *Planta.* 2002. P. 214. P. 821-828. doi: 10.1007/s00425-001-0699-8
- Sharipova G., Veselov D., Kudoyarova G., Fricke W., Dodd I., Katsuhara M., Furuichi T., Ivanov I., Veselov S. Exogenous application of abscisic acid (ABA) increases root and cell hydraulic conductivity and abundance of some aquaporin isoforms in the ABA deficient barley mutant Az34. *Ann Bot.* 2016. V. 118. P. 777-785. doi: 10.1093/aob/mcw117
- Veselov D.S., Sharipova G.V., Veselov S.Yu, Dodd I.C., Ivanov I., Kudoyarova G.R. Rapid changes in root HvPIP2;2 aquaporins abundance and ABA concentration are required to enhance root hydraulic conductivity and maintain leaf water potential in response to increased evaporative demand. *Func Plant Biol.* 2018. V. 45. P. 143-149. doi: 10.1071/FP16242
- Wan X, Steudle E, Hartung W. Gating of water channels (aquaporins) in cortical cells of young corn roots by mechanical stimuli (pressure pulses): effects of ABA and of HgCl₂. *J Exp Bot.* 2004. V. 55. P. 411-422. doi: 10.1093/jxb/erh051
- Willigen C.V., Postaire O., Tournaire-Roux C., Boursiac Y., Maurel C. Expression and inhibition of aquaporins in germinating Arabidopsis seeds. *Plant Cell Physiol.* 2006. V. 47. P. 1241-1250. doi: 10.1093/pcp/pcj094
- Zhang Y, Chen B, Xu Z, Shi Z, Chen S, Huang X, Chen J, Wang X. Involvement of reactive oxygen species in endosperm cap weakening and embryo elongation growth during lettuce seed germination. *J Exp Bot.* 2014. V. 65. P. 3189-3200. doi: 10.1093/jxb/eru167
- Zheng, H. and Staehelin, L.A. Protein storage vacuoles are transformed into lytic vacuoles in root meristematic cells of germinated seedlings by multiple, cell type-specific mechanisms. *Plant Physiol.* 2011. V. 155. P. 2023-2035. doi: 10.1104/pp.110.170159

References

- Akhiyarova G.R., Sharipova G.V., Vysotskaya L.B., Ivanov I.I., Veselov S.Yu., Veselov D.S. Water channels aquaporins in primordia of lateral roots in ABA deficient barley mutant and its parental genotype. *Izvestia Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN.* 2017. № 3 (1). P. 13-16.

- Akhiyarova G.R., Sharipova G.V., Veselov S.Yu., Veselov D.S. The content of hormones in the embryo cells and the effect of hydrogen peroxide and abscisic acid on the germination of wheat and barley grains. Proceedings of the Second International symposium «Molecular aspects of plant redox metabolism» (Ufa, June 26 – July 1, 2017). Eds Maksimov et al., Ufa: “Pervaya tipografiya” Ltd, 2017, P. 56-59.
- Barrero JM, Talbot MJ, White RG, Jacobsen JV, Gubler F. Anatomical and transcriptomic studies of the coleorhiza reveal the importance of this tissue in regulating dormancy in barley. *Plant Physiol.* 2009. V. 150. P. 1006-1021. doi: 10.1104/pp.109.137901
- Chaumont F, Tyerman SD. Aquaporins: highly regulated channels controlling plant water relations. *Plant Physiol.* 2014. V.164. P. 1600-1618. doi: 10.1104/pp.113.233791
- Hachez C, Moshelion M, Zelazny E, Cavez D, Chaumont F. Localization and quantification of plasma membrane aquaporin expression in maize primary root: a clue to understanding their role as cellular plumbers. *Plant Mol Biol.* 2006. V. 62. P. 305-323. doi: 10.1007/s11103-006-9022-1
- Horie T, Kaneko T, Sugimoto G, Sasano S, Panda SK, Shibasaka M, Katsuhara M. Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots. *Plant Cell Physiol.* 2011. V. 52. P. 663–675. doi:10.1093/pcp/pcr027
- Hunter P.R., Craddock C.P., Benedetto S.D., Roberts L.M., Frigerio L. Fluorescent reporter proteins for the tonoplast and the vacuolar lumen identify a single vacuolar compartment in Arabidopsis cells. *Plant Physiol.* 2007. V. 145. P. 1371–1382. doi: 10.1104/pp.107.103945
- Katsuhara M, Akiyama Y, Koshio K, Shibasaka M, Kasamo K. Functional analysis of water channels in barley roots. *Plant Cell Physiol.* 2002. V. 43. P. 885–893. doi: 10.1093/pcp/pcf102
- Liu C, Fukumoto T, Matsumoto T, Gena P, Frascaria D, Kaneko T, Katsuhara M, Zhong S, Sun X, Zhu Y, Iwasaki I, Ding X, Calamita G, Kitagawa Y. Aquaporin OsPIP1;1 promotes rice salt resistance and seed germination. *Plant Physiol Biochem.* 2013. V. 63. P. 151-158. doi: 10.1016/j.plaphy.2012.11.018
- Mahdieh M, Mostajeran A. Abscisic acid regulates root hydraulic conductance via aquaporin expression modulation in *Nicotiana tabacum*. *J Plant Physiol.* 2009. V. 166. P. 1993-2003. doi: 10.1016/j.jplph.2009.06.001
- Maurel C, Boursiac Y, Luu DT, Santoni V, Shahzad Z, Verdoucq L. Aquaporins in plants. *Physiol Rev.* 2015. V. 95. P. 1321-1358. doi: 10.1152/physrev.00008.2015
- Novikova GV, Tournaire-Roux C, Sinkevich IA, Lityagina SV, Maurel C, Obroucheva N. Vacuolar biogenesis and aquaporin expression at early germination of broad bean seeds. *Plant Physiol Biochem.* 2014. V. 82. P. 123-132. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.05.014
- Obroucheva N.V. Transition from hormonal to nonhormonal regulation as exemplified by seed dormancy release and germination triggering. Russian Journal of Plant Physiology. 2012. V. 59. № 4. P. 546-555.
- Obroucheva N.V., Sinkevich I.A., Lityagina S.V., Novikova G.V. Water relations in germinating seeds. Russian Journal of Plant Physiology. 2017. V. 64. № 4. P. 625-633.
- Olbrich, A., Hillmer, S., Hinz, G., Oliviusson, P., Robinson, D.G. Newly formed vacuoles in root meristems of barley and pea seedlings have characteristics of both protein storage and lytic vacuoles. *Plant Physiol.* 2007. V. 145. P. 1383–1394. doi: 10.1104/pp.107.108985
- Péret B, Li G, Zhao J, Band LR, Voß U, Postaire O, Luu DT, Da Ines O, Casimiro I, Lucas M, Wells DM, Lazzerini L, Nacry P, King JR, Jensen OE, Schäffner AR, Maurel C, Bennett MJ. Auxin regulates aquaporin function to facilitate lateral root emergence. *Nat Cell Biol.* 2012. V. 14. P. 991-998. doi: 10.1038/ncb2573
- Seldimirova OA, Kudoyarova GR, Kruglova NN, Zaytsev DYU, Veselov SYU. Changes in distribution of zeatin and indole-3-acetic acid in cells during callus induction and organogenesis in vitro in immature embryo culture of wheat. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant.* 2016. V. 52. P. 251-264. doi: 10.1007/s11627-016-9767-4
- Schopfer P, Liskay A, Bechtold M, Frahy G, Wagner A. Evidence that hydroxyl radicals mediate auxin-induced extension growth. *Planta.* 2002. P. 214. P. 821-828. doi: 10.1007/s00425-001-0699-8
- Sharipova G., Veselov D., Kudoyarova G., Fricke W., Dodd I., Katsuhara M., Furuichi T., Ivanov I., Veselov S. Exogenous application of abscisic acid (ABA) increases root and cell hydraulic conductivity and abundance of some aquaporin isoforms in the ABA deficient barley mutant Az34. *Ann Bot.* 2016. V. 118. P. 777-785. doi: 10.1093/aob/mcw117
- Veselov D.S., Sharipova G.V., Akhiyarova G.R., Ivanov R.S., Kudoyarova G.R. Effect of salinization on stomatal conductance and amount of aquaporins in barley leaf cells. *Agricultural Chemistry.* 2019. № 1. P. 71–75.
- Veselov D.S., Sharipova G.V., Veselov S.Yu., Dodd I.C., Ivanov I., Kudoyarova G.R. Rapid changes in root HvPIP2;2 aquaporins abundance and ABA concentration are required to enhance root hydraulic conductivity and maintain leaf water potential in response to increased evaporative demand. *Func Plant Biol.* 2018. V. 45. P. 143–149. doi: 10.1071/FP16242
- Veselova T.V., Veselovsky V.A. Possible involvement of aquaporins in water uptake by pea seeds differing in

quality. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2006. V. 53. № 1. P. 96-101.

Vysotskaya L.B., Veselov D.S., Filippenko V.N., Ivanov E.A., Ivanov I.I., Kudoyarova G.R., Veselov S.Yu. Immunohistological localization and quantification of IAA in studies of root growth regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2007. V. 54. № 6. P. 827-832.

Wan X, Steudle E, Hartung W. Gating of water channels (aquaporins) in cortical cells of young corn roots by mechanical stimuli (pressure pulses): effects of ABA and of HgCl₂. *J Exp Bot*. 2004. V. 55. P. 411-422. doi: 10.1093/jxb/erh051

Willigen C.V., Postaire O., Tournaire-Roux C., Boursiac Y., Maurel C. Expression and inhibition of aquaporins in germinating *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell Physiol*. 2006. V. 47. P. 1241-1250. doi: 10.1093/pcp/pcj094

Zhang Y, Chen B, Xu Z, Shi Z, Chen S, Huang X, Chen J, Wang X. Involvement of reactive oxygen species in endosperm cap weakening and embryo elongation growth during lettuce seed germination. *J Exp Bot*. 2014. V. 65. P. 3189-3200. doi: 10.1093/jxb/eru167

Zheng, H. and Staehelin, L.A. Protein storage vacuoles are transformed into lytic vacuoles in root meristematic cells of germinated seedlings by multiple, cell type-specific mechanisms. *Plant Physiol*. 2011. V. 155. P. 2023-2035. doi: 10.1104/pp.110.170159