



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



ВЛИЯНИЕ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ НА ИНИЦИАЦИЮ И ДАЛЬНЕЙШЕЕ РАЗВИТИЕ БОКОВЫХ КОРНЕЙ У РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ

Ахиярова Г.Р.¹, Веселов Д.С.¹, Абсалямова Г.Б.², Веселов С.Ю.², Кудоярова Г.Р.¹

¹Уфимский Институт биологии РАН, Уфа, e-mail: akhیارova@rambler.ru

²Башкирский государственный университет, Уфа

Резюме

Проведено сравнительное изучение ветвления корней у дефицитного по абсцизовой кислоте (АБК) мутанта ячменя AZ34 и его исходного сорта Steptoe, а также влияния на этот процесс экзогенной АБК. АБК подавляла превращение примордиев в развитые боковые корни, что проявлялось как в более высоком соотношении количества боковых корней к количеству примордиев у дефицитного по АБК мутанта, так и в снижении количества боковых корней под влиянием экзогенной АБК у растений обоих генотипов. Действие данного гормона на формирование примордиев было неоднозначным. С одной стороны, у дефицитного по АБК мутанта было меньше примордиев, что предположительно указывает на участие АБК в защите меристемы корня от воздействия низких температур при стратификации. С другой стороны, экзогенная АБК подавляла формирование примордиев, что быстрее проявлялось и было сильнее выражено у растений Steptoe по сравнению с растениями AZ34. Обсуждается возможная зависимость действия АБК на закладку боковых корней от концентрации этого гормона и условий выращивания.

Ключевые слова: ячмень (*Hordeum vulgare*), АБК, примордии боковых корней, боковые корни

THE EFFECT OF ABSCISIC ACID ON THE INITIATION AND FURTHER DEVELOPMENT OF THE LATERAL ROOTS OF BARLEY PLANTS

Akhیارova G.R.¹, Veselov D.S.¹, Absalyamova G.B.², Veselov S.Yu.², Kudoyarova G.R.¹

¹Ufa Institute of Biology of RAS, Ufa, email: akhیارova@rambler.ru

²Bashkir State University, Ufa, Russia

Resume

Development of lateral roots and effect of exogenously applied ABA on this process were investigated in ABA-deficient barley mutant AZ34 and its parental cultivar Steptoe. ABA was shown to exert inhibitory effect on emergence of the lateral root primordia through overlaying tissues that was expressed in the increased lateral root/primordia ratio in mutant AZ34 plants and in the decrease in lateral root number under ABA treatment in roots of both genotypes. The action of this hormone on the process of primordia initiation was really contradictory. On the one hand, mutant AZ34 plants had less number of lateral root primordia presumably indicating the importance of ABA in protection of root meristem tissues against low temperatures during their stratification. On the other hand, ABA treatment decreased initiation of primordia that was more pronounced in parental Steptoe plants than in AZ34. The possibility is discussed that the action of ABA on root branching depends on its concentration and environmental conditions.

Keywords: barley (*Hordeum vulgare*), ABA, primordia of lateral roots, lateral roots

Введение

Регуляция ветвления корней играет важную роль в адаптации растений к условиям обитания их корневой системы и в снабжении растений водой и элементами минерального питания. Предполагается, что торможение образования боковых корней способствует более активному росту первичных корней в глубину почвы, где во время засухи сохраняются запасы воды [Xiong et al., 2006]. Эта реакция лежит в основе засухоустойчивости растений [Кудоярова и др., 2013]. Кроме того, углубление корней важно для эффективного поглощения нитратов, высокая растворимость которых приводит к их вымыванию в более глубокие слои почвы [Lynch, 2013]. Напротив, усиленное ветвление корней в верхних слоях почвы способствует эффективному поглощению фосфатов, которые плохо растворимы в воде и остаются при внесении удобрений в верхних слоях почвы [Zhu, Lynch, 2004]. При локальном внесении удобрений поглощению элементов минерального питания способствовало активное ветвление корней в очаге с повышенной концентрацией макроэлементов [Тгарезніков et al., 2003]. Очевидно, что изучение механизмов, обеспечивающих регуляцию ветвления корней, важно для разработки биотехнологии, направленной на оптимизацию роста и развития корневой системы растений. В этом плане наиболее полно изучена роль гормонов ауксинов, которые стимулируют ветвление корней, действуя как на стадии закладки корневых примордий, так и дальнейшего роста боковых корней [Lavenus et al., 2013]. Влиянию АБК на ветвление корней уделялось гораздо меньше внимания, хотя этот гормон играет важную роль в запуске многих адаптивных процессов [Dar et al., 2017], часто выступая в качестве антагониста ауксинов [Rowe et al., 2016]. Данные о влиянии АБК на процесс ветвления противоречивы, и в литературе можно найти как сведения об ингибирующем [растения арабидопсиса, De Smet et al., 2003], так и стимулирующем влиянии этого гормона на данный процесс [растения риса, Chen et al., 2006]. Противоречивость сведений может быть связана с тем, что АБК может противоположным образом влиять на закладку и дальнейший рост боковых корней. Это предположение нуждалось в проверке, что и было сделано в данной работе на модели растений ячменя. Выбор этого объекта был обусловлен наличием дефицитного по АБК мутанта ячменя AZ34, а также тем обстоятельством, что использование дефицитных по АБК мутантов для выявления влияния этого гормона на ветвление корней было до сих пор ограничено двудольными растениями арабидопсиса. Поскольку реакция однодольных и двудольных растений часто бывала неодинаковой, было важно изучить влияния АБК на ветвление корней ячменя.

Материалы и методы

Растения ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Steptoe и его дефицитного по АБК мутанта AZ34 выращивали в гидропонной культуре на среде Хогланда-Арнона при освещении 400 мкмоль/м² с⁻¹ ZN (спектральная лампа) и ДНаГ-400 (лампы натриевые высокого давления), 14-часовом фотопериоде, температуре воздуха 24°C и относительной влажности воздуха 40%. Перед проращиванием семян их стратифицировали, выдерживая при температуре 4°C в течение трех суток. На седьмые сутки выращивания растений половину из них переносили на среды с разными концентрациями АБК (0,01; 0,1 и 1 мг/л). В качестве контроля служили растения, которые росли на среде без АБК. На второй и четвертый день после начала воздействия АБК у корней, фиксированных смесью спирта и уксусной кислоты, после окрашивания ацетокармином подсчитывали количество боковых корней и примордиев.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены результаты подсчета количества примордиев и боковых корней у растений двух генотипов через 6 и 8 дней после окончания стратификации (начало прорастания). Через 6 суток после начала прорастания у проростков было еще мало боковых корней (2-4), по их количеству растения двух генотипов не различались, и данные по боковым корням для растений этого возраста не приведены. Как видно из рисунка, количество примордиев было ниже у растений дефицитного по АБК мутанта (AZ34). Эти результаты можно интерпретировать как свидетельство необходимости АБК для нормальной закладки примордиев. Наши результаты соответствуют данным литературы о способности АБК стимулировать закладку примордиев у растений риса [Chen et al., 2006]. Вместе с тем, ранее нами не было выявлено пониженного количества примордиев у растений дефицитного по АБК мутанта ячменя по сравнению с его исходной формой [Шарипова и др., 2014]. Особенность предшествующих опытов по сравнению с настоящими экспериментами заключалась в том, что ранее мы не проводили стратификации семян (всхожесть их была хорошей и без этой процедуры). По некоторым данным литературы, АБК может способствовать защите меристемы корней от некоторых неблагоприятных факторов [Liang et al., 2007]. Это позволяет предполагать, что более высокое содержание АБК у растений исходного генотипа могло способствовать инициации образования боковых корней, защищая клетки корневой меристемы от отрицательного воздействия низкой температуры при стратификации.

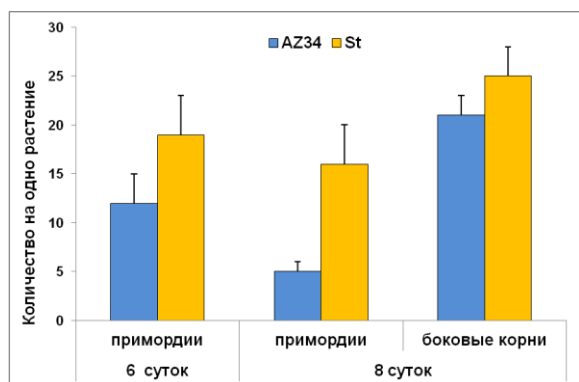


Рис. 1. Количество примордиев и боковых корней у растений AZ34 и Steptoe через 6 и 8 суток после начала прорастания

Через 2 дня после первого подсчета, количество примордиев у AZ34 снизилось в 2 раза по сравнению с первым подсчетом, в то время как у Steptoe этот показатель существенно не менялся (рис. 1). При этом по количеству боковых корней растения двух генотипов существенно не различались. Эти результаты (меньшее количество примордиев у дефицитного по АБК мутанта при почти одинаковом количестве сформированных боковых корней у растений обоих генотипов) можно объяснить тем, что скорость удлинения примордиев и их превращения в боковые корни была выше у растений с пониженным содержанием АБК (AZ34). Такой же вывод напрашивается при сравнении соотношения боковых корней и их примордиев у растений обоих генотипов, которое было в 2 раза выше у AZ34 по сравнению со Steptoe. Полученные нами результаты совпадают с данными литературы о том, что АБК подавляет удлинение клеток примордиев и формирование боковых корней у растений арабидопсиса [De Smet et al., 2003]. Соответственно пониженное содержание АБК у мутанта способствовало быстрому превращению примордиев в боковые корни. Таким образом, сравнение растений двух генотипов выявило неодинаковое действие АБК на 2 процесса, обеспечивающих корнеобразование: (1) формирование примордиев и (2) их превращение в

боковые корни. АБК была необходима для первого из процессов и подавляла второй.

На следующем этапе нашей работы было изучено влияние экзогенной АБК на формирование боковых корней ячменя двух генотипов, различающихся по способности накапливать эндогенную АБК. Оценка влияния этого гормона на количество боковых корней выявила снижение их количества под влиянием АБК как у растений Steptoe, так и AZ34 (рис.2). Таким образом, было получено подтверждение данных литературы о способности АБК подавлять удлинение боковых корней и их появление на поверхности первичного корня растений арабидопсиса [De Smet et al., 2003].

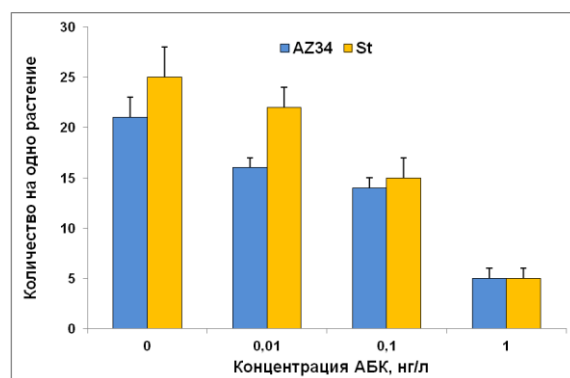


Рис. 2. Влияние АБК на количество боковых корней у растений AZ34 и Steptoe через 8 суток после добавления АБК в питательную среду

Что касается влияния АБК на инициацию боковых корней, то и в этом случае было выявлено снижение количества примордиев под влиянием экзогенного гормона (рис. 3). Этот эффект сначала (через 2 суток после добавления экзогенного гормона) проявлялся только у растений Steptoe, в то время как у AZ34 количество примордиев у обработанных абсцизовой кислотой растений было таким же, как в контроле (рис. 3а). Но затем (через 4 суток после введения АБК в питательную среду) снижение количества боковых корней было выявлено и у растений AZ34 (рис. 3б).

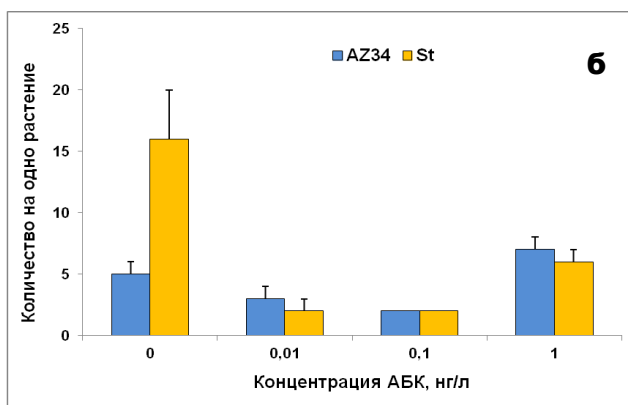
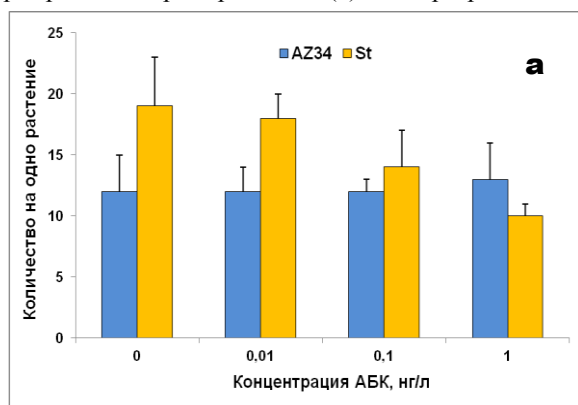


Рис. 3. Влияние АБК на количество примордий у растений обоих генотипов через 6 суток (а) и 8 суток (б) после добавления АБК в питательную среду

Таким образом, результаты экспериментов с экзогенной АБК свидетельствовали против нашего предположения о необходимости АБК для закладки боковых корней, которое вытекало из сравнения контрольных, необработанных экзогенным гормоном растений двух генотипов, различающихся по уровню эндогенной АБК. Вместе с тем, через 2 суток после введения экзогенного гормона у растений дефицитного по АБК мутанта еще не проявлялось ингибирующее действие гормона на закладку боковых корней. Оно проявлялось только у растений Steptoe, у которых эндогенная АБК очевидно вносила свой существенный вклад в суммарный уровень накопления гормона (экзогенного + эндогенный). Сравнение количества примордиев у растений двух генотипов и реакции растений, различающихся по уровню эндогенного гормона, на введение экзогенного гормона, позволяет предполагать существование некоего оптимума в концентрации АБК, который необходим для закладки боковых корней (по крайней мере, у стратифицированных растений). Изменение концентрации АБК в сторону снижения по сравнению с оптимумом (у контрольных растений мутанта по сравнению с растениями исходного генотипа) или ее возрастание под влиянием введения экзогенного гормона, очевидно, способствует ингибированию закладки боковых корней.

Остается неясным, почему через 2 суток даже максимальные концентрации АБК не вызывали снижения количества примордиев у AZ34, тогда как у Steptoe снижение уже проявлялось. Ранее было показано, что поглощение АБК корнями из раствора с концентрацией 0,1 мг/л уже в течение часа приводило к повышению содержания абсцизовой кислоты в корнях AZ34 до уровня Steptoe [Sharipova et al., 2016]. Однако определения АБК в корнях при более длительном воздействии экзогенного гормона не проводилось. Поэтому не исключено, что особенность реагирования мутанта объясняется его способностью накапливать, метаболизировать и перераспределять поглощенный гормон. Также представляет интерес изучение влияния экзогенной АБК на уровень ауксинов в растениях, поскольку именно эти гормоны, в первую очередь, влияют на закладку и дальнейший рост боковых корней. Все это должно стать предметом дальнейших исследований. В настоящий момент, мы можем лишь констатировать, что АБК оказывает неодинаковое влияние на закладку примордиев и рост боковых корней, подавляя последний процесс, и, видимо оказывая неоднозначное влияние на закладку примордиев (в зависимости от условий выращивания, возраста растений и концентрации накопленного в тканях корней гормона).

Работа выполнена при частичной поддержке грантом РФФИ № 17-04-01477.

Литература

1. Кудоярова Г.Р., Холодова В.П., Веселов Д.С. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды // Физиология растений. 2013. Т. 60. С. 155–165.
2. Kudoyarova G.R., Veselov D.S., Kholodova V.P. Current state of the problem of water relations in plants under water deficit // Russian Journal of Plant Physiology. 2013. V. 60. P. 165-175. DOI: 10.1134/S1021443713020143
3. Шарипова Г.В., Ахиярова Г.Р., Веселов Д.С., Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р. Архитектура корневой системы растений ячменя при дефиците воды и роль абсцизовой кислоты в ее регуляции. Материалы годичного собрания Общества физиологов растений России «Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий». (Калининград, 2014). Т. 2. С. 493-495.
4. Sharipova G.V., Akhiyarova G.R., Veselov D.S., Veselov S.Yu., Kudoyarova G.R. Root architecture of barley plants under water deficit and the role of abscisic acid in its regulation. Proceedings of Annual meeting of Russian Society of Plant Physiologists “Plant Physiology as a Theoretical Basis for Innovative Agriculture and Phytobiotechnologies”. (Kaliningrad, 2014). V.2. P. 493-495.
5. Chen C.-W., Yang Y.-W., Lur H.-S., Tsai Y.-G., Chang M.-C. A Novel function of abscisic acid in the regulation of rice (*Oryza sativa* L.) root growth and development // Plant Cell Physiol. 2006. V. 47. P. 1–13. DOI: 10.1093/pcp/pci216
6. Dar N.A., Amin I., Wani W., Wani S.A., Shikari A.B., Wani S.H., Masoodi K.Z. Abscisic acid: A key regulator of abiotic stress tolerance in plants // Plant Gene. 2017. V.11 P. 106-111. DOI:10.1016/j.plgene.2017.07.003
7. De Smet I, Signora L, Beeckman T, Inzé D, Foyer CH, Zhang H. An abscisic acid-sensitive checkpoint in lateral root development of Arabidopsis // Plant J. 2003. V. 33. P. 543-555. DOI: 10.1016/j.plgene.2017.07.003
8. Lavenus J, Goh T, Roberts I, Guyomarc'h S, Lucas M, De Smet I, Fukaki H, Beeckman T, Bennett M, Laplace L. Lateral root development in Arabidopsis: fifty shades of auxin // Trends Plant Sci. 2013. V. 18. P. 450-458. DOI: 10.1016/j.tplants.2013.04.006
9. Liang Y.; Mitchell D.M.; Harris J.M. Abscisic acid rescues the root meristem defects of the *Medicago truncatula* latd mutant // Dev. Biol. 2007. V. 304. P. 297–307. DOI: 10.1016/j.ydbio.2006.12.037
10. Lynch J.P. Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems

//Ann. Bot. 2013. V. 112. P. 347–357. DOI: 10.1093/aob/mcs293

11. Rowe J.H., Topping J.F., Liu J., Lindsey K. Abscisic acid regulates root growth under osmotic stress conditions via an interacting hormonal network with cytokinin, ethylene and auxin // *New Phytol.* 2016. V. 211. P. 225–239. DOI: 10.1111/nph.13882

12. 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

13. Trapeznikov V.K., Ivanov I.I., Kudoyarova G.R. Effect of heterogeneous distribution of nutrients on root growth, ABA content and drought resistance of wheat plants // *Plant Soil.* 2003. V.252. P. 207–214. DOI: 10.1023/A:1024734310214

14. Xiong L., Wang R.-G, Mao G., Koczan J.M. Identification of drought tolerance determinants by genetic analysis of root response to drought stress and abscisic acid // *Plant Physiol.* 2006. V. 142. P. 1065–1074. DOI: 10.1104/pp.106.084632

15. Zhu J., Lynch J.P. The contribution of lateral rooting to phosphorus acquisition efficiency in maize (*Zea mays L.*) seedlings // *Func. Plant Biol.* 2004. V. 31. P. 949–958. DOI: 10.1071/FP04046