



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОСМОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА И ГИДРАВЛИЧЕСКОЙ ПРОВОДИМОСТИ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ ПРИ ДЕФИЦИТЕ ФОСФОРА И ВОДЫ

Федяев В.В.,¹ Шарипова Г.В.,² Веселов Д.С.,² Веселов С.Ю.,¹ Кудоярова Г.Р.²

¹Башкирский государственный университет, Уфа

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, E-mail: g.v.sharipova@mail.ru

Резюме

Показано снижение транспирации и водного потенциала листа, накопление абсцизовой кислоты (АБК) и уменьшение содержания цитокининов в растениях ячменя под влиянием дефицита воды, вызванного добавлением нейтрального осмотика полиэтиленгликоля (ПЭГ 6000) в питательный раствор. Удаление фосфатов из питательного раствора также снижало транспирацию и водный потенциал листьев и стимулировало накопление АБК в растении, но в меньшей степени, чем добавление ПЭГа, а содержание цитокининов в корнях при этом резко возрастало. Осмотический стресс вызывал меньшее нарушение водного обмена у дефицитных по фосфору растений, что было обусловлено повышением гидравлической проводимости и накоплением осмотически активных веществ в корнях растений. Обсуждается роль абсцизовой кислоты в регуляции гидравлической проводимости и цитокининов – в связи с накоплением осмотиков.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L., АБК, цитокинины, дефицит фосфора, дефицит воды, осмотическая регуляция, гидравлическая проводимость

Введение

В природных условиях растения редко бывают подвержены действию лишь одного неблагоприятного фактора, и, гораздо чаще, они испытывают одновременно ряд стрессовых воздействий. Сочетание дефицита воды и фосфатов наиболее вероятно в естественных условиях, поскольку многие регионы страдают от аридности климата, а фосфаты в большинстве случаев труднодоступны для растений из-за их связывания с алюминием и кальцием почвы, что превращает фосфаты в малорастворимые соединения. Реакция растений на дефицит воды и фосфора интенсивно изучается, о чем свидетельствует большое количество публикаций на эту тему (дефицит фосфора – Lin et al. 2014, дефицит воды – Davies et al., 2005). В отдельных работах сделана попытка выявить сходство в реакции растений на эти

неблагоприятные воздействия (Kudoyarova et al., 2015). Так легко заметить, что дефицит воды, как и фосфора, сопровождается перераспределением ассимилятов в пользу корней, накоплением АБК и снижением уровня цитокининов. Вместе с тем, редко можно встретить работы, где исследовалось одновременное воздействие на растения этих двух неблагоприятных факторов. В нашей работе было изучено влияние удаления из питательной среды фосфатов и добавления в нее нейтрального осмотически активного соединения полиэтиленгликоля (ПЭГ) на показатели водного обмена и содержание гормонов в растениях ячменя. Такая постановка опыта имеет целью выявление особенностей реакции растений на действие дефицита воды и фосфатов по отдельности и в их сочетании.

Материалы и методы

Семена ячменя (*Hordeum vulgare* L., сорт Михайловский) проращивали на водопроводной воде в темноте при комнатной температуре. Через сутки половину проклюнувшихся проростков перенесли на 10%-ный раствор Хогланда-Арнона (контроль, +P-растения), другую часть - на раствор с исключением фосфора (-P-растения) и выращивали при температуре $27\pm 3^{\circ}\text{C}$ и 16 часовой продолжительностью светового дня. На 7-е сутки от момента посева семян у проростков удаляли зерновку. На 8 сутки растения помещали на 50% раствор полной питательной смеси Хогланда-Арнона (контроль) и с исключением фосфора. 9-суточные растения использовали для проведения исследований с использованием полиэтиленгликоля (ПЭГ) 6000 в концентрации 6%, что соответствовало осмотическому давлению 0,37 МПа.

Через сутки после начала осмотического стресса измеряли транспирацию по потере веса стаканчиками с растениями, водный потенциал - с помощью психрометра "Psypro" (Wescor, США), взвешивали корни и рассчитывали гидравлическую проводимость по формуле $L = T \times (\Psi_s - \Psi_l) / P - 1$, где T – транспирация, P - вес корней, Ψ_s и Ψ_l – водный потенциал питательного раствора и листа соответственно (Кудоярова и др., 2013). Осмотический потенциал корней измеряли с помощью криосмометра (Osmomat 030, Германия). Содержание цитокининов и АБК в побегах и корнях растений ячменя определяли с помощью иммуноферментного анализа (Шарипова и др., 2012).

Результаты и обсуждение

Дефицит воды и (в меньшей степени) фосфора приводил к снижению водного потенциала листа (рис. 1). Для правильной интерпретации результатов важно помнить, что водный потенциал является отрицательной величиной, и увеличение его абсолютных значений на рисунке означает уменьшение водного потенциала. Падение водного потенциала в результате добавления ПЭГ в питательный раствор легко объяснить снижением доступности воды в результате уменьшения осмотического потенциала питательного раствора с -0,08 до -0,4 МПа.

Снижению водного потенциала на фоне действия ПЭГ могло также способствовать уменьшение гидравлической проводимости (рис. 2). Снижение способности тканей растений проводить воду в условиях, когда уменьшение осмотического потенциала и так затрудняет поступление воды, требует объяснений. Предполагается, что уменьшение проницаемости мембран для воды в этих условиях снижает возможность потери воды клетками, что особенно важно в отсутствии транспирации (например, ночью) (Aroka et al., 2012).

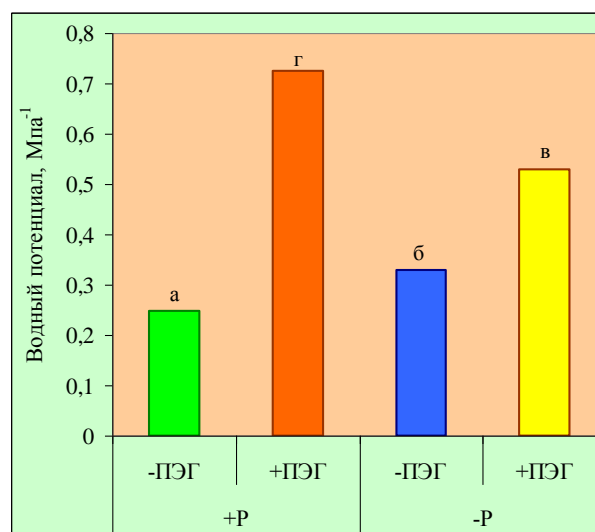


Рис. 1. Водный потенциал листа 10-суточных растений ячменя, выращенных на обычном 10%-ном растворе Хогланда-Арнона (+P) или с исключением фосфатов (-P), в присутствии (+ПЭГ) или отсутствии (-ПЭГ).

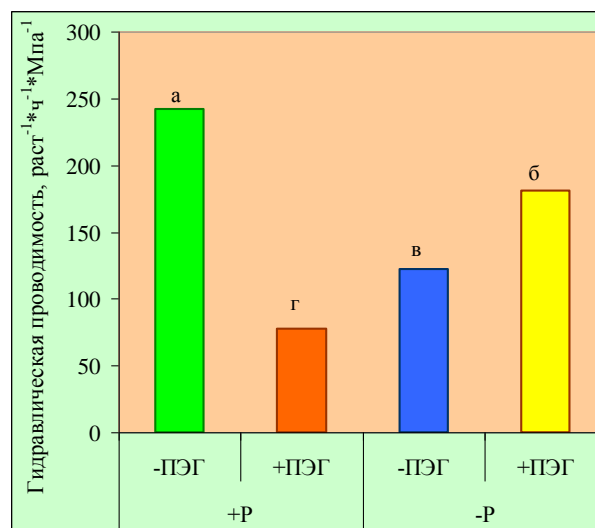


Рис. 2. Гидравлическая проводимость 10-ти суточных растений ячменя, выращенных на обычном 10%-ном растворе Хогланда-Арнона (+P) или с исключением фосфатов (-P), в присутствии (+ПЭГ) или отсутствии (-ПЭГ).

Поскольку водный потенциал листьев определяется балансом между притоком воды и ее потерей в результате транспирации, представляло интерес проанализировать, как дефицит воды и фосфора влияет на последний показатель. Из рисунка 3 видно, что как дефицит воды, так и фосфора снижал скорость потери воды растениями. Наиболее резким падение транспирации было при

осмотическом стрессе у +P-растений. Между водным потенциалом растений и транспирацией существует неоднозначная зависимость. Hamlyn Jones, проанализировав большое количество экспериментальных данных, обнаружил как влияние транспирации на водный потенциал, так и обратное влияние водного потенциала на транспирацию (Jones et al., 1998).

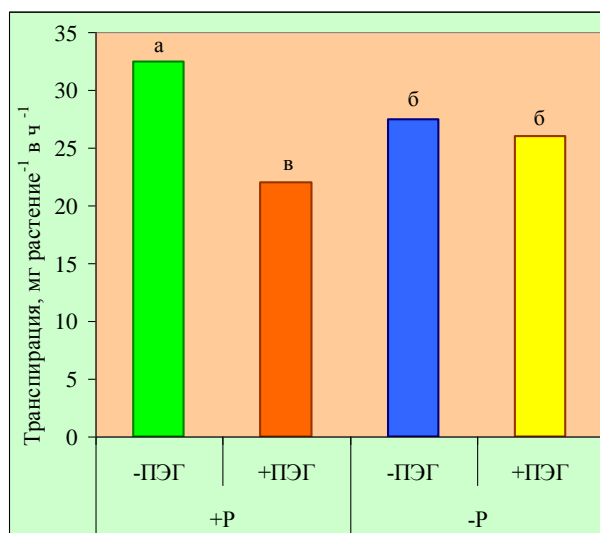


Рис. 3. Скорость транспирации 10-ти суточных растений ячменя, выращенных на обычном 10%-ном растворе Хогланда-Арнона (+P) или с исключением фосфатов (-P), в присутствии (+ПЭГ) или отсутствии (-ПЭГ).

В первом случае снижение транспирационных потерь способствует поддержанию водного потенциала (отрицательная корреляция между транспирацией и водным потенциалом), во втором – падение водного потенциала снижает транспирацию через уменьшение устьичной проводимости (положительная корреляция между водным потенциалом и транспирацией). В нашем случае корреляция между показателями была положительной (параллельное снижение транспирации и водного потенциала по сравнению с контролем, т.е. не обработанными ПЭГ +P-растениями, $r = +0,94$). Кроме того, положительная корреляция между показателями проявлялась в том, что наиболее низкая транспирация была выявлена при действии ПЭГ в отсутствии дефицита фосфора, и при этом у растений был самый низкий водный потенциал (около $-0,7$). Таким образом, очевидно, что не снижение транспирации поддерживало водный

потенциал, а наоборот, падение водного потенциала индуцировало закрытие устьиц.

Поскольку закрытие устьиц происходит в результате падения тургора, можно было предполагать, что снижение транспирации в наших экспериментах было просто следствием падения оводненности листа. Однако известно, что устьица отличаются огромным осмотическим потенциалом (около -4 МПа) (Roelfsema, Hedrich, 2005), и снижение водного потенциала листа на $0,5$ МПа (с $-0,25$ до $-0,72$) не могло существенно повлиять на тургор устьиц. Считается, что закрытие устьиц является результатом активного выброса осмотиков из устьичных клеток, и в этом процессе важную роль может играть АБК (Tallman, 2004). В наших опытах снижение транспирации под влиянием дефицита воды и фосфатов проходило на фоне, и очевидно было следствием накопления АБК в листьях (рис. 4).

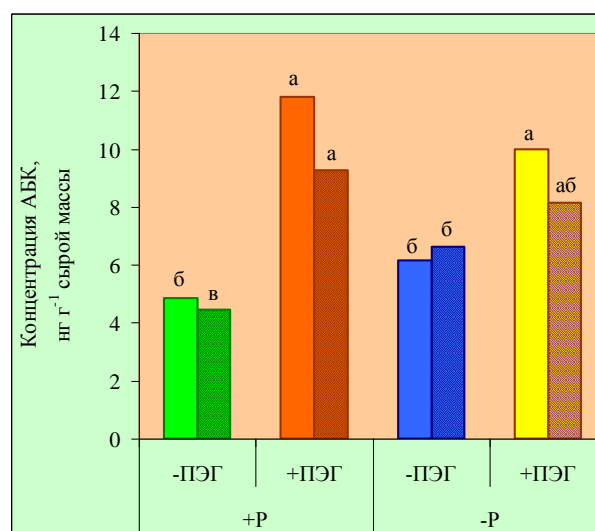


Рис. 4. Концентрация абсцизовой кислоты в побегах и корнях растений ячменя, выращенных на обычном 10%-ном растворе Хогланда-Арнона (+P) или с исключением фосфатов (-P), в присутствии (+ПЭГ) или отсутствии (-ПЭГ).

□ - побеги ▨ - корни

Наиболее значительное накопление АБК было обнаружено в листьях обработанных ПЭГ +P-растений, у которых ингибирование транспирации было выражено в наибольшей степени. Высокая отрицательная корреляция между уровнем АБК в листьях и транспирацией (снижение транспирации с увеличением концентрации АБК в листьях, рис. 3 и 4, $r = -0,98$) подтверждает зависимость снижения транспирации от накопления АБК в листьях в наших опытах.

Таким образом, влияние снижения водного потенциала на транспирацию осуществлялось через индукцию накопления АБК и закрытие устьиц. Вместе с тем, оставалось неясным, как осуществляется регуляция водного потенциала, и почему этот показатель был выше у растений на фоне добавления осмотика у –Р-растений по сравнению с +Р-растениями.

Снижение водного потенциала, зарегистрированное у –Р-растений по сравнению с +Р-растениями в отсутствие ПЭГ, может быть следствием снижения гидравлической проводимости, обнаруженной как в наших опытах (рис. 2), так и по данным литературы (Clarkson et al., 2000). Таким образом уменьшение водного потенциала –Р-растений может быть следствием меньшего притока воды из корней из-за снижения их способности проводить воду. Хотя это объяснение представляется логичным, остается неясным, что могло быть причиной меньшего падения водного потенциала в листьях при сочетании дефицита воды и фосфора по сравнению с вариантом, когда на растения действовал только осмотический стресс (рис. 1). Скорее можно было ожидать противоположного результата. Ведь снижение осмотического потенциала питательного раствора было одинаковым в обоих случаях, а дефицит фосфора мог еще больше снизить приток воды из корней за счет влияния на гидравлическую проводимость. Однако, судя по результатам измерения гидравлической проводимости (рис. 2), на фоне добавления ПЭГ в питательную среду этот показатель был выше у –Р-растений. Этим можно объяснить более высокий уровень водного потенциала, зарегистрированный нами на фоне действия ПЭГ у –Р-растений. Важно было понять, каким образом достигалось повышение гидравлической проводимости у –Р-растений на фоне действия ПЭГ.

Ранее сравнение динамики показателей водного обмена у растений ячменя другого сорта (Прерия) показало, что повышение гидравлической проводимости, обусловленное увеличением уровня аквапоринов в плазмолемме, происходит только после накопления в клетках осмотически активных веществ (Шарипова, Веселов, 2013; Шарипова и др., 2014). Повышение уровня экспрессии РІР аквапоринов под влиянием засоления также наблюдали у растений кукурузы вслед за осмотической регуляцией (Zhu et al., 2005). Поэтому представляло интерес сравнить осмотический потенциал у растений в наших экспериментах. Как видно из рисунка 5, достоверное снижение осмотического потенциала, свидетельствующее о накоплении осмотиков, было выявлено в корнях у –Р-растений на фоне ПЭГ, и именно на фоне

накопления осмотиков гидравлическая проводимость достигала максимума. Важно было попытаться выявить возможный механизм накопления осмотиков на фоне дефицита фосфора.

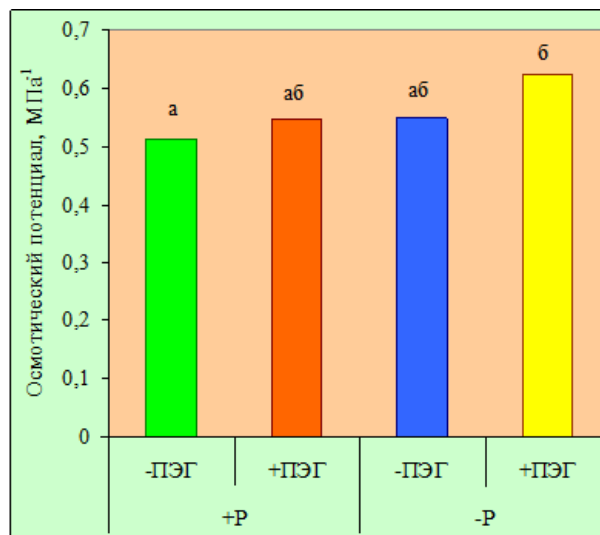


Рис.5. Осмотический потенциал корней 10-ти суточных растений ячменя, выращенных на обычном 10%-ном растворе Хогланда-Арнона (+P) или с исключением фосфатов (-P), в присутствии (+ПЭГ) или отсутствии (-ПЭГ).

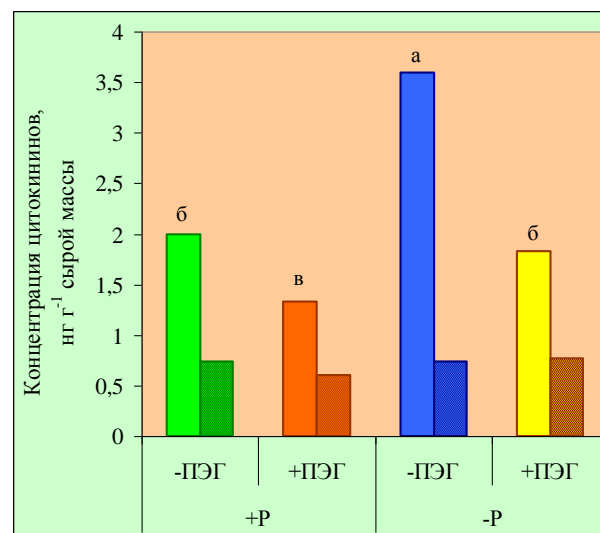


Рис. 6. Концентрация цитокининов в побегах и корнях растений ячменя, выращенных на обычном 10%-ном растворе Хогланда-Арнона (+P) или с исключением фосфатов (-P), в присутствии (+ПЭГ) или отсутствии (-ПЭГ).
□ - побеги ▨ - корни

Известно, что цитокинины могут стимулировать накопление осмотиков у растений. По крайней мере, у трансгенных растений со сверхэкспрессией *ipt*-гена, ответственного за синтез цитокининов, наблюдали повышенное содержание осмотически активных веществ (Merewitz et al., 2012). Поэтому представляла интерес оценка влияния дефицита воды и фосфора на концентрацию цитокининов в растениях ячменя. Из рисунка 6 видно, концентрация цитокининов в корнях дефицитных по фосфору растений была достоверно выше, чем в остальных вариантах. Под влиянием ПЭГ концентрация цитокининов снижалась в корнях как у –Р-, так и +Р-растений, однако была выше у +Р-растений по сравнению с –Р-растениями. Таким образом, повышенное содержание цитокининов в корнях +Р-растений на фоне ПЭГ могло стимулировать накопление осмотиков. Может вызывать недоумение тот факт, что в отсутствие ПЭГ гидравлическая проводимость у +Р-растений была ниже, чем на фоне добавления ПЭГ, в то время как уровень цитокининов у этих растений был более высоким. Эту реакцию можно объяснить тем, что рецепторы цитокининов являются аналогами осморепрепторов микроорганизмов, и их чувствительность к цитокининам возрастает на фоне осмотического стресса (Uga et al., 1999).

Таким образом, дефицит фосфора повышал устойчивость водного обмена растений ячменя к последствию дефицита воды. Наши результаты соответствуют данным о том, что в отсутствие удобрений растения были более устойчивыми к действию засухи (Трапезников и др., 2013). Это не исключает отрицательного действия дефицита фосфора на рост растений. Тем не менее, изучение реакции на дефицит воды на фоне дефицита фосфора выявило некоторые закономерности гормонального сигналинга, которые могут быть полезны для разработки биотехнологии повышения устойчивости растений к засухе.

Благодарности

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ №14-04-97077.

Литература

1. Lin W.Y., Huang T.K., Leong S.J., Chiou T.J. Long-distance call from phosphate: systemic regulation of phosphate starvation responses // *Journal of Experimental Botany*. 2014. V 65. P. 1817-1827.
2. Davies W.J., Kudoyarova G., Hartung W. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought // *Journal of Plant Growth Regulation*. 2005. V. 24. P. 285–295.
3. Kudoyarova G.R., Dodd I.C., Veselov D.S., Rothwell S.A., Veselov S.Y. Common and specific Responses to availability of mineral nutrients and water // *Journal of Experimental Botany*. 2015. V. 66. P.2133-2144.
4. Clarkson D.T., Carvajal M., Henzler T., Waterhouse R.N., Smyth A.J., Cooke D.T. & Steudle E. Root hydraulic conductance: diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress // *Journal of Experimental Botany*. 2000. V. 51. P. 61–70.
5. Jones H.G. Stomatal control of photosynthesis and transpiration // *Journal of Experimental Botany*. 1998. V. 49. Special Issue. P. 387–398.
6. Кудоярова Г.Р., Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Ахиярова Г.Р., Dodd I.C., Веселов С.Ю. Водный обмен и рост исходных и дефицитных по АБК мутантных растений ячменя при повышении температуры воздуха // *Физиология растений*. 2014. Т. 61. С.: 207–213.
7. 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.
8. Roelfsema M.R., Hedrich R. In the light of stomatal opening: new insights into 'the Watergate' // *New Phytologist*. 2005. V.167. P. 665-691.
9. Tallman G. Are diurnal patterns of stomatal movement the result of alternating metabolism of endogenous guard cell ABA and accumulation of ABA delivered to the apoplast around guard cells by transpiration? *Journal of Experimental Botany*. 2004. V. 55. №. 405. P.: 1963–1976.
10. Aroca R., Porcel R., Ruiz-Lozano J.M. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions // *Journal of Experimental Botany*. 2012. V. 63. P. 43–57.
11. Шарипова Г.В., Веселова С.В., Веселов Д.С. Динамика показателей водного обмена у растений ячменя на фоне умеренного осмотического стресса // *Биомика*. 2013. Т.5. С.130-135.
12. Шарипова Г.В., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р., Katsuhara M., Furuichi T, Веселов С.Ю. Выявление связи между гидравлической проводимостью и содержанием аквапоринов плазмолеммы с помощью их

- иммуногистохимической локализации. Биомика. 2014. Т.6. С.64-67.
13. Zhu C., Schraut D., Hartung W., Schaffner A.R. Differential responses of maize MIP genes to salt stress and ABA. *Journal of Experimental Botany*. 2005. V. 56. P.: 2971–2981.
 14. Merewitz E.B., Du H., Yu W., Liu Y., Gianfagna T., Bingru Huang B. Elevated cytokinin content in *ipt* transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation // *Journal of Experimental Botany*. 2012. V. 63. №. 3. P. 1315–1328.
 15. Urao T., Yakubov B., Satoh R., Yamaguchi-Shinozaki K., Seki M., Hirayama T., Shinozaki K. A Transmembrane hybrid-tType histidine kinase in *Arabidopsis* functions as an osmosensor // *The Plant Cell*. 1999. V. 11. P. 1743–1754.
 16. Трапезников В.К., Иванов И.И., Кудоярова Г.Р. Влияние технологии внесения минеральных удобрений на устойчивость сортов яровой пшеницы к дефициту воды. *Агрохимия*. 2013. № 1. С. 26-34.

HORMONAL REGULATION OF OSMOTIC POTENTIAL AND HYDRAULIC CONDUCTANCE IN BARLEY PLANTS UNDER PHOSPHORUS AND WATER DEFICIT

¹Fedyayev V.V., ²Sharipova G.V., ²Veselov D.S., ¹Veselov S.Yu., ²Kudoyarova G.R.

¹Baskir State University, Ufa, Russian Federation

²Ufa Institute of Biology, Russian Academy of Sciences,
pr. Oktyabrya 69, 450054 Ufa, Russian Federation, E-mail: g.v.sharipova@mail.ru

Reduction of transpiration and leaf water potential, the accumulation of abscisic acid (ABA) and the decline of cytokinins in barley plants under water deficit with using of PEG 6000 were shown. Phosphate elimination from the nutrient solution caused a similar reaction, but less than PEG, while the content of cytokinins in the roots dramatically increased. Osmotic stress caused less disturbance of water metabolism in phosphate deficient plants, which was due to an increase in hydraulic conductivity and the accumulation of osmotically active substances in the roots. The effect of abscisic acid and cytokinins on the hydraulic conductivity and the osmotic accumulation, respectively, is discussed.

Key words: *Hordeum vulgare* L., ABA, cytokinins, phosphorus deficit, water deficit, osmotic regulation, hydraulic conductance