ЭКОБИОТЕХ
ISSN 2618-964X http://ecobiotech-journal.ru

ВЛИЯНИЕ ЭНДОГЕННЫХ ЦИТОКИНИНОВ НА ПРОЯВЛЕНИЕ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ

Безрукова М.В., Лубянова А.Р., Масленникова Д.Р., Васильев И.Д., Шакирова Ф.М.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН
E-mail: lectin@anrb.ru

Полученные данные о характере влияния МеЖ и БАП на показатели роста, водного обмена и гормональный баланс выявили сходство в уровне регуляции этими фитогормонами антистрессовых реакций при осмотическом стрессе, что свидетельствует в пользу вовлечения эндогенных цитокининов в проявление защитного эффекта МеЖ на растения пшеницы.

Ключевые слова: АБК, метилжасмонат, ПЭГ, цитокинин.

THE INFLUENCE OF ENDOGENOUS CYTOKININS ON METHILJASMONAT-INDUCED PROTECTION ON WHEAT PLANTS

Bezrukova M.V., Lubyanova A.R., Maslennikova D.R., Vasiljev I.D., Shakirova F.M.

Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa
E-mail: lectin@anrb.ru

The obtained data concerned MeJA and BAP-induced effects on growth, water metabolism and hormonal balance revealed similarity in the level of regulation of antistress reactions by these phytohormones under osmotic stress, which proves the endogenous cytokinins`s involvement of in the demonstration of the protective effect of MeJA on wheat plants.

Keywords: ABA, cytokinin, methyl jasmonate, PEG

Поступила в редакцию: 3.10.2019

DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-4-553-558

ВВЕДЕНИЕ

Большинство абиотических стрессовых факторов среды вызывают обезвоживание растительной ткани [Sánchez-Romera et al., 2014]. Чтобы избежать такого обезвоживания, растения могут уменьшить потерю воды из листьев, закрыв устьица или пытаясь поглотить больше воды из почвы. Таким образом, чтобы регулировать состояние воды, растения контролируют открытие и закрытие устьиц, изменяют корневую архитектуру и водопоглощающую способность корней. Регуляция закрытия устьиц была хорошо изучена, и показано, что в этом процессе помимо АБК и активных форм кислорода участвуют также салициловая кислота и метилжасмонат (МеЖ) [Ye et al., 2013]. Выявлено, что МеЖ индуцирует колебания концентрации кальция в замыкающих клетках устьичной щели, и его действие частично опосредуется усилением биосинтеза АБК. Вместе с тем, известно, что жасмонат усиливает гидравлическую проводимость корней, и это усиление связано с зависимыми от кальция и АБК и независимыми сигнальными путями [Sánchez-Romera et al., 2014]. Однако полностью роль МеЖ в регулировании водного обмена еще недостаточно изучена. Целью работы было исследовать характер влияния МеЖ на гормональный статус, ростовые параметры и показатели водного обмена растений пшеницы при действии осмотического стресса, а также возможность вовлечения цитокининов в регуляцию этих физиологических ответов.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили проростки пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Салават Юлаев. Семена после стерилизации 96%-ным этанолом проращивали в кюветах на фильтровальной бумаге, смоченной водопроводной водой (16-часовом фотопериоде и освещенности 320 мкмоль/($м^2$·с) ФАР) при 21-23^{o}С. Условия проведения опытов с ювенильными проростками пшеницы были подобраны ранее [Shakirova et al., 2003]. Изолированные от эндосперма 4-сут проростки корнями помещали на сутки в стаканы на смесь 1.5%-ной сахарозы и фитогормонов в стимулирующих рост растений концентрациях: 100 нМ МеЖ или 44 нМ 6-бензиламинопурина (БАП), необрабатываемые МеЖ и БАП растения – на 1.5%-ную сахарозу. 5-сут проростки переносили на раствор 12%-ного полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ). Контролем служили проростки, инкубированные на дистиллированной воде. В течение последующих суток в 5-6-сут проростках анализировали различные физиолого-биохимические и ростовые параметры. Количество фитогормонов АБК и цитокининов определяли методом иммуноферментного анализа в одной и той же растительной навеске, последовательность ступеней иммуноанализа описана нами ранее [Shakirova et al., 2003]. Содержание пролина анализировали согласно Bates et al. [1973].

Транспирацию определяли весовым методом (анализируя потерю массы стаканчика с проростками в питательном растворе, поделенную на время между измерениями и количество проростков) [Шарипова и др., 2012]. Относительное содержание воды (ОСВ) рассчитывали по формуле:

ОСВ= [(сырая масса-сухая масса)/(масса при полном тургоре-сухая масса)]х100%.

Образцы для измерения осмотического потенциала были получены путем замораживания и оттаивания тканей побегов и последующего центрифугирования. Осмотический потенциал полученного клеточного сока измеряли с помощью цифрового микроосмометра (CAMLAB Limited, UK).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа фитогормонов (рис. 1) выявили, что воздействие 12%-го раствора ПЭГ вызывает дисбаланс в гормональной системе, который обусловлен как накоплением АБК, пик которого приходился на 2 ч воздействия осмотика, так и трехкратным снижением уровня цитокининов. Корни предобработанных МеЖ или БАП растений, подвергнутых воздействию ПЭГ, характеризовались повышенным содержанием цитокининов и существенно меньшим уровнем стресс-индуцированного накопления АБК.

Известно, что быстрое увеличение концентрации АБК синхронизировано по времени с уменьшением устьичной проводимости [Веселов и др., 2007], вследствие чего вызываемое АБК закрытие устьиц способствует уменьшению потери воды и частичному восстановлению роста. Наблюдаемое нами на проростках сорта Салават Юлаев ПЭГ-индуцированное нарушение водного режима в данном случае, напротив, вызвало дефицит водонасыщенности проростков, значительно снижая в них относительное содержание воды, а также уменьшая осмотический потенциал (рис. 2). Растения, подвергнутые воздействию ПЭГ, характеризовались меньшим уровнем транспирации: к пяти часам воздействия осмотика наблюдалось двукратное снижение транспирации, которое в дальнейшем усиливалось.

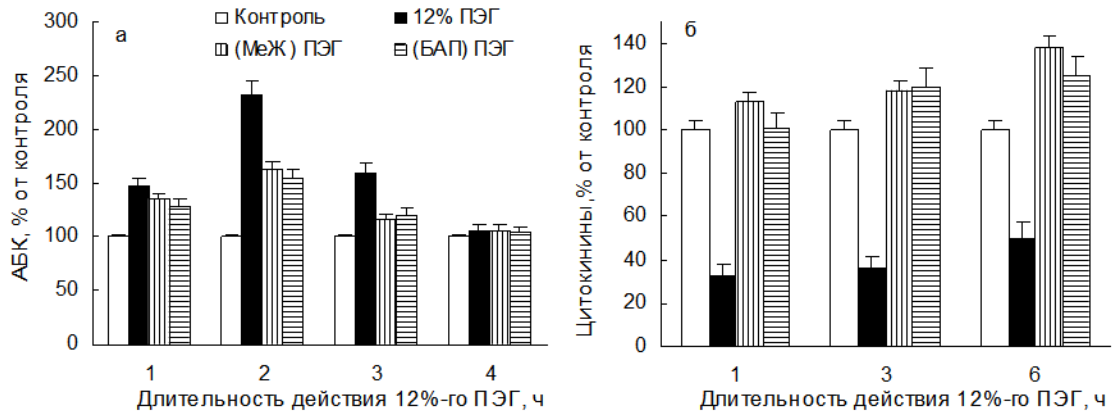

Рис. 1. Воздействие 12%-го ПЭГ на динамику уровня фитогормонов АБК (а) и цитокининов (б) в 5-сут проростках пшеницы, предобработанных и необработанных МеЖ или БАП.

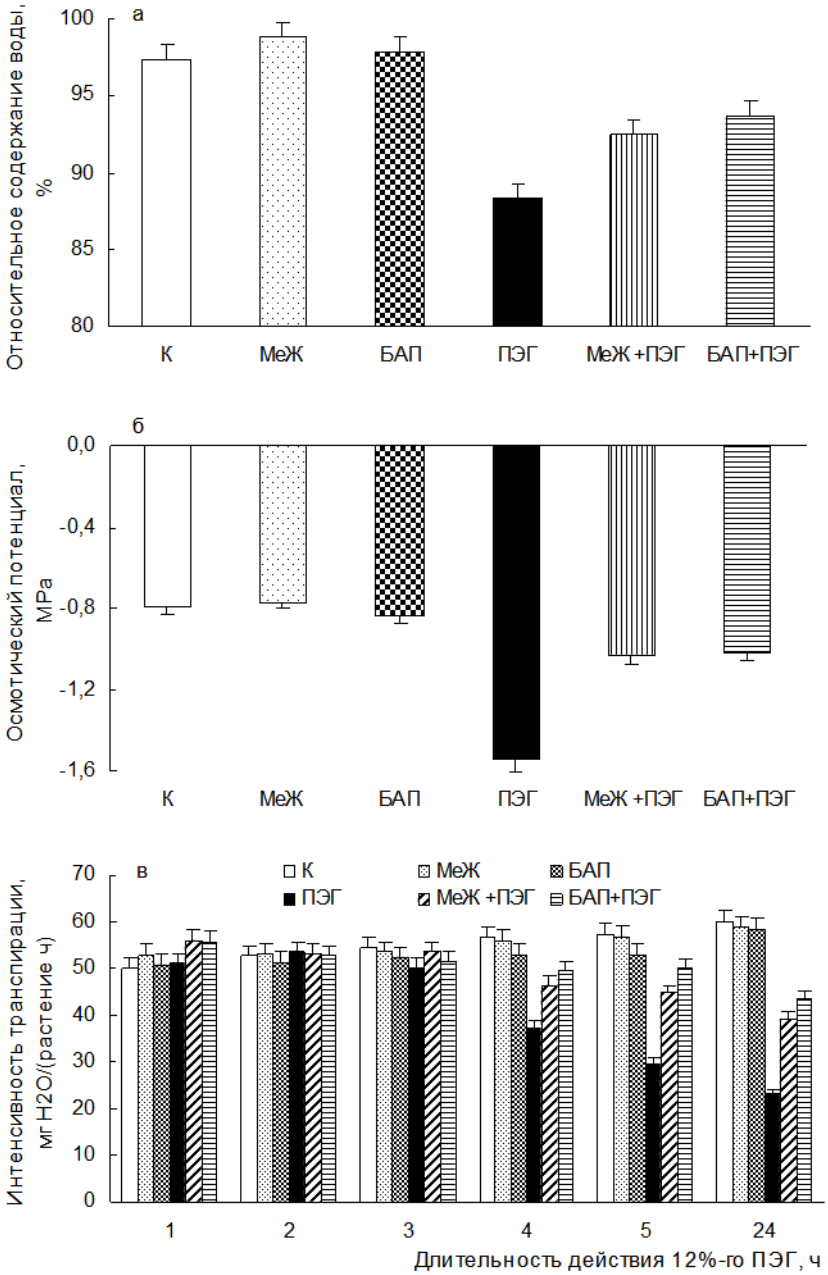

Рис. 2. Влияние предобработки МеЖ и БАП на показатели водного обмена: относительное содержание воды (а) в тканях листьев пшеницы и осмотический потенциал (б) после 24 ч действия стресса, а также интенсивность транспирации проростков в условиях воздействия 12%-го ПЭГ (в).

Осмотик вызвал при этом почти двукратное накопление пролина в проростках (рис. 3). Предобработка фитогормонами, наиболее заметно в случае БАП в начальный период стресса, способствовала интенсификации повышения содержания пролина в растениях в ответ на ПЭГ. Литературные данные свидетельствуют об индукции осмотическим стрессом накопления пролина и глицинбетаина в злаках и их участии в стабилизации антиоксидантных ферментов [Kosová et al., 2015]. Накопление различных осморегулирующих веществ, в частности пролина в цитоплазме, восстанавливает осмотический потенциал растений, благодаря чему нормализуется снабжение клеток водой и приходит в норму растяжимость клеток. Предобработанные МеЖ и БАП проростки характеризовались сходным ответом показателей водного обмена на стресс: они отличались более высоким уровнем ОСВ и транспирации, чем только стрессированные (рис. 2). В случае воздействия БАП через 5 ч стресса наблюдалась нормализация транспирации до близкого к контролю значения, а транспирация предобработанных МеЖ проростков составляла 80% от контроля. Через сутки влияния осмотического стресса этот показатель у предобработанных растений несколько снизился, но по-прежнему был вдвое выше, чем у необработанных. При этом осмотический потенциал клеточного сока тканей побега таких растений оставался на уровне близком к показателю интактных проростков, тогда как у растений при дефиците влаги он по сравнению с контролем снижался.

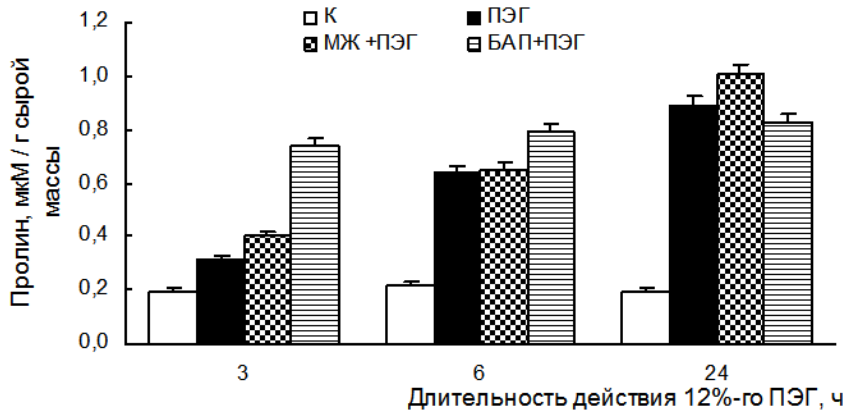

Рис. 3. Влияние предобработки МеЖ и БАП на содержание пролина в целом проростке в условиях осмотического стресса, моделируемого 12% ПЭГ.

Эти изменения отразились на ростовых показателях. Предобработка фитогормонами оказала стимулирующий эффект на ростовые параметры: даже спустя двое суток сырая и сухая массы проростков превышали контрольные значения (рис. 4). Рост растений предобработанной МеЖ и БАП пшеницы при стрессе поддерживался на уровне контроля, что свидетельствует о снижении негативного эффекта ПЭГ.

Таким образом, предобработка проростков пшеницы МеЖ или БАП в течение 24 ч способствовала уменьшению вызываемого осмотическим стрессом уровня дисбаланса гормонов и улучшению показателей водного обмена, что отразилось на нормализации ростовых процессов. Накопление пролина в цитоплазме в начальный период действия стресса способствовало восстановлению осмотического потенциала растений, благодаря чему нормализовалось снабжение клеток водой. Уменьшение стресс-индуцированного накопления уровня АБК и подъем содержания цитокининов в клетках тканей предобработанных МеЖ или БАП проростков, а также активация водного обмена

свидетельствуют в пользу способности этих растений поддерживать близкий к норме водный баланс и рост за счет регуляции метаболизма растений.

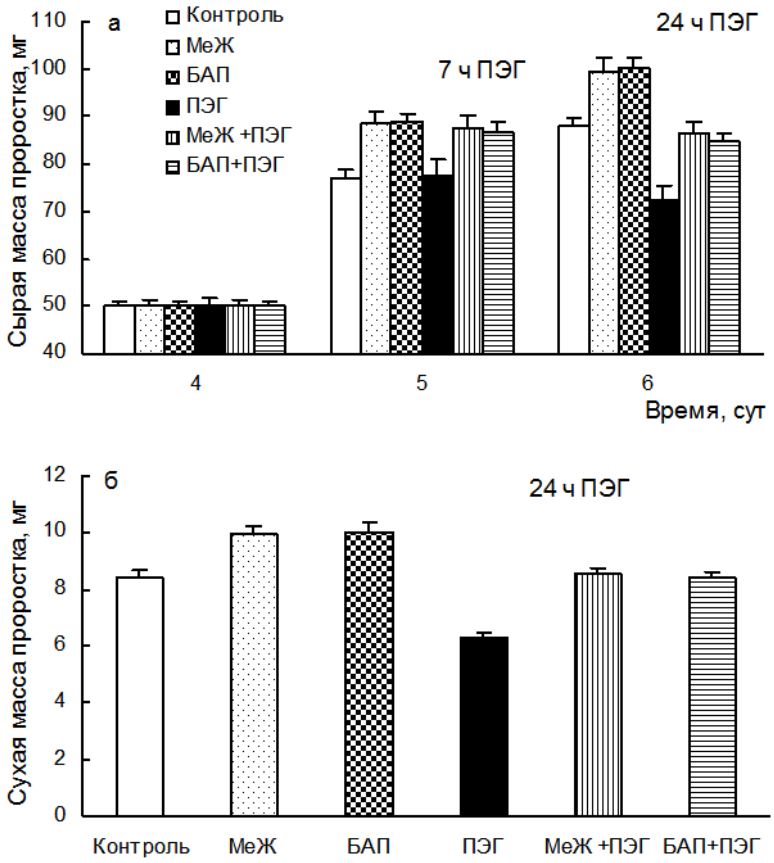

Рис. 4. Анализ воздействия предобработки экзогенными МеЖ и БАП на изменение сырой (а) и сухой (б) массы целого проростка в течение суток влияния 12%-го ПЭГ.

Выявленное почти двукратное транзиторное накопление цитокининов под влиянием МеЖ [Avalbaev et al., 2016] позволило предположить, что эндогенные цитокинины могут служить гормональными интермедиатами в реализации защитного действия МеЖ на растения при стрессе. Сопоставление характера влияния МеЖ и БАП на показатели роста, водного обмена и гормональный баланс проростков выявило сходство в регуляции этими фитогормонами антистрессовых реакций при нарушении водного режима, что свидетельствует в пользу вовлечения эндогенных цитокининов в проявление защитного действия МеЖ на растения пшеницы.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-04-01853_а) и в рамках госзадания (№ темы АААА-А16-116020350029-1) с использованием оборудования ЦКП “Биомика” (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП “Агидель”) и УНУ “КОДИНК”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Кудоярова Г.Р. Сравнительное изучение реакций растений ячменя (*Hordeum vulgaris*) и пшеницы (*Triticum durum*) на кратковременное и длительное действие натрий-хлоридного засоления // Агрохимия. 2007. № 7. С. 41-48.

2. 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.
3. Avalbaev A., Yuldashev R., Fedorova K., Somov K., Vysotskaya L., Allagulova C., Shakirova F. Exogenous methyl jasmonate regulates cytokinin content by modulating cytokinin oxidase activity in wheat seedlings under salinity // J. Plant Physiol. 2016. V. 191. P. 101–110. DOI: 10.1016/j.jplph.2015.11.013
4. Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant & Soil 1973. V. 39. P. 205-207.
5. Kosová K., Vítámvás P., Hlaváčková I., Urban M.O., Vlasáková E., Prášil I.T. Responses of two barley cultivars differing in their salt tolerance to moderate and high salinities and subsequent recovery // Biologia Plantarum. 2015. V. 59. P. 106-114. DOI: 10.1007/s10535-014-0465-y
6. Shakirova F.M., Sakhabutdinova A.R., Bezrukova M.V., Fatkhutdinova R.A., Fatkhutdinova D.R. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity // Plant Sci. 2003. V. 164. P. 317-322. DOI: 10.1016/S0168-9452(02)00415-6
7. Sánchez-Romera B., Ruiz-Lozano J.M., Li G., Luu D.-T., Martínez-Ballesta M.C., Carvajal M., Zamarreño A.M., García-Mina J.M., Maurel C., Aroca R. Enhancement of root hydraulic conductivity by methyl jasmonate and the role of calcium and abscisic acid in this process // Plant, Cell & Environ. 2014. V. 37. P. 995–1008. DOI: 10.1111/pce.12214
8. Ye W., Hossain M.A., Munemasa S., Nakamura Y., Mori I.C., Murata Y. Endogenous abscisic acid is involved in methyl jasmonate-induced reactive oxygen species and nitric oxide production but not in cytosolic alkalization in Arabidopsis guard cells // J. Plant Physiol. 2013. V. 170. P. 1212–1215. DOI: 10.1016/j.jplph.2013.03.011