

УЧАСТИЕ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ ЭТИЛЕНА В УФ-В ИНДУЦИРОВАННОМ НАКОПЛЕНИИ АБК В *ARABIDOPSIS THALIANA* WT И НЕ СИНТЕЗИРУЮЩЕМ СПЕРМИН МУТАНТЕ *SPMS 1-1*

О.Н. Прудникова, В.В. Карягин, Т.Я. Ракитина, В.Ю. Ракитин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, rakit@ippras.ru

Аннотация. Исследовано участие сигнального пути этилена в регуляции накопления АБК при УФ-В стрессе в *Arabidopsis thaliana* дикого типа (WT) и не синтезирующем полиамин спермин мутанте *spms 1-1*. Использование блокатора этиленовых рецепторов 1-метилциклопропена (1-МСП) показало, что сигнальный путь этилена не индуцирует, а лишь на 10-20 % увеличивает накопления АБК, вызванное УФ-В стрессом.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, АБК, этилен, полиамины, УФ-В

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-655-658

Механизмы восприятия, трансдукции сигнала и ответные реакции, обеспечивающие выживание растений при различных уровнях УФ-В радиации, остаются весьма далеки от понимания, несмотря на интенсивные исследования. Однако достаточно убедительно установлено, что в ответных реакциях участвуют такие соединения, как ионы кальция, активные формы кислорода, салициловая кислота, полиамины и фитогормоны этилен и абсцизовая кислота (АБК). Этилен участвует практически во всех физиологических процессах, в том числе и в стрессовых ответах, регулируя синтез и катаболизм других фитогормонов и, прежде всего, АБК [Abeles, 1992; Grossmann, 2001]. АБК служит медиатором таких физиологических ответов на действие стрессоров, как закрытие устьиц при засухе и осмотическом стрессе, индукции устойчивости к засолению, гипоксии и температурным стрессам, а также в реакциях на поранения и атаки патогенов [Zeevaart, 1988]. Полиамины вовлечены во множество клеточных процессов, включая конденсацию хроматина, поддержание структуры ДНК, процессинг РНК, трансляцию и активацию протеинов. Полиамины участвуют в регуляции клеточного деления, дифференциации, формировании корней и побегов, инициации цветения, завязывании и созревании плодов, старении, адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды [Kaur-Sawhney, 2003].

В *Arabidopsis thaliana* УФ-В радиация вызывает увеличение выделения этилена, накопление АБК и путресцина, потерю содержания спермидина и спермина [Ракитин, 2008]. Изучение участия указанных соединений в адаптации растений к УФ-В радиации, взаиморегуляции их синтеза и действия необходимо для выяснения функционирования механизмов устойчивости растений к УФ-В. Ранее с использованием *Arabidopsis thaliana* WT, мутантов этиленового сигнального пути *etr 1-1* и *ctr 1-1* и блокатора сигнального пути этилена (СПЭ) 1-метилциклопропена (1 МСП) было показано, что не образующийся при УФ-В стрессе этилен, а УФ-В радиация является индуктором синтеза и накопления путресцина – предшественника высших полиаминов спермина и спермидина. Функционирующий СПЭ лишь в незначительной степени ускорял превращение образующегося при УФ-В стрессе путресцина в спермидин и спермин [Прудникова, 2016, Ракитин 2008, 2009]. Данная работа была предпринята для выяснения участия СПЭ в накоплении АБК при УФ-В стрессе у *Arabidopsis thaliana* (WT) и не синтезирующего спермин мутанта *spms 1-1*.

Объектами исследования для выяснения участия СПЭ в регуляции содержания АБК при УФ-В стрессе служили двухнедельные растения *Arabidopsis thaliana* (L.)

Неупн. дикого типа (WT) и не синтезирующего спермин мутанта *spms 1-1*. Все работы, связанные с посевом семян и выращиванием растений, проводили в асептических условиях. Растения выращивали по 30 шт. в стеклянных чашках Петри на агаризованной среде Велиминского–Гихнера. Световой период составлял 16 ч., интенсивность света (6.5 клк), температура чашек Петри с растениями была 25 °С днем и 23 °С ночью. [Прудникова, 2016]

На 15-й день после посева семян растения, обработанные 1-МСП (50 нл/л, 3 ч), оставляли необлученными или облучали умеренной (7кДж/м²), высокой (14 кДж/м²) и летальной (21 кДж/м²) дозами УФ-В. Затем необлученные и облученные растения вариантов, в которых использовали 1-МСП, на сутки помещали в камеры с 1-МСП (50 нл/л). Концентрацию CO₂, N₂, O₂ и 1-МСП в камерах контролировали газохроматографическими методами [Прудникова, 2016, Ракитин В.Ю., 1986]. Чашки Петри с интактными, а также с облученными УФ-В, но не обработанными 1-МСП растениями на сутки возвращали в установку для выращивания. На 16-й день во всех вариантах опыта розетки отделяли от корневой системы и определяли в них содержание АБК на газовом хроматографе (Газохром 1109, Россия) с высокочувствительным и селективным по отношению к АБК детектором по захвату электронов [Карягин, 2011]

Данные, представленные на рис. 2, являются средними арифметическими значениями четырех экспериментов, проведенных в трехкратной повторности. Максимальное стандартное отклонение от приведенных величин составляло не более ± 15%.

Двухнедельные растения WT и *spms 1-1* не имели фенотипических различий и не отличались по чувствительности к УФ-В радиации несмотря на отсутствие в *spms 1-1* спермина. Эти данные показывают, что содержание спермина не является критическим параметром при преодолении УФ-В стресса у растений *Arabidopsis thaliana*. Не было обнаружено различий в содержании путресцина и спермидина в интактных растениях, а также в вызываемых УФ-В радиацией изменениях содержания этих полиаминов в WT и *spms 1-1*.

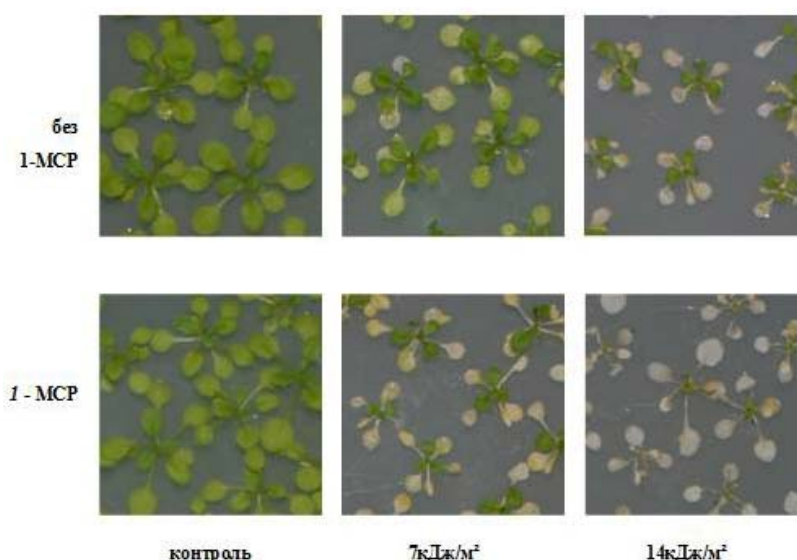


Рис. 1. Влияние УФ-В радиации и 1-МСП на растения *spms 1-1 Arabidopsis thaliana*.

Содержание АБК в розетках интактных растений *spms 1-1* было в 1, 6 раза больше, чем в WT. Обработка необлученных растений блокатором СПЭ 1-МСП не влияла на

содержание АБК в розетках WT и *spms 1-1*. Облучение растений умеренной, высокой и летальной дозами УФ-В за сутки увеличивало содержание АБК у WT в 1.5, 2.5 и 4.4 раза, а у *spms 1-1* в 1.2, 1.6 и 3.4 раза соответственно (рис. 1).

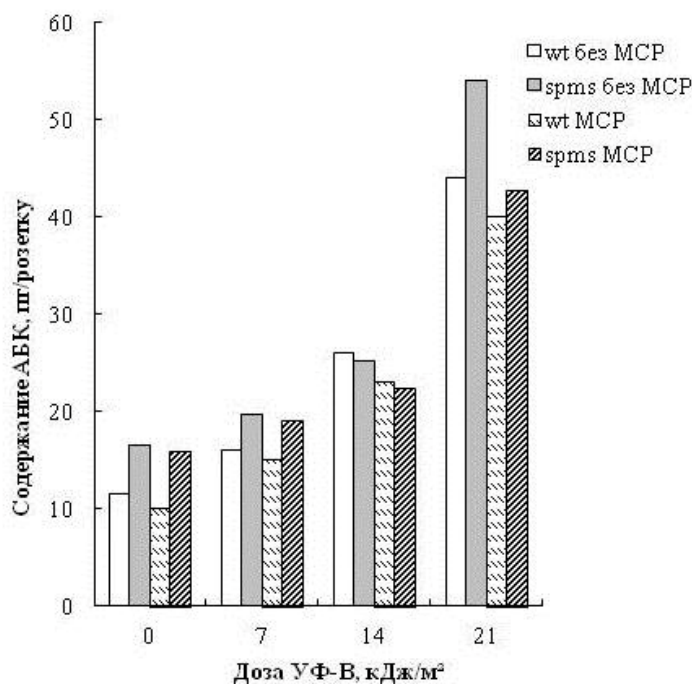


Рис. 2. Влияние УФ-В и 1-МСП на содержание АБК в растениях *Arabidopsis thaliana* WT и *spms 1-1*.

Блокирование СПЭ ингибитором действия этилена 1-МСП лишь на 10-20% тормозило накопление АБК в розетках WT и *spms 1-1*, зато в 2 раза повышало их чувствительность к УФ-В радиации. У растений с заблокированным СПЭ после умеренной дозы УФ-В радиации происходила такая же потеря зеленой окраски, как у растений с активированным эндогенным стрессовым этиленом СПЭ после высокой дозы УФ-В (рис. 2).

Полученные данные убедительно показывают, что стрессовый этилен не является индуктором синтеза АБК при УФ-В стрессе, и что СПЭ лишь в небольшой степени может регулировать ее накопление. Тем не менее, потеря устойчивости к УФ-В радиации при заблокированном СПЭ указывает на существование регулируемого СПЭ процесса, от которого значительной степени зависит УФ-В устойчивость растений.

Литература

Карягин В.В., Ракитин В.Ю., Садовская В.Л. Количественное определение индолил-3-уксусной кислоты, абсцизовой кислоты и галоидфеноксикислот в одном образце растительной ткани. В сб.: Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений под ред. Вл.В. Кузнецова и др. – М., Бином, 2011. – С. 316–323.

Прудникова О. Н., Ракитина Т. Я., Карягин В. В., Власов П. В., Ракитин В. Ю. Участие этилена в индуцированном УФ-В изменении содержания полиаминов в растениях *Arabidopsis thaliana* // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 5. – С. 644–648.

Ракитин В.Ю., Карягин В.В., Ракитина Т.Я., Прудникова О.Н., Власов П.В. Особенности образования АБК у мутантов этиленового сигнального пути *Arabidopsis thaliana* при УФ-В стрессе // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 6. – С. 942–944.

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, № 3. – С. 355–361.

Ракитин В. Ю., Прудникова О.Н., Ракитина Т.Я., Карягин В.В., Власов П.В., Новикова Г.В., Мошков И.Е. Взаимодействие этилена и АБК в регуляции уровня полиаминов у *Arabidopsis thaliana* при УФ-В стрессе // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 2. – С. 163–169.

Ракитин В.Ю., Ракитин Л.Ю. Определение газообмена и содержания этилена, двуокси углерода и кислорода в тканях растений // Физиология растений. – 1986. – Т. 33, вып. 2. – С. 403–413.

Abeles F., Morgan P., Salveit J. Ethylene in Plant Biology. – San Diego: Academic Press, 1992. – 414 p.

Grossmann K., Hansen H. Ethylene-triggered abscisic acid: a principle in plant growth regulation // *Physiol. Plant.* – 2001. – V. 113. – P. 9–14.

Kaur-Sawhney R., Tiburcio A., Altabella T., Galston A.W. Polyamines in plants: an overview // *J. Cell Mol. Biol.* – 2003. – V. 2. – P. 1–12.

Zeevaart J.A.D., Creelman R.A. Metabolism and physiology of abscisic acid // *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1988. – V. 39. – P. 439–473.

THE INVOLVEMENT OF ETHYLENE SIGNALING PATHWAY IN UV-B INDUCED ACCUMULATION OF ABA IN *ARABIDOPSIS THALIANA* WT AND NOT SYNTHESIZING SPERMINE MUTANT *SPMS 1-1*

O.N. Prudnikova, V.V. Karyagin, T.Ya. Rakitina, V.Yu. Rakitin

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, rakit@ippras.ru

Abstract. We investigated the involvement of ethylene signaling pathway in the regulation of ABA accumulation under UV-B stress in *Arabidopsis thaliana* WT and not synthesizing spermine mutant *spms 1-1*. The use of a blocker of ethylene receptors, 1-methylcyclopropene (1-MCP) has shown that the signaling pathway of ethylene was not induce, but only 10-20 % increased ABA accumulation, caused by UV-B stress

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, ABA, ethylene, polyamines, UV-B