ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

ИЗМЕНЕНИЕ ВКЛАДА АКВАПОРИНОВ В ГИДРАВЛИЧЕСКУЮ ПРОВОДИМОСТЬ РАСТЕНИЙ НА ФОНЕ ФОРМИРОВАНИЯ АПОПЛАСТНЫХ БАРЬЕРОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЗАСОЛЕНИЯ

Иванов Р.С., Шарипова Г.В., Ахиярова Г.Р.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального
исследовательского центра РАН, Уфа

*E-mail: ivanovirs@mail.ru

CHANGE IN CONTRIBUTION OF AQUAPORINS TO THE HYDRAULIC CONDUCTIVITY OF PLANTS DURING THE FORMATION OF APOPLASTIC BARRIERS UNDER SALINITY

Ivanov R.S., Sharipova G.V., Akhiyarova G.R.

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences, Ufa

*E-mail: ivanovirs@mail.ru

Обеспечение роста продуктивности растений на фоне засоления требует изучения особенностей адаптации растений к этим условиям. Наряду со снижением доступности воды для растений ингибирование роста растений связано с токсическим действием ионов натрия. Формирование апопластных барьеров за счет отложения суберина и лигнина ограничивает неконтролируемую диффузию ионов. Однако формирование таких барьеров снижает пропускную способность апопластного пути для движения воды. В этих условиях возрастает роль трансмембранного переноса воды, который обеспечивают водные каналы аквапорины.

В связи с этим целью данной работы являлось определение вклада водных каналов аквапоринов в гидравлическую проводимость растений гороха на фоне усиления формирования апопластных барьеров под влиянием засоления. В соответствии с представлениями о доминировании апопластного пути в отсутствие барьеров в виде поясков Каспари, в наших экспериментах хлорид ртути вызывал лишь небольшое снижение транспирации в отсутствие засоления. Засоление ускоряло образование поясков Каспари, о чем свидетельствует появление пластинок суберина в эндодерме корней, что сопровождалось снижением гидравлической проводимости. Однако снижение гидравлической проводимости на фоне обработки хлоридом ртути было в 2 раза больше на фоне засоления, что подтвердило увеличение вклада аквапоринов в суммарную гидравлическую проводимость при формировании поясков Каспари.

Ключевые слова: *Pisum sativum* ♦ горох посевной ♦ засоление ♦ аквапорины ♦ пояски Каспари ♦ гидравлическая проводимость

The study of plant adaptation mechanisms during the salt stress is required to provide an increase in plant productivity under such conditions. Along with a decrease in the availability of water for plants, the NaCl-induced inhibition of plant growth is associated with the toxic effect of sodium ions. The formation of apoplastic barriers due to the deposition of suberin and lignin restricts passive ion diffusion. However, the formation of such barriers reduces the capacity of the apoplastic pathway for water movement. In these conditions the role of transmembrane water transport is increased. This process is provided by aquaporin water channels.

Thus the purpose of this work was to determine the contribution of aquaporins to hydraulic conductivity of peas plants under salinity-induced apoplastic barrier formation. An only slight decrease in plants transpiration caused by mercury chloride in the absence of salinization was in accordance with the ideas the apoplast is the dominant pathway when the Casparian bands is not formed yet. Salt stress in our experiments accelerated the development of the Casparian bands formation which could be visualized as an appearance of suberin strips in root endodermis which in turn was accompanied by a decrease in hydraulic conductivity. The decrease in hydraulic conductivity in 2 times during the mercury chloride treatment under salinity confirmed that contribution of aquaporins to the total hydraulic conductivity was increased under conditions when Casparian bands have had formed.

Keywords: *Pisum sativum* ♦ pea ♦ salinization ♦ aquaporins ♦ Casparian bands ♦ hydraulic conductivity

Поступила в редакцию: 26.11.2021

DOI: [10.31163/2618-964X-2021-4-4-249-254](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2021-4-4-249-254)

ВВЕДЕНИЕ

В отличие от животных, для которых оптимальной является изотоническая среда, растения приспособлены к росту на гипотонической среде. «Физиологический» 100 мМ раствор хлорида натрия, который используют для инфузий, подавляет рост растений [Fricke

et al., 2004]. Этот ингибирующий эффект связан с тем, что для поддержания тургора клеток и характерного для растений их быстрого растяжения необходим градиент водного потенциала между клеткой и окружающей средой, который снижается из-за присутствия солей в питательном растворе [Кудоярова и др., 2013]. Поэтому не удивительно, что рост и урожайность растений падают при их выращивании на засоленной почве. Тем не менее, использование засоленных земель в растениеводстве становится неизбежным. Необходимость прокормить постоянно растущее население земного шара требует повышения урожая растений. Поскольку ресурс плодородных земель к настоящему времени почти исчерпан, для дальнейшего роста урожая необходимо вовлечение в растениеводство менее плодородных земель, что диктует необходимость повышения урожайности растений в этих условиях. Для увеличения продуктивности растений в условиях повышения аридности климата все шире применяется поливное земледелие, что приводит к засолению почвенного раствора [Габбасова и др., 2006]. Обеспечение роста продуктивности растений на фоне засоления требует изучения особенностей адаптации растений к этим условиям. Многое здесь пока остается неясным.

Наряду со снижением доступности воды для растений (так называемый осмотический компонент засоления, обзор Веселов и др., 2007 и ссылки в нем), ингибирование роста растений связано с токсическим действием хлорида натрия, присутствие которого в почвенном растворе является наиболее распространенным типом засоления. Токсичность ионов натрия для растений, связано с их конкуренцией с ионами калия за связывание с переносчиками, обеспечивающими активное поглощение ионов калия, необходимых для фотосинтеза [Munns, Tester, 2008]. Нарушение баланса этих ионов в пользу натрия неизбежно ингибирует рост растений, снижая их продуктивность. Таким образом, поддержание ионного гомеостаза является важным механизмом солеустойчивости растений. В значительной степени поддержание ионного гомеостаза зависит от формирования апопластных барьеров за счет отложения суберина и лигнина, которые ограничивают неконтролируемую диффузию ионов [Geng et al., 2013]. Однако формирование таких барьеров снижает пропускную способность апопластного пути для движения воды. В этих условиях должна возрастать роль трансмембранного переноса воды, который обеспечивает ее поток через клетки (симпластный и трансклеточный пути). Важную роль в трансмембранном переносе воды играют водные каналы аквапорины. Хотя их роль в адаптации к засолению изучается [Kumar, Saddhe, 2018], а во многих обзорах упоминается, что она должна возрастать на фоне формирования апопластных барьеров [Nachez et al., 2006; Robbins et al., 2014; Byrt et al., 2018], экспериментальные исследования в этом плане отсутствуют. В связи с вышеизложенным цель данной работы заключалась в выявлении вклада водных каналов аквапоринов в гидравлическую проводимость растений на фоне усиления формирования апопластных барьеров под влиянием засоления. Для достижения этой цели проведена оценка влияния ингибитора водных каналов хлорида ртути на гидравлическую проводимость растений гороха в присутствии и отсутствии хлорида натрия в питательном растворе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Семена гороха посевного *Pisum sativum* сорта Сахарный 2 (Агрофирма «Аэлита») замачивали в воде в течение суток, после чего оборачивали влажной марлей для прорастания. Трехсуточные проростки гороха пересаживали на вырезанные из вспененного полипропилена диски по 9 растений на диск, помещали в поддоны с водопроводной водой и выставляли на светоплощадку с 14-часовым фотопериодом,

освещенностью 400-500 мкмоль $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ФАР (лампы ZN-500 и DNAT-400), аэрацией и температурой 24/18°C (день/ночь). В возрасте 7 суток часть проростков переносили в поддоны с 10% питательным раствором Хогланда-Арнона, а другую часть в поддоны с питательным раствором с добавлением 50 мМ хлорида натрия. Замену растворов проводили ежедневно. Для определения транспирации на седьмые сутки после добавления соли в питательный раствор диски с проростками переносили в стаканы объемом 400 мл с тем же раствором, на котором росли растения. Стаканы накрывали алюминиевой фольгой с отверстиями для проростков для предотвращения испарения воды с поверхности питательного раствора. Вес стаканов определяли каждые 30 минут в течение часа и по разнице в весе рассчитывали интенсивность транспирации. Для ингибирования аквапоринов в стаканы с растениями добавляли HgCl_2 в концентрации 0,1 мМ непосредственно перед измерением транспирации. Гидравлическую проводимость листа (L) по аналогии с законом Ома рассчитывали по формуле: $L = T/(\Psi_s - \Psi_l) \cdot m$, где T – транспирация ($\text{г H}_2\text{O} \cdot \text{растение}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$), Ψ_s – водный потенциал питательного раствора (МПа), Ψ_l – водный потенциал листа (МПа) и m – масса корня (г) (модификация метода [Bunce, Ziska, 1998]). Водный потенциал питательного раствора определяли с помощью осмометра (Osmomat 030 “Gonotec GmbH”, Берлин, Германия), для измерения водного потенциала дифференцированного листа брали высечки второго яруса и помещали в датчики психрометра (PSYPRO, “Wescor”, Logan, США).

Оценку отложения суберина проводили на поперечных срезах корня, приготовленных вручную с помощью остро отточенной бритвы на равном расстоянии от базальной части и кончика корня, окрашивая спиртовым раствором судана III (Sigma, Германия) в темно-оранжевый цвет [Efetova et al., 2007].

РЕЗУЛЬТАТЫ

На фоне засоления на поперечных срезах в области эндодермы заметно отложение суберина в формирующихся поясках Каспари (Рис. 1б). На срезах контрольных растений, в питательную среду которых не добавляли хлорид натрия, отложение суберина в области эндодермы не обнаружено.

Рис. 1. Поперечный срез корня растений гороха, сделанный на равном удалении от базальной части и кончика корня, окрашенный Суданом III. а – корни контрольных растений, которые росли на 10% растворе Хогланда-Арнона; б- корни растений на 7 сутки после введения в питательный раствор 50 мМ хлорида натрия. Стрелками показаны формирующиеся в эндодерме корня пояски Каспари.

Рис. 2. Влияние 50 мМ хлорида натрия (7суток) и ингибирования аквапоринов с помощью 0,1 мМ хлорида ртути (60 мин) на транспирацию растений гороха.

Как видно из рис. 2, засоление снижало уровень транспирации примерно в 2 раза. Добавление хлорида ртути в питательный раствор также замедляло транспирацию растений, что было более заметно на фоне засоления: в контроле хлорид ртути снижал транспирацию на в 1,2 раза, а в присутствии NaCl – более чем в 2,5 раза.

Рис. 3. Влияние 50 мМ хлорида натрия (7суток) и ингибирования аквапоринов с помощью 0,1 мМ хлорида ртути (60 мин) на водный потенциал листа растений гороха.

Как засоление 50 мМ хлоридом натрия, так и присутствие ингибитора аквапоринов (0,1 мМ хлорид ртути) снижало водный потенциал листьев гороха (рис. 3). Самым низким (менее -1,2 МПа) был водный потенциал растений на фоне действия хлорида ртути в сочетании с засолением.

Рис. 4. Влияние 50 мМ хлорида натрия (7 суток) и ингибирования аквапоринов с помощью 0,1 мМ хлорида ртути (60 мин) на гидравлическую проводимость растений гороха.

Как и водный потенциал, гидравлическая проводимость уменьшалась под влиянием засоления и хлорида ртути (рис. 4). Самые низкие значения этого показателя были зарегистрированы у растений, испытывавших одновременное воздействие хлорида натрия и ртути. Влияние хлорида ртути было более заметно на фоне засоления: в присутствии хлорида натрия ингибитор снижал гидравлическую проводимость в пять с лишним раз, а в отсутствие NaCl – только в 2,5 раза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Засоление ускоряло образование поясков Каспари, о чем свидетельствует появление пластинок суберина в эндодерме корней (рис. 1). У растений этого возраста в контроле (в отсутствие соли) отложение суберина не было заметно. Полученные результаты соответствуют данным литературы о влиянии засоления на формирование апопластных барьеров [Geng et al., 2013]. Отложение суберина на фоне засоления сопровождалось, как и ожидалось снижением гидравлической проводимости корней (рис. 4). Этот феномен объясняется гидрофобными свойствами суберина, отложение которого снижает гидравлическую проводимость апопластного пути. В отсутствие апопластных барьеров именно этот путь является доминирующим, поскольку отличается более низким сопротивлением для движения воды [Steudle, 2000]. В соответствии с представлениями о доминировании апопластного пути в отсутствие барьеров в виде поясков Каспари, в наших экспериментах хлорид ртути вызывал лишь небольшое снижение транспирации в отсутствие засоления. Эти результаты свидетельствуют о том, что у контрольных растений вклад трансмембранного переноса воды через аквапорины был менее значительным. Измерение гидравлической проводимости на фоне обработки ингибитором аквапоринов (хлоридом ртути) подтвердило, что на фоне засоления зависимость суммарной гидравлической проводимости от активности аквапоринов возрастала. Об этом свидетельствует тот факт, что снижение гидравлической проводимости было в 2 раза больше на фоне засоления, чем в отсутствие хлорида натрия в растворе.

Таким образом, нами получено недостающее экспериментальное подтверждение популярной точки зрения (основанной на общих соображениях) о возрастании роли трансмембранного переноса воды в гидравлической проводимости растений на фоне вызванного засолением ускоренного формирования апопластных барьеров.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (№ 21-14-00070).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Веселов Д.С., Маркова И.В., Кудоярова Г.Р. Реакция растений на засоление и формирование солеустойчивости // Успехи современной биологии. 2007. Т. 127 (5). С. 482-493.
2. Габбасова И.М., Сулейманов Р.Р., Ситдииков Р.Н., Гарипов Т.Т., Комиссаров А.В. Влияние длительного орошения на свойства черноземов выщелоченных в лесостепи Южного Приуралья // Почвоведение. 2006. № 3. С. 317-324.
3. Кудоярова Г.Р., Холодова В.П., Веселов Д.С. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды // Физиология растений. 2013. Т. 60 (2). С. 155-165. DOI: 10.7868/S0015330313020140
4. Bunce J.A., Ziska L.H. Decreased hydraulic conductance in plants at elevated carbon dioxide // Plant Cell Environ. 1998. V. 21. P. 121–126. DOI: 10.1046/j.1365-3040.1998.00256.x
5. Byrt C.S., Munns R., Burton R.A., Gilliam M., Wege S. Root cell wall solutions for crop plants in saline soils // Plant Sci. 2018. V. 269. P. 47-55. DOI: 10.1016/j.plantsci.2017.12.012
6. Efetova M., Zeier J., Riederer M., Lee C.W., Stingl N., Mueller M., Hartung W., Hedrich R., Deeken R. A central role of abscisic acid in drought stress protection of Agrobacterium-induced tumors on Arabidopsis // Plant Physiol. 2007. V. 145. P. 853–862. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.107.104851>
7. Fricke W., Akhiyarova G., Veselov D., Kudoyarova G. Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves // J Exp Bot. 2004. V. 55. P. 1115-1123. DOI: 10.1093/jxb/erh117
8. Geng Y., Wu R., Wee C.R., Xie F., Wei X., Chan P.M.Y., Tham C., Duan L., Dinneny J.R. A spatio-temporal understanding of growth regulation during the salt stress response in Arabidopsis // The Plant Cell. 2013. V. 25. P. 2132–2154. DOI: 10.1105/tpc.113.112896
9. Hachez C., Moshelion M., Zelazny E., Cavez D., Chaumont F. Localization and quantification of plasma membrane aquaporins 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
10. Kumar K., Saddhe A.A. Targeting aquaporins for conferring salinity tolerance in crops. In: Salinity responses and tolerance in plants, Volume 1. Ed. by V. Kumar, S. Wani, P. Suprasanna, L.S. Tran. Springer, Cham. 2018. DOI: 10.1007/978-3-319-75671-4_3
11. Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance // Annu. Rev. Plant Biol. 2008. V. 59. P. 651–81. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
12. Robbins N.E., Trontin C., Duan L., Dinneny J.R. Focus issue on roots beyond the barrier: communication in the root through the endodermis // Plant Physiol. 2014. V. 166. P. 551–559. DOI: 10.1104/pp.114.244871
13. Steudle E. Water uptake by roots: effects of water deficit // J. Exp. Bot. 2000. V. 51. P. 1531–1542. DOI: 10.1093/jexbot/51.350.1531