

РОЛЬ ГИББЕРЕЛЛИНОВ В КОРРЕЛЯТИВНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ПОБЕГОВ У РАСТЕНИЙ ГОРОХА

Л.М. Котова, А.А. Котов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, kotov_andrei-62@mail.ru

Аннотация. Взаимодействие побегов в связи с транспортом ИУК и цитокининов было изучено у растений гороха с. *Адагумский* с выраженным апикальным доминированием (АД) и карликового с. *Порта* с ослабленным АД. В модельной системе двухпобеговых проростков побеги с. *Адагумский* коррелятивно подавляли рост друг друга и ИУК-экспортирующую активность (ИЭА), что коррелировало с уровнем ксилемных цитокининов (Х-СК), тогда как у с. *Порта* Х-СК не регулировали этот процесс. Обработка ГК₃ усиливала АД и индуцировала взаимодействие между побегами у с. *Порта*, делая его сходным с с. *Адагумский*.

Ключевые слова: *Pisum sativum*, коррелятивное ингибирование, цитокинины, ИУК, гиббереллины

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-443-447

Введение. Ранее нами было продемонстрировано, что основой коррелятивного взаимодействия побегов в модельной системе двухпобеговых (2-В) проростков гороха является взаимодействие между ИУК побегов и Х-СК [Kotov and Kotova, 2018]. С одной стороны, цитокинины (СК) способны активировать рост побегов и экспорт из них ИУК [Li et al., 1995; Kotov and Kotova, 2018], а с другой стороны, содержание СК в ксилемном соке (КС) подвержено негативному контролю со стороны ИУК из побегов [Li et al., 1995; Котова и др., 2004; Tanaka et al., 2006; Котов и Котова, 2015; Kotov and Kotova, 2018]. Результаты сравнения для одно- (1-В) и 2-В растений показали наличие гомеостаза ИУК в гипокотиле, поддерживаемого с помощью СК: уменьшение содержания ИУК ниже некоторого порога являлось сигналом включения синтеза СК, которые, переходя в ксилемный пул, активировали экспорт ИУК из побега, тем самым вновь отключая синтез СК [Kotov and Kotova, 2018]. В данной модели снижение ИУК в гипокотиле при удалении одного из побегов активировало в нём синтез СК до тех пор, пока их содержание в ксилеме не становилось достаточным для индукции экспорта ИУК из оставшегося побега до уровня, ранее суммарно производимого двумя побегами, что объясняет принцип межпобегового взаимодействия. Нами было обнаружено, что карликовые сорта, которые являются обычно гиббереллин-дефицитными и обладают повышенным ветвлением, отличаются от высоких сортов отсутствием взаимодействия побегов в 2-В системе. Для изучения данного явления в настоящей работе был проведен сравнительный анализ транспорта и содержания ИУК и СК в сортах *Адагумский* (полукарликовый) и *Порта* (карликовый).

Материалы и методы. Семена гороха (*Pisum sativum* L.) сортов *Адагумский* и *Порта* проращивали, как описано ранее [Котов и Котова, 2015]. Для получения 2-В растений у 4-дневных проростков удаляли эпикотиль и растения культивировали на воде при 20 ± 1 °С, с уровнем света 10 клк и режимом 14 ч свет/10 ч темнота. У части 8-дневных 2-В проростков удаляли один или оба побега, получая 1-В или безпобеговые (0-В) растения. Через 2 дня проводили сбор проб КС, тканей гипокотилия и диффузатов из побегов. У 2-В и 1-В проростков с помощью микроскопа МБС 10 в течение 3 дней ежедневно измеряли длину побегов и вычисляли средний суточный прирост ($\Delta L/L$) для 9 проростков \pm SE.

ИЭА побегов определяли диффузатным методом [Kotov and Kotova, 2000]. Значение ИЭА для каждого опытного варианта находили как среднее 5 проб из 6

растений \pm SE. Обработку БАП 8-дневных 2-В растений проводили, пропуская через гипокотиль хлопковую нить, конец которой был опущен в эппендорф с 1.5 мл 1 или 10 μ М БАП. Гиббереллином (ГК) обрабатывали, выращивая растения с 8-го дня на водной культуре с добавлением 10 (20) μ М ГК₃. Для обеих обработок через 2 дня проводили определение ИЭА побегов.

Сбор КС проводили вакуумизацией 30 мин при -0.6 (-0.8) МПа [Котов и Котова, 2015]. КС собирали из корня с гипокотилем или только из корня, обрезая проросток непосредственно под семядолями или ниже их на 1.5 см, соответственно. Содержание СК Z-типа определяли методом ELISA [Котов и Котова, 2015]. По результатам 12-18 проб, каждая из 2-4 растений, в SigmaPlot 11 для Windows 7 строили линейную регрессию зависимости между скоростью подъема сока и содержанием в нем СК Z-типа, и по экстраполяции для нулевой точки транспорта сока вычисляли ожидаемый уровень концентрации Z-СК в ксилеме \pm SE.

Пробы тканей гипокотилия собирали, отсекая 2 мм сегмент гипокотилия, отступив приблизительно на 2–3 мм под семядольным узлом. Для каждого опытного варианта брали по 4 пробы (10 сегментов 150 – 250 мг сыр. в. в каждой) и их экстракцию, очистку и ELISA проводили по Kotov and Kotova [2018].

Результаты и обсуждение. Базальные почки у карликового с. *Порта* были более развиты, особенно 2-я, чем у полукарликового с. *Адагумский*, что свидетельствует об ослаблении АД в первом случае (рис. 1). Корневая обработка проростков с. *Порта* 20 μ М ГК₃ незначительно активировала

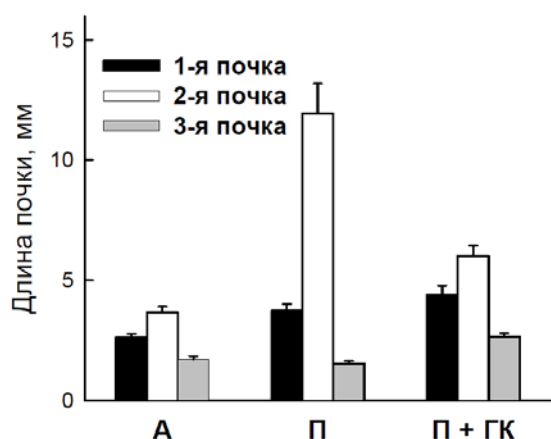


Рис. 1. Длина пазушных почек 12-дневных проростков гороха сортов *Адагумский* (А), *Порта* (П) и *Порта*, выращенных на 20 μ М ГК₃ с 6-го дня (П+ГК).

отрастание 1-й и 3-й почки, однако значительно ослабляла отрастание 2-й, в целом делая рост базальных пазушных почек близким к с. *Адагумский*. Данный факт подтверждает, что ослабление АД у с. *Порта* вероятно связано с дефицитом ГК.

Удаление одного из побегов у 10-дневных 2-В проростков стимулировало усиление роста оставшегося побега (рис. 2а) и увеличение его ИЭА (рис. 2б) у с. *Адагумский*, тогда как у с. *Порта* не отмечалось ни ростового, ни ауксин-транспортного взаимодействия между побегами. Обработка с. *Порта* 10 μ М ГК₃ индуцировала взаимодействие между

побегами на уровне экспорта ИУК, делая с. *Порта* сходным с с. *Адагумский* (рис. 2б), что подтверждает ранее сделанное предположение о дефиците ГК у с. *Порта*.

У с. *Адагумский* введение в гипокотиль 1 μ М БАП увеличивало ИЭА побегов в 2-В растениях до ИЭА 1-В побегов (рис. 3), а анализ ксилемного сока показал, что различие роста и ИЭА побегов в 2-В и 1-В проростках обусловлено разным уровнем Х-СК (рис. 4). Таким образом, для данного сорта результаты свидетельствовали о ключевой роли СК во взаимодействии побегов. При сравнении сортов *Адагумский* и *Порта*, в последнем уровне Х-СК 2-В и 1-В проростков практически не отличались и были в 2 раза ниже, чем в 1-В проростках с. *Адагумский* (рис. 4), ИЭА побегов которых было даже немного ниже, чем у с. *Порта* (рис. 2б). Принимая во внимание сходную чувствительность к СК у обоих сортов (рис. 3), очевидно, что уровень Х-СК у с. *Порта*

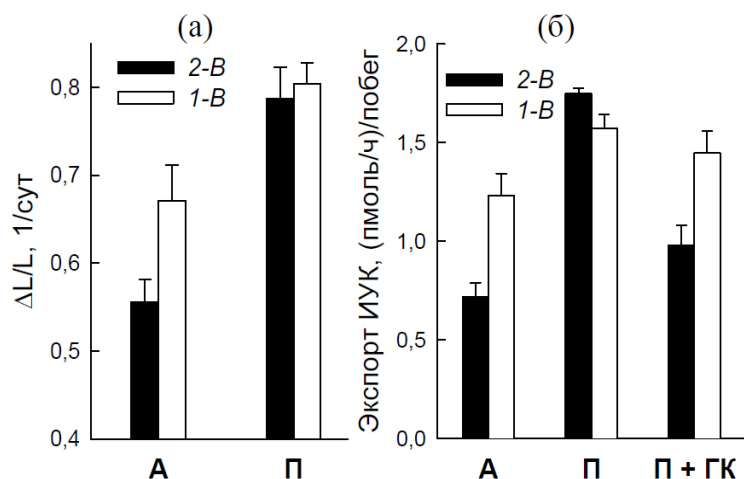


Рис. 2. Относительный суточный прирост ($\Delta L/L$) побегов у 9-дневных 2-В и 1-В проростков (а) и (б) экспорт ИУК из побегов 10-дневных проростков сортов *Адагумский* (А), *Порта* (П) и *Порта*, выращенных на 10 μM ГК₃ с 8-го дня (П+ГК).

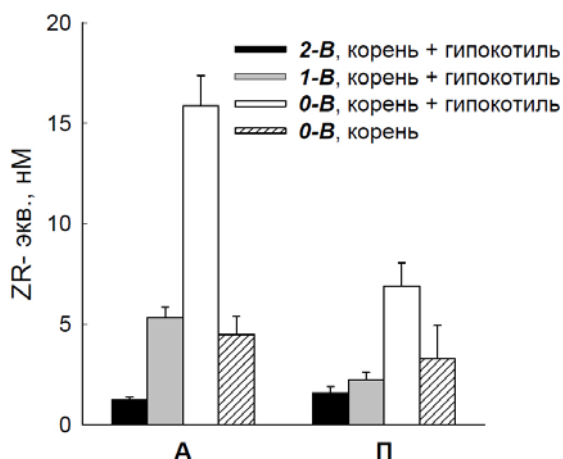


Рис. 4. Концентрация СК Z-типа в КС 10-дневных растений сортов *Адагумский* (А) и *Порта* (П).

не соответствовал наблюдаемой ИЭА побегов, и в данном случае Х-СК не могли являться регуляторами ИЭА и роста побегов. Одним из предположений является то, что побеги у с. *Порта*, возможно, способны автономно синтезировать СК, что объясняло бы независимость их роста и ИЭА друг от друга и отсутствие ответа на введение в hypocotyle 1 μM БАП (рис. 3), однако данное предположение нуждается в проверке и подтверждении возможной роли ГК в данном процессе.

Данные по содержанию гормонов в hypocotyle, который является наиболее вероятным местом контроля синтеза Х-СК ауксином, экспортируемым из побегов [Kotov and Kotova, 2018] для 1-В и 2-В растений с. *Адагумский* свидетельствовали о наличии гомеостаза

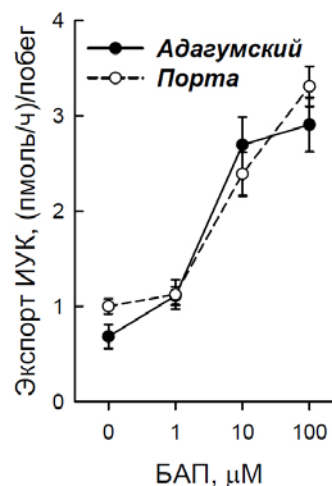


Рис. 3. Действие введения раствора БАП в hypocotyle на экспорт ИУК из побегов 10-дневных 2-В растений сортов *Адагумский* и *Порта*.

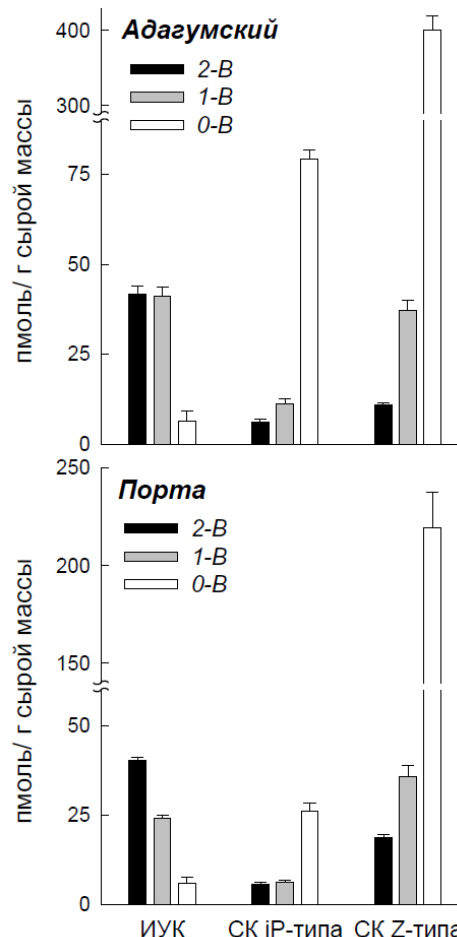


Рис. 5. Содержание ИУК и СК Z- и iP-типа в hypocotyle 2-В, 1-В и 0-В 10-дневных проростков.

ИУК в гипокотиле (рис. 5), поддерживаемым СК через активацию экспорта ИУК из побегов согласно ранее описанной динамической модели [Kotov and Kotova, 2018]. Как уже отмечалось, у с. *Порта*, видимо, нарушена связь между экспортом ИУК из побегов и Х-СК, и, таким образом, ИУК-СК баланс в гипокотиле у 1-В и 2-В растений качественно отличался от с. *Адагумский*. У с. *Порта* меньшему содержанию ИУК соответствовал больший уровень СК (рис. 5), что согласуется с положением о негативной регуляции синтеза СК ауксинами [Tanaka et al., 2006]. В этом случае, однако, становится неясен механизм, отключающий синтез и определяющий верхнюю границу содержания СК, который в модели для с. *Адагумский* контролируется отрицательной обратной связью с экспортом ИУК из побегов [Kotov and Kotova, 2018]. Предположительно, существует авторегуляция синтеза СК, которые способны стимулировать экспрессию TIR/AFB ауксиновых рецепторов [Kolachevskaya et al., 2017], тем самым увеличивая чувствительность к ИУК и активируя ее негативный эффект на синтез СК, однако данная гипотеза требует экспериментального подтверждения.

Литература

Котов А.А., Котова Л.М. Роль акропетального водного транспорта в регуляции уровня цитокининов в стеблях проростков гороха // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 3. – С. 420–431.

Котова Л.М., Котов А.А., Кара А.Н. Изменение баланса фитогормонов в стеблях и корнях гороха после декапитации проростков // Физиология растений. – 2004. – Т. 51, № 1. – С. 121–125.

Li C., Bangerth F. Stimulatory effect of cytokinins and interaction with IAA on the release of lateral buds of pea plants from apical dominance. // J. Plant Physiol. – 2003. – V. 160, № 9. – P. 1059–1063.

Li C.-J., Guevara E., Herrera J., Bangerth F. Effect of apex excision and replacement by 1-naphthylacetic acid on cytokinin concentration and apical dominance in pea plants // Physiol. Plant. – 1995. – V. 94, № 3. – P. 465–469

Kolachevskaya O.O., Sergeeva L.I., Floková K., Getman I.A., Lomin S.N., Alekseeva V.V., Rukavtsova E.B., Buryanov Y.I., Romanov G.A. Auxin synthesis gene *tms1* driven by tuber-specific promoter alters hormonal status of transgenic potato plants and their responses to exogenous phytohormones // Plant Cell Rep. – 2017. – V. 36, № 3. – P. 419–435.

Kotov A.A., Kotova L.M. The contents of auxins and cytokinins in pea internodes as related to the growth of lateral buds // J. Plant Physiol. – 2000. – V. 156, № 4. – P. 438–448.

Kotov A.A., Kotova L.M. Auxin-cytokinin interactions in regulating correlative inhibition in two-branched pea seedlings // J Exp. Bot. – 2018. –

Tanaka M., Takei K., Kojima M., Sakakibara H., Mori H. Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance // Plant J. – 2006. – V. 45, № 6. – P. 1028–1036

THE ROLE OF GIBBERELLINS IN CORRELATIVE INTERACTIONS BETWEEN THE SHOOTS OF PEA PLANTS

L.M. Kotova, A.A. Kotov

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, *kotov_andrei-62@mail.ru*

Abstract. The interactions of shoots in relation to the transports of IAA and cytokinins were studied in pea plants of cv. *Adagumsky* having a strong apical dominance (*AD*) and a dwarf cv. *Porta* with a weakened *AD*. In a model system of two-branched seedlings, the shoots of cv. *Adagumsky* competitively suppressed the growth and IAA export activity (*IEA*) of each other, and that correlated with the levels of xylem cytokinins (*X-CK*), while *X-CK* did not participate in this process in cv. *Porta*. The treatment with GA₃ enhanced *AD* and induced the shoot interaction in cv. *Porta*, making it similar to cv. *Adagumsky*.

Keywords: *Pisum sativum*, correlative inhibition, cytokinins, IAA, gibberellins