

УДК 581.1

АДАПТАЦИЯ К УФ-В РАДИАЦИИ В ОНТОГЕНЕЗЕ *ARABIDOPSIS THALIANA*. УЧАСТИЕ ЭТИЛЕНА, АБК И ПОЛИАМИНОВ

© 2019 г. О. Н. Прудникова^а, Т. Я. Ракитина^а, В. В. Карягин^а, В. Ю. Ракитин^а. *

^аФедеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, Москва, 127276 Россия

*e-mail: rakit@ippras.ru

Поступила в редакцию 18.03.2019 г.

После доработки 18.03.2019 г.

Принята к публикации 28.04.2019 г.

Исследовано участие сигнального пути этилена (СПЭ) и полиамина спермина в регуляции накопления АБК при адаптации *Arabidopsis thaliana* дикого типа (WT) и не синтезирующего спермин мутанта *spms 1-1* к умеренной 7 кДж/м², высокой 14 кДж/м² и летальной 21 кДж/м² дозе УФ-В радиации. Установлено, что содержание спермина не является критическим параметром при УФ-В индуцированном увеличении выделения этилена, накоплении АБК и путресцина. Тем не менее у необлученных растений *spms 1-1* было обнаружено в полтора раза большее выделение этилена и содержание АБК, чем у интактных растений WT. Блокирование рецепторов этилена 1-метилциклопропеном (1-МСП) показало, что при УФ-В стрессе СПЭ не индуцирует синтез АБК в WT и *spms 1-1*, а лишь на 10–20% увеличивает ее дозозависимое 1.5–3 кратное накопление за сутки, вызванное УФ-В радиацией. Однако двукратное снижение устойчивости к умеренной и высокой дозам УФ-В у растений WT и *spms 1-1* с заблокированным 1-МСП СПЭ указывает на существование регулируемого этиленом процесса, участвующего в адаптации растений к УФ-В радиации.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, *spms1-1*, АБК, этилен, 1-метилциклопропен, полиамины, УФ-В

DOI: 10.1134/S0475145019050070

ВВЕДЕНИЕ

Онтогенез растений на протяжении всего жизненного цикла осуществляется в результате взаимодействия их генетической программы с многочисленными сенсорами, воспринимающими состояние окружающей среды. При помощи сенсоров растения анализируют состав атмосферы и почвы, температурный и водный режимы, интенсивность, продолжительность и спектральный состав света, а также механические и биохимические контакты с симбиотическими и паразитическими организмами. Вся эта информация позволяет растениям, ведущим неподвижный образ жизни, взаимодействуя или конкурируя с другими организмами, реагировать или адаптироваться к широкому диапазону условий окружающей среды для осуществления своей генетической программы.

Ультрафиолетовое (280–320 нм) излучение Солнца, достигающее поверхности Земли, является одним из исключительно важных параметров, адаптация к которому обеспечивает растениям возможность успешного существования и воспроизведения.

Исследование механизмов восприятия, передачи сигнала и ответных реакций, обеспечиваю-

щих адаптацию и выживание растений при различных уровнях УФ-В радиации принесло значительные успехи. Открыт специфический УФ-В рецептор UVRESISTANCE LOCUS8 (UVR8) (Jenkins, 2009; Heijde et al., 2012; Li et al., 2013). Показано, что эффекты УФ-В, зависящие и независимые от UVR8, осуществляются с участием фитогормонов, в частности с участием этилена, АБК и таких физиологически активных соединений, как полиамины и активные формы кислорода (Rakitina et al., 1994, 2001; Vanhaelewyn et al., 2016).

Участие этилена в адаптации растений к УФ-В стрессу было продемонстрировано при блокировании 1-метилциклопропеном (1-МСП) сигнального пути этилена у *Arabidopsis thaliana* WT и использовании нечувствительных к этилену мутантов: *etr 1-1*, неспособного активировать СПЭ, и *ctr 1-1* с конститутивно активированным СПЭ. УФ-В устойчивость растений с СПЭ, заблокированным 1-МСП или в результате мутации *etr 1-1*, оказалась в два раза ниже, чем у растений WT и *ctr 1-1* с активированным СПЭ. Обработки этиленом или 1-МСП не влияли на содержание полиаминов путресцина, спермидина и спермина в необлученных растениях *Arabidopsis thaliana* WT. Однако в растениях WT, облученных умеренной

дозой УФ-В, в которых СПЭ был активирован эндогенным стрессовым этиленом, содержание путресцина за сутки выросло в 6.4 раза, а в растениях с заблокированным 1-МСП СПЭ в 8 раз. В то же время содержание спермидина и спермина в облученных растениях с заблокированным 1-МСП СПЭ было меньше на 14 и 18% соответственно, чем в растениях с активированным СПЭ, что указывает на возможное участие этилена в регуляции синтеза этих полиаминов из путресцина, накапливающегося под влиянием УФ-В радиации. Приведенные данные показывают, что активированный стрессовым эндогенным этиленом СПЭ необходим для адаптации растений к УФ-В радиации, но при этом он не является индуктором синтеза путресцина, предшественника спермидина и спермина (Прудникова и др., 2016).

Вовлеченность АБК в транскрипционную регуляцию биосинтетических путей полиаминов при засухе была продемонстрирована при изучении экспрессии генов биосинтеза полиаминов у растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа WT и мутантов с поврежденным синтезом (*aba 2-3*) и сигналингом (*abi 1-1*) АБК. Гены аргининдекарбоксилазы-2 (ADC 2), спермидинсинтазы-1 (SPDS 1) и сперминсинтазы (SPMS) были наиболее чувствительны к засухе. Экспрессия этих генов в WT увеличивалась в несколько раз в ответ на засуху, в то время как в мутантах *aba 2-3* и *abi 1-1* происходила значительно более умеренная их экспрессия. Эти результаты показали, что транскрипционная активация ADC 2, SPDS 1 и SPMS засухой модулируется АБК (Alcazar et al., 2011, 2012).

Эффект транскрипционной регуляции генов биосинтеза полиаминов на содержание путресцина, спермидина и спермина также был проанализирован. Растения WT демонстрировали постепенное накопление путресцина в ответ на засуху, в то время как такое накопление в *aba 2-5* и *abi 1-1* отсутствовало, и эти мутанты были менее устойчивы к засуховому стрессу.

Таким образом, АБК-зависимое повышение экспрессии ADC 2, наблюдаемое при засухе, приводило к эффективному накоплению путресцина (Alcazar et al., 2011) в *Arabidopsis thaliana* и в *Craterostigma plantagineum*. В этом исследовании было показано, что хотя растения *Arabidopsis thaliana* WT и не накапливали спермидин и спермин в ответ на засуху, превращение путресцина в спермин происходило. Однако устойчивый к засухе вид *Craterostigma plantagineum* демонстрировал значительное увеличение содержания спермидина и спермина, кореллировавшее с засухоустойчивостью. Весьма вероятно, что обнаруженные на примере засухового стресса эффекты АБК, связанные с регуляцией синтеза полиаминов, будут подтверждены и при УФ-В стрессе, поскольку

УФ-В радиация во многом вызывает в растениях такие же реакции, как засуха.

В *Arabidopsis thaliana* УФ-В радиация вызывает увеличение выделения этилена, накопление абсцизовой кислоты и путресцина, потерю содержания спермидина и спермина и связанные с повреждением мембран выход электролитов и потерю воды (Ракитин и др., 2008). Когда выделение этилена возрастает в несколько раз и достигает максимума, начинается повышение содержания другого стрессового гормона — АБК. Затем содержание АБК продолжает возрастать пропорционально полученным растениями дозам УФ-В, в то время как выделение этилена снижается.

Эти и аналогичные данные приводят к представлению о том, что этилен может выступать в качестве триггера, запускающего синтез АБК (Ракитин и др., 2008), а накапливающаяся АБК в свою очередь способна ингибировать синтез этилена (Ракитина и др., 2004; Ракитин и др., 2009). В пользу последнего утверждения могут служить данные о снижении выделения этилена при УФ-В стрессе под влиянием экзогенной АБК и резком его возрастании у АБК-дефицитного мутанта *Arabidopsis thaliana aba-1* (Ракитина и др., 1994). Несмотря на убедительность и правдоподобность, предполагаемый способ взаиморегуляции синтеза этилена и АБК требует дальнейшего изучения. Так, приведенное объяснение взаиморегуляции синтеза этилена и АБК оказалось неприменимо для высоких и летальных доз УФ-В. В этих случаях при меньшем выделении этилена, чем при низких и умеренных дозах УФ-В, происходило большее накопление АБК, которое не приводило к существенному снижению выделения этилена.

Изучение участия этилена, АБК и полиаминов в адаптации растений к УФ-В радиации, взаиморегуляции их синтеза и действия необходимо для выяснения функционирования механизмов устойчивости растений к УФ-В.

Данная работа предпринята для выяснения участи СПЭ и спермина в регуляции накопления АБК при адаптации *Arabidopsis thaliana* WT и не синтезирующего спермин мутанта *spms 1-1* к УФ-В стрессу.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использованные растения и условия их культивирования. Эксперименты проводили на 14-дневных растениях *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. эко-типа Columbia (Col-0) дикого типа (WT) и мутанта *spms 1-1*, не синтезирующего спермин, выращенных в асептических условиях на агаризованной питательной среде Велиминского—Гихнера (Veleminsky, Gichner, 1964). Семена, полученные из Центра биологических ресурсов арабидопсиса (*Arabidop-*

sis Biological Resource Center, Огайо, США), были размножены в почвенной культуре. В растениях, полученных из размноженных семян, методом ВЭЖХ было подтверждено отсутствие мутаций по синтезу полиаминов в WT и наличие мутации гена сперминсинтазы в *spms 1-1*. Перед посевом семена обеззараживали, смачивая их на фильтровальной бумаге смесью 3% раствора пероксида водорода и 96% этанола (1 : 1). Питательную среду, чашки Петри и другие необходимые материалы и инструменты стерилизовали автоклавированием. Все работы, связанные с посевом семян, проводили в асептических условиях. Для определения эффектов УФ-В на рост, содержание АБК и полиаминов растения выращивали по 30 шт. в стеклянных чашках Петри диаметром 150 и высотой 20 мм со 125 мл агаризованной среды Велиминского–Гихнера. Для экспериментов по влиянию УФ-В на выделение этилена растения WT и *spms 1-1* выращивали по 10 шт. на 5 мл агаризованной среды в стеклянных стирилизационных флаконах объемом 23 мл (“Wheaton Scientific”, США), пропускающих свет с длиной волны выше 280 нм. Для поддержания стерильности и газообмена флаконы закрывали крышками из фильтровальной бумаги и алюминиевой фольги, которые закрепляли на флаконах резиновым кольцом.

Чашки Петри и флаконы с растениями размещали на металлическом столе (110 × 70 см) в световой установке, которая находилась в вентилируемой комнате с температурой воздуха 23°C. В качестве источников света использовали шесть люминесцентных ламп ЛД-80, находившихся на высоте 30–40 см над столом. Для предотвращения перегрева растений на высоте 20 и 25 см над столом помещали два стекла толщиной 5 мм, поглощающих часть инфракрасного излучения ламп. Стекла и металлический стол охлаждали с помощью вентиляторов. Во избежание заражения питательной среды в чашках Петри их загоразживали от интенсивных потоков воздуха стеклянными экранами. Световой период составлял 16 ч. Интенсивность света (6.5 клк) контролировали люксметром LI-189 (“LI-COR”, США) и регулировали, изменяя высоту ламп над столом. Температура чашек Петри и флаконов с растениями была 25°C днем и 23°C ночью.

На 15 день после посева семян чашки Петри с растениями *Arabidopsis thaliana* дикого типа (WT) мутанта и *spms 1-1* разделяли на несколько групп. Первую группу (интактные растения) оставляли в установке для выращивания. Вторую группу в течение суток обрабатывали 1-МСР. Третью, четвертую и пятую группы облучали умеренной, высокой и летальной дозами УФ-В радиации и на сутки возвращали в установку для выращивания. Шестую, седьмую и восьмую группы 3 ч обрабатывали 1-МСР, затем облучали умеренной, высо-

кой и летальной дозами УФ-В радиации и на сутки помещали в камеру с 1-МСР.

Через сутки после облучения растений розетки отделяли от корневой системы и определяли в них содержание АБК и полиаминов.

Через 1, 3 и 7 суток после облучения определяли степень повреждения растений по торможению роста, потере веса и пигментации розеток.

Обработка растений 1-МСР. Обработку чашек Петри с растениями проводили в 20-литровых стеклянных герметичных камерах при концентрации 1-МСР 50 нл/л воздуха (Sisler, Serek, 1997). Чашки устанавливали в камеры одну на другую, разделяя каждую из них тремя стеклянными прозрачными трубками диаметром 25 мм и высотой 60 мм. Такое размещение обеспечивало равномерное освещение всех чашек с растениями четырьмя люминесцентными лампами ЛД-18, расположенными вертикально вокруг камеры. Камеры и лампы охлаждали потоком воздуха от вентилятора. Световой и температурный режим внутри камер был такой же, как в установке для выращивания растений. Для предотвращения стресса у фотосинтезирующих растений, вызываемого резким снижением концентрации CO₂ в атмосфере герметичной камеры, на верхнем ярусе колонки из чашек Петри с растениями помещали открытую чашку со 100 мл буферной смеси Варбурга с концентрацией Na₂CO₃ 35 мМ и NaHCO₃ 65 мМ, поддерживавшей постоянную концентрацию углекислого газа (0.07%) (Баславская, Трубецкова, 1964). Концентрацию CO₂ в камере контролировали, используя метод газовой хроматографии (Ракитин В.Ю., Ракитин Л.Ю., 1986). Для обработки растений 1-МСР (50 нл/л) закрытую камеру с чашками Петри соединяли резиновой трубкой со шприцем объемом 100 мл. Другим шприцем в трубку вводили необходимое количество 1-МСР. Затем с помощью 100-миллилитрового шприца перемешивали газы в камере.

Получение 1-МСР. 1-МСР синтезировали по методу Сислера (Sisler, Serek, 1997). Концентрацию 1-МСР в полученной смеси 1-МСР и воздуха определяли на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором, колонкой с порпаком N-80-100 меш 3 м × 3 мм при температуре 120°C, потоке газа-носителя гелия 60 мл/мин, водорода – 20 мл/мин, воздуха – 200 мл/мин. Калибровку хроматографа проводили по *n*-бутану.

Облучение растений УФ-В. Облучение растений проводили люстрой из 10 эритемных ламп ЛЭ-30 (Россия) в интенсивно вентилируемой камере (для предотвращения перегрева и влияния образующегося из воздуха при действии УФ-В озона и оксидов азота).

Было обнаружено, что во время облучения агаризованная среда образует этилен. Из поверхностного слоя среды этилен быстро диффундиру-

ет в заполняющий флакон воздух, откуда его удаляли во время проветривания сосудов в течение 1 ч после облучения, поэтому он практически не мешал определению выделения этилена растениями. Однако этилен, образующийся в пристенном слое среды, не имеющем непосредственного контакта с воздухом, выветривался лишь в течение нескольких часов, что не позволяло определять выделение этилена растениями. Для того, чтобы избавиться от этого явления, флаконы вставляли в подставки, защищавшие пристенный слой среды от УФ-В облучения. Чашки Петри были изготовлены из стекла, не пропускающего УФ-В, поэтому при их облучении не было необходимости в защитных экранах. Перед облучением с чашек Петри и флаконов снимали крышки и для предотвращения завядания растений закрывали их прозрачной для УФ-В полиэтиленовой стретч-пленкой толщиной 20 мкм («Регент-стретч», Россия). Сразу после облучения растений пленку удаляли и чашки накрывали стеклянными крышками, а флаконы крышками из фильтровальной бумаги.

Интенсивность УФ-В облучения в закрытых стрейч-пленкой чашках Петри и флаконах измеряли УФ-радиометром ТКА-АВС (НТП «ТКА», Россия) на уровне растений (на расстоянии 35 см от ламп). Интенсивность облучения в диапазоне 280–320 нм в чашках Петри составляла 4.5 ± 0.5 Вт/м², а во флаконах 3 ± 0.3 Вт/м². Дозу УФ-В регулировали продолжительностью облучения. В предварительных опытах было установлено, что для растений WT и *spms 1-1*, выращенных в вышеуказанных условиях, умеренной была доза 7 кДж/м², высокой 14 кДж/м² и летальной 21 кДж/м².

Определение выделения этилена и содержания O₂, CO₂, N₂ в атмосфере сосудов с растениями при проведении экспериментов. Этилен определяли на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором и устройством для концентрирования углеводов, позволяющим в десятки раз повысить чувствительность определения. Одновременно на газовом хроматографе с детектором по теплопроводности в атмосфере флаконов определяли содержание O₂, CO₂, N₂ (Ракитин В.Ю., Ракитин Л.Ю., 1986; Ракитин, Ракитина, 2011). Во время экспериментов в атмосфере сосудов с растениями содержание CO₂ не превышало 0.2%, а содержание O₂ не опускалось ниже 20.8%.

Для того, чтобы избежать ошибок, связанных с раневой реакцией, определение выделения этилена проводили на целых растениях непосредственно в тех флаконах, где их выращивали.

После облучения флаконы закрывали крышками из фильтровальной бумаги и оставляли для проветривания на 1 ч при световом и температурном режиме как при выращивании растений. Затем флаконы с растениями герметично закрыва-

ли пробками из самоуплотняющейся резины (Suba seal red rubber septa, “Aldrich”, США) и на 2 ч помещали в темный термостат при температуре 23°C. Также закрывали флаконы с агаризованной средой без растений, атмосферу которых использовали для определения содержания этилена в воздухе и этилена, выделяющегося из агаризованной среды после УФ-В облучения, т.е. в качестве контроля для каждой дозы облучения использовали флаконы со средой, облученной соответствующей дозой УФ-В. После анализа флаконы проветривали в течение 1 мин и опять герметично закрывали пробками и помещали в термостат для следующего измерения выделения этилена.

Определение содержания АБК. АБК определяли в виде метилового эфира на газовом хроматографе (Газохром 1109, Россия) с высокочувствительным и селективным по отношению к АБК детектором по захвату электронов (Ракитин и др., 2008; Карягин и др., 2011).

Определение содержания полиаминов. Полиамины определяли в виде бензоильных производных методом ВЭЖХ (Flores, Galston, 1982; Naka et al., 2010; Ракитин и др., 2011).

Данные, представленные на рисунках, являются средними арифметическими значениями трех экспериментов, проведенных в трехкратной повторности. Максимальное стандартное отклонение от приведенных величин составляло не более $\pm 15\%$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

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.

Изменение сырой массы розеток у облученных растений происходило вследствие потери воды, торможения роста и отмирания листьев. Потеря сырой массы сопровождалась потерей пигментации. У WT и мутанта *spms 1-1* за первые сутки после умеренной дозы УФ-В потеря массы составляла 20%, после высокой 30%, после летальной 50%. На третьи сутки масса растений, облученных умеренной дозой УФ-В, составляла 60% от массы необлученных растений, после высокой и летальной 40 и 25% соответственно (рис. 1).

Восстановление растений из апикальной меристемы — рост стебля и появления новых листьев после умеренной дозы УФ-В — начиналось через 3 суток, после высокой через 7 суток, после летальной дозы растения погибали.

Динамика выделения этилена интактными и облученными умеренной, высокой и летальной дозами УФ-В 15-дневными растениями *Arabidopsis thaliana* WT и не синтезирующего спермин мутанта *spms 1-1* представлена на рис. 2. Выделение

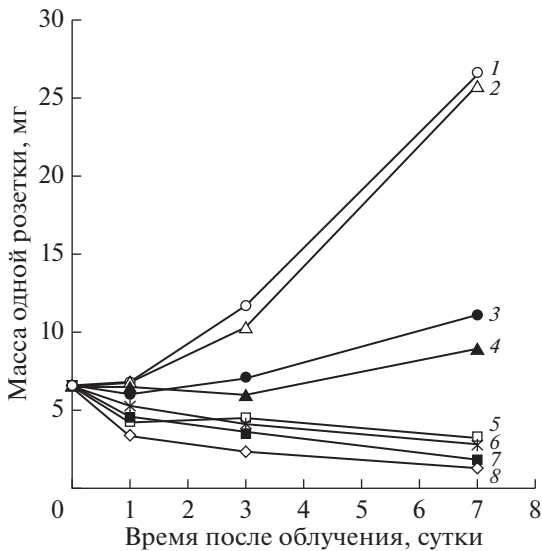


Рис. 1. Изменение сырой массы розеток *Arabidopsis thaliana* WT (1, 3, 5, 7) и мутанта *spms 1-1* (2, 4, 6, 8) без облучения (1, 2) и после облучения умеренной – 7 кДж/м² (3, 4), высокой – 14 кДж/м² (5, 6) и летальной – 21 кДж/м² (7, 8) дозами УФ-В.

УФ-В вызывала максимальное выделение этилена 90 пл./растение у WT и *spms 1-1*. На высокую дозу растения реагировали в 1.5 раза меньшим выделением этилена. Летальная доза УФ-В приводила к таким сильным повреждениям, что растения WT и *spms 1-1* были неспособны эффективно реагировать на УФ-В радиацию синтезом стрессового этилена (рис. 2) и накоплением путресцина (рис. 3), несмотря на то, что у WT и *spms 1-1* за сутки после облучения происходило в 3 раза большее накопление АБК, чем при умеренной, и в 2 раза большее, чем при высокой дозе УФ-В.

В интактных растениях WT и *spms 1-1* не было обнаружено различий по содержанию путресцина и спермидина. При УФ-В стрессе содержание путресцина возрастало, а спермидина уменьшалось, причем динамика этих процессов в WT и *spms 1-1* была идентична (рис. 3). В розетках WT и *spms 1-1* через сутки после облучения умеренной, высокой и летальной дозами УФ-В содержание путресцина выросло соответственно в 10, 4.5 и 2 раза, содержание спермидина снижалось на 15, 30 и 50%, а содержание спермина в розетках WT уменьшалось на 15, 35 и 62%. В розетках мутанта *spms 1-1* спермин не был обнаружен.

этилена необлученными растениями изменялось во время эксперимента, но при всех 5 измерениях, проведенных в течение 24 ч у *spms 1-1* оно было в 1.6–2 раза больше, чем у WT. Однако выделение этилена у WT и *spms 1-1* при одинаковых дозах облучения и в одинаковые промежутки времени отличалось не более чем на 20%. Умеренные и высокие дозы УФ-В вызывали постепенное увеличение выделения этилена, которое продолжалось в течение 5 ч, а затем снижалось. Умеренная доза

Содержание АБК в розетках необлученных 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. 4).

Блокирование СПЭ ингибитором действия этилена 1-МСП лишь на 10–20% тормозило накопле-

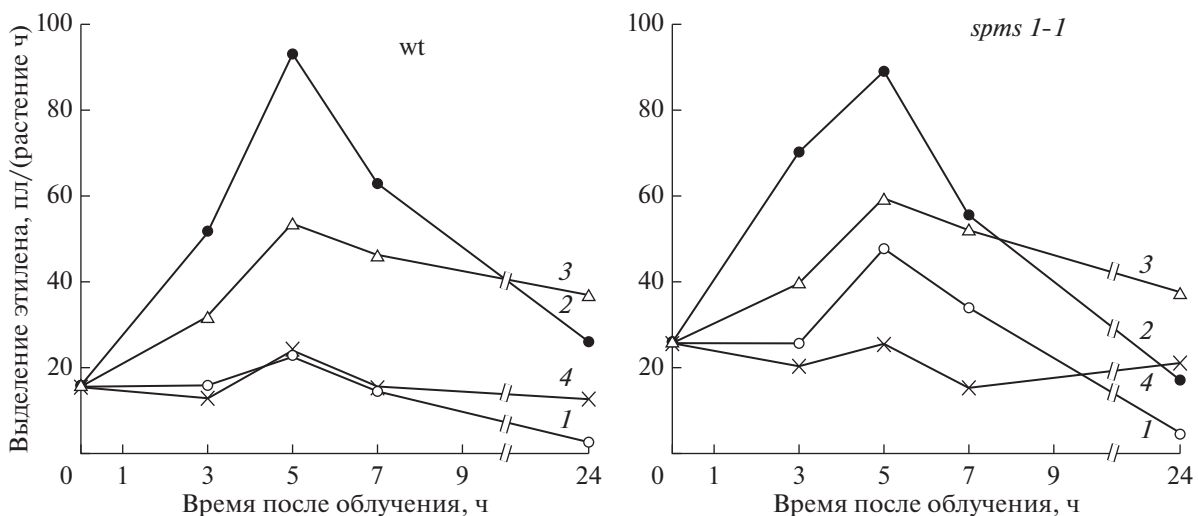


Рис. 2. Выделение этилена растениями *Arabidopsis thaliana* WT и не синтезирующего спермин мутанта *spms 1-1*. Без облучения (1), после облучения умеренной 7 кДж/м² (2), высокой 14 кДж/м² (3) и летальной 21 кДж/м² (4) дозами УФ-В.

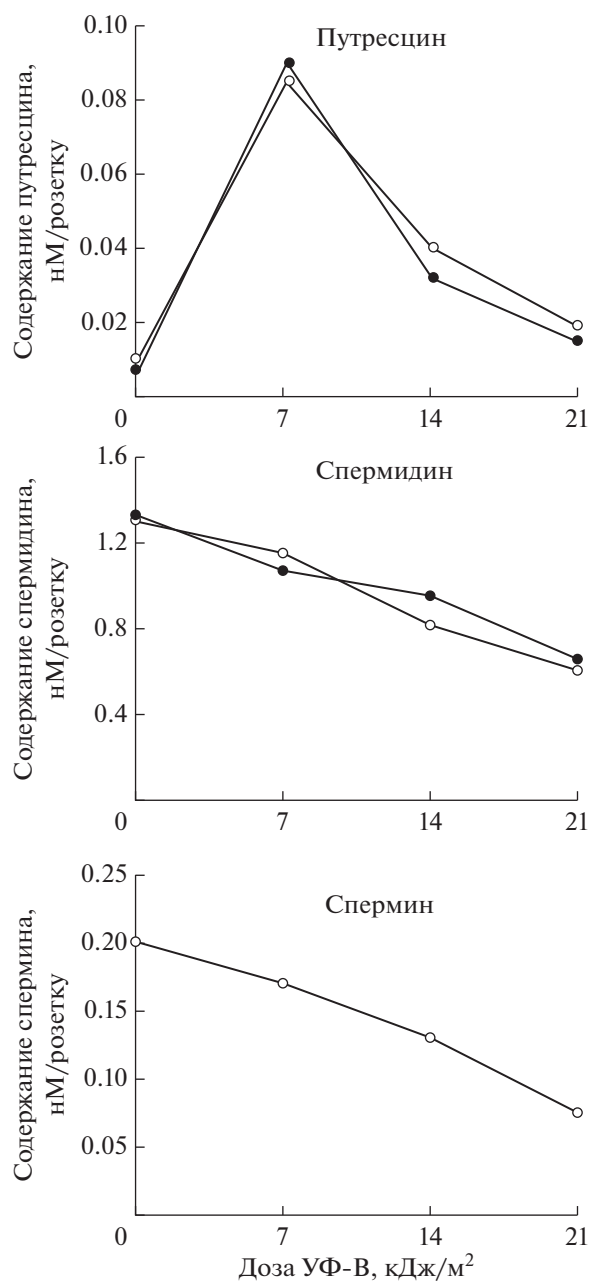


Рис. 3. Содержание полиаминов в розетках *Arabidopsis thaliana* WT (—○—) и мутанта *spms 1-1* (—●—) через сутки после облучения растений умеренной (7 кДж/м²), высокой (14 кДж/м²) и летальной (21 кДж/м²) дозами УФ-В.

ние АБК в облученных розетках WT и *spms 1-1*, зато в 2 раза повышало их чувствительность к УФ-В радиации. У растений с заблокированным СПЭ через 7 суток после дозы УФ-В радиации 7 кДж/м² происходила такая же потеря зеленой окраски и последующая гибель листьев, как и у растений с активированным эндогенным стрессовым этиленом СПЭ после дозы УФ-В 14 кДж/м².

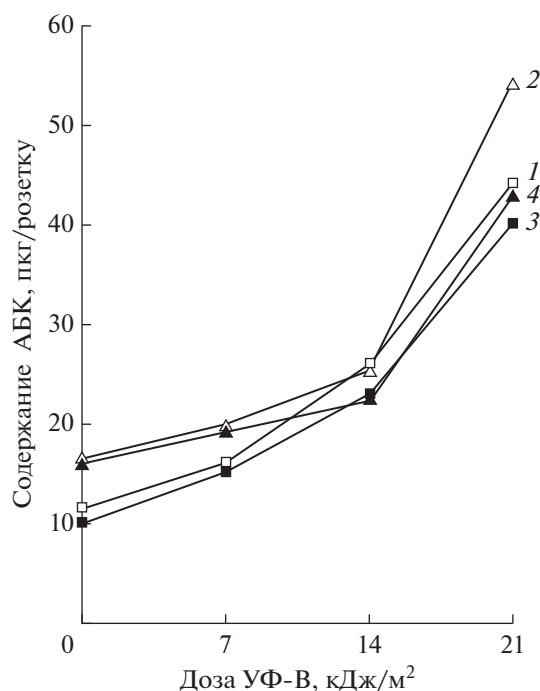


Рис. 4. Влияние 1-МСП (3, 4) на УФ-В-индуцированное изменение содержания АБК в розетках *Arabidopsis thaliana* WT (1, 3) и мутанта *spms 1-1* (2, 4). Определение АБК проведено через сутки после облучения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Судя по таким показателям, как изменение сырой массы, торможение роста, потеря пигментации и отмирание листьев, а также восстановление растений после УФ-В стресса из апикальной меристемы, необлученные и облученные растения *Arabidopsis thaliana* WT и *spms 1-1* не имели фенотипических различий и не отличались по чувствительности к УФ-В радиации.

В отсутствие спермина в *spms 1-1* изменения в содержании путресцина и спермидина было такое же, как и в растениях WT при всех примененных дозах УФ-В. Однако в необлученных растениях *spms 1-1* содержание АБК было в 1.6 раза больше, а выделение этилена этилена в 1.6–2 раза больше, чем в интактных растениях WT.

Вполне вероятно, что более высокий уровень этих стрессовых гормонов в необлученных растениях *spms 1-1* являлся результатом слабого стресса, вызванного отсутствием спермина, наиболее активной ловушки АБК среди полиаминов путресцинового ряда (Drolet et al., 1986; Ha et al., 1998), что обеспечивало мутанту такую же, как у WT устойчивость. Следует отметить, что несмотря на значительную разницу в уровнях содержания АБК и выделения этилена в необлученных растениях WT и *spms 1-1*, по мере увеличения доз УФ-В радиации эти показатели выравнивались.

То есть адаптация к одинаковым дозам УФ-В у растений WT и *spms 1-1* происходила при близких уровнях выделения этилена, содержания АБК и полиаминов путресцина и спермидина. Полученные данные показывают, что спермин не является критическим параметром в преодолении УФ-В стресса.

Эксперименты по блокированию 1-МСП СПЭ показали, что этилен не индуцировал синтез АБК при УФ-В стрессе. Так в облученных растениях с заблокированным СПЭ образовывалось практически столько же АБК, как в растениях с СПЭ, активированным стрессовым этиленом. Также было установлено, что активированный этиленом СПЭ лишь в небольшой степени мог регулировать накопление АБК, вызванное УФ-В радиацией. Тем не менее двукратная потеря устойчивости к умеренным и высоким дозам УФ-В у растений с заблокированным СПЭ указывает на существование регулируемого СПЭ процесса, от которого в значительной степени зависит устойчивость растений к УФ-В радиации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баславская С.С., Трубецкова О.М. Практикум по физиологии растений. Москва: изд-во МГУ, 1964. 328 с.
- 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 методы в современной биологии растений / Под ред. Кузнецова Вл.В. и др., Москва, Бином, 2011. С. 316–323.
- Прудникова О.Н., Ракитина Т.Я., Карягин В. и др. 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. и др. 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. и др. 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. и др. 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., Прудникова О.Н., Стеценко Л.А., Шевякова Н.И. Определение свободных и связанных полиаминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Молекулярно-генетические методы в современной биологии растений / Под ред. Кузнецова Вл.В., Кузнецова В.В., Романова Г.А. Москва: Бином, 2011. С. 337–347.
- Ракитин В.Ю., Ракитин Л.Ю. Определение газообмена и содержания этилена, двуокиси углерода и кислорода в тканях растений // Физиология растений. 1986. Т. 33. С. 403–413.
- Ракитин В.Ю., Ракитина Т.Я. Определение выделения и содержания этилена в растениях // Молекулярно-генетические методы в современной биологии растений / Под ред. Кузнецова Вл.В., Кузнецова В.В., Романова Г.А. Москва: Бином, 2011. С. 323–347.
- Ракитина Т.Я., Власов П.В., Ракитин В.Ю. Гормональные аспекты различной устойчивости мутантов *Arabidopsis thaliana* к ультрафиолетовой радиации // Физиология растений. 2001. Т. 48. С. 421–426.
- Alcazar R., Bitrian M., Zarza X. et al. Polyamine metabolism and signaling in plant abiotic stress protection // Recent Advances in Pharmaceutical Sciences II. 2012. P. 29–47.
- Alcazar R., Bitrian M., Bartels D. et al. Polyamine metabolic canalization in response to drought stress in *Arabidopsis* and the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* // Plant Signaling & Behavior. 2011. V. 6. № 2. P. 243–250.
- Drolet G., Dumbroff E.B., Legge R. et al. Radical scavenging properties of polyamines // Phytochemistry. 1986. V. 25. P. 367–371.
- Flores H.E., Galston A.W. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography // Plant Physiol. 1982. V. 69. P. 701–706.
- Ha H.C., Sirisoma N.S., Kuppusamy P., Zweier J. et al. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 11140–11145.
- Heijde M., Ulm R. UV-B photoreceptor-mediated signaling in plants // Cell. 2012. V. 17. № 4. P. 230–237.
- Jenkins G. Signal transduction in responses to UV-B radiation // Annu. Rev. Plant. Biol. 2009. V. 60. P. 407–431.
- Li J., Yang L., Nezames C. et al. UV-B-induced photomorphogenesis in *Arabidopsis* // Protein Cell. 2013. V. 4. Is. 7. P. 485–492.
- Naka Y., Watanabe K., Sagor J. et al. Quantitative analysis of plant polyamines including thermospermine during growth and salinity stress // Plant Physiology and Biochemistry. 2010. V. 48(7). P. 527–533.
- Rakitina T., Vlasov P., Jalilova F. et al. Abscisic acid and ethylene in mutant *Arabidopsis thaliana* differing in their resistance to ultraviolet (UV-B) radiation stress // Fiziol. Rast. (Moscow). 1994. V. 41. P. 682–686.
- Sisler E.C., Serek M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments // Physiol. Plant. 1997. V. 100. P. 577–582.
- Vanhaelewyn L., Prinsen E., Van Der Straeten D. et al. Hormone-controlled UV-B responses in plants // J. Experimental Botany. 2016. V. 67. № 15. P. 4469–4482.
- Veleminsky J., Gichner T. Sterile culture of *Arabidopsis* on agar medium // Arabidopsis Information Service / Ed. Kranz A.R. Frankfurt/Main: J.W. Goethe-Univ., 1964. V. 1. P. 34–35.

Adaptation to UV-B Radiation in the Ontogenesis of *Arabidopsis thaliana*. The Participation of Ethylene, ABA and Polyamines

O. N. Prudnikova¹, T. Ya. Rakitina¹, V. V. Karyagin¹, and V. Yu. Rakitin^{1, *}

¹Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences,
ul. Botanicheskaya 35, Moscow, 127276 Russia

*e-mail: rakit@ippras.ru

Received March 18, 2019; revised March 18, 2019; accepted April 28, 2019

The involvement of ethylene signaling pathway (ESP) and the polyamine spermine in the regulation of ABA accumulation was investigated during adaptation of *Arabidopsis thaliana* wild-type (WT) and loss of function spermine sintase mutant *spms 1-1* to moderate 7 kJ/m², high 14 kJ/m² and the lethal 21 kJ/m² dose of UVB radiation. It was established that the content of spermine is not a critical parameter in UV-B induced increase of ethylene release and ABA and putrescine accumulation. However, unirradiated *spms 1-1* plants were found to have one and a half times more ethylene release and ABA content than intact WT plants. Blocking of ethylene receptors with 1-methylcyclopropene (1-MCP) showed that in UV-B stress ESP does not induce the synthesis of ABA in WT and *spms 1-1*, but only by 10–20% increases its dose-dependent 1.5–3 fold accumulation per day caused by UV-B radiation. However, a twofold decrease in resistance to moderate and high doses of UV-B in WT and *spms 1-1* plants with blocked by 1-MCP ESP indicates the existence of an ethylene-controlled process involved in plant adaptation to UV-B radiation.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, *spms 1-1*, ethylene, ABA, 1-methylcyclopropene, polyamines, UV-B