

УДК 581.1

РЕАКЦИЯ УСТЬИЧНОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ АРАБИДОПСИСА, ДЕФЕКТНЫХ ПО ЖАСМОНАТНОМУ СИГНАЛИНГУ, НА ДЕЙСТВИЕ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ И МЕТИЛЖАСМОНАТА

© 2017 г. Т. О. Ястреб¹, Ю. Е. Колупаев^{1,2},
Ю. В. Карпец¹, А. П. Дмитриев³

¹Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина
(Харьков, Украина)

³Институт клеточной биологии и генетической инженерии
Национальной академии наук Украины
(Киев, Украина)

Исследовали влияние абсцизовой кислоты (АБК) и метилжасмоната на состояние устьиц растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа (*Columbia-0* – *Col-0*) и дефектных по жасмонатному сигналингу: *jin1* (мутант, дефектный по гену, кодирующему белок транскрипционный фактор JIN1/MYC2 – один из ключевых в жасмонатном сигналинге), *jar1* (мутант по гену, кодирующему JAR1-синтазу, ответственную за образование физиологически активно конъюгата жасмоновой кислоты с изолейцином) и *coil* (мутант по гену, кодирующему белок COI1, который участвует в удалении белков-репрессоров транскрипционных факторов жасмонатного сигналинга). У растений арабидопсиса дикого типа АБК в концентрациях 10-100 мкМ вызывала значительное уменьшение процента открытых устьиц и величины устьичной апертуры. У растений *jin1* при обработке АБК в этих концентрациях показатели, характеризующие состояние устьичного аппарата, практически не изменялись. У мутантов *jar1* и *coil* под влиянием АБК величина апертуры устьиц уменьшалась практически так же, как и у растений дикого типа, однако процент частично открытых устьиц был несколько большим. Под действием метилжасмоната в концентрациях 50-200 мкМ величина устьичной апертуры у растений *Col-0* существенно уменьшалась, а процент частично открытых устьиц под влиянием 10 и 50 мкМ метилжасмоната несколько увеличивался, а при обработке 200 мкМ метилжасмонатом уменьшался. У мутантов *jin1* и *jar1* при обработке метилжасмонатом в различных концентрациях показатели, характеризующие устьичную активность, практически не изменялись, в то же время у генотипа *coil* отмечалась тенденция к некоторому уменьшению величины устьичной апертуры. Обсуждается роль белков, задействованных в жасмонатном сигналинге, в регуляции состояния устьиц АБК и жасмонатом.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, устьица, жасмоновая кислота, метилжасмонат, абсцизовая кислота, жасмонатный сигналинг

Изменение состояния устьиц является важной составляющей адаптивных реакций

Адрес для корреспонденции: Колупаев Юрий Евгеньевич, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о Докучаевское-2, Харьков, 62483, Украина;
e-mail: plant_biology@ukr.net

растений на стрессоры различной природы (Веселов и др., 2007; Acharya, Assmann, 2009). Общеизвестен эффект замыкания устьиц в условиях водного дефицита. Такой же эффект проявляется у растений в ответ на инфицирование (Melotto et al., 2006; Montillet et al., 2013). Значительное влияние на величину устьичной

РЕАКЦИЯ УСТЬИЧНОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ

апертуры оказывают такие факторы как свет (Assmann, Shimazaki, 1999) и концентрация углекислоты (Webb et al., 1996). В последние годы исследуется устьичная реакция растений на действие озона (Brosché et al., 2010).

В формировании устьичной реакции растений на изменение условий окружающей среды задействованы фитогормоны и сигнальные посредники (Pei et al., 2000; Acharya, Assmann, 2009). В этом отношении наиболее изучена роль абсцизовой кислоты (АБК) (Davies et al., 2005; Nilson, Assmann, 2007). В последнее десятилетие значительное внимание уделяется и функциям жасмоновой кислоты и других продуктов липоксигеназного каскада в регуляции устьичного аппарата (Munemasa et al., 2011; Montillet et al., 2013). Показано, что жасмоновая кислота может влиять на состояние устьиц зависимым и независимым от АБК способами (de Ollas, Dodd, 2016). В первом случае АБК выступает в роли посредника в реализации эффекта жасмоновой кислоты.

Предполагается, что индуцированное жасмоновой кислотой закрытие устьиц имеет большее значение при биотических стрессах, а АБК контролирует устьичную реакцию при водном дефиците (Montillet et al., 2013). В то же время показано, что озон-индуцируемое закрытие устьиц сопровождалось увеличением как эндогенной АБК, так и жасмоната (Brosché et al., 2010).

В целом экспериментальные данные об устьичных реакциях, индуцируемых жасмоновой кислотой и метилжасмонатом, многочисленны, но весьма противоречивы. Так, в работе Melotto et al. (2008) показано, что эти соединения вызывали замыкание устьиц только в достаточно высокой концентрации (выше 20 мкМ). При обработке эпидермиса жасмоновой кислотой и метилжасмонатом в меньших концентрациях такой эффект не проявлялся, более того, отмечалось ингибирование закрытия устьиц, вызываемого АБК. В некоторых работах зарегистрировано увеличение устьичной апертуры под влиянием метилжасмоната (Munemasa et al., 2011). Исследованиями Savchenko et al. (2014) установлено, что один из предшественников жасмоновой кислоты 12-оксофитодиеновая кислота (12-ОФДК) была намного более эффективной при индуцировании закрытия устьиц у арабидопсиса по сравнению с метилжасмонатом. При этом 12-ОФДК слабо влияла на апертуру устьиц у мутантов *aba2-1*, а добавление экзогенной АБК

усиливало эффект замыкания устьиц у этих мутантов, вызываемый 12-ОФДК.

К настоящему времени установлены специфические белки участники трансдукции сигнала жасмоната в генетический аппарат клетки (Wasternack, Hause, 2013; Kazan, 2015; Колупаев и др., 2016). Известно, что физиологическая активность жасмоновой кислоты проявляется после ее преобразования в изолейцинжасмонат. В связи с этим белок JAR1, проявляющий активность аминокислотсинтетазы, которая конъюгирует аминокислоты с жасмоновой кислотой, рассматривается как один из первых компонентов цепи трансдукции ее сигнала в генетический аппарат (Staswick, Tiryaki, 2004). В то же время рецептором жасмоната, специфично связывающим изолейцинжасмонат, считается белок COI1, являющийся частью комплекса SBF/COI1, сопряженного с убиквитинными ферментами (Lackman et al., 2011). Взаимодействие с ним изолейцинжасмоната приводит к его активации и взаимодействию с репрессорами жасмонатного сигнала JAZ- (Jasmonate-Zim-Domain) белками, которые направляются в 26S протеасомы для деградации (Santino et al., 2013). Таким образом, открывается сигнальный путь жасмоновой кислоты к специфическим транскрипционным факторам семейства MYC. Считается, что MYC2 является одним из главных положительных регуляторов жасмонатиндуцибельной экспрессии генов у *Arabidopsis thaliana*.

Роль генов *JAR1*, *COI1* и *MYC2* в гормональной регуляции состояния устьиц остается недостаточно изученной. Показано, что у мутантной линии арабидопсиса *jar1-1* устьица были нечувствительны к обработке метилжасмонатом, но замыкались под влиянием АБК, хотя и в меньшей степени, чем у растений дикого типа (Suhita et al., 2004). У мутантов *coi1* не происходило существенных изменений состояния устьиц при обработке метилжасмонатом (Melotto et al., 2008). Недавно получены сведения, позволяющие предполагать наличие модуля белков COI1-JAZ2-MYC2,3,4, ответственного за регулирование устьичной апертуры при бактериальных инфекциях (Gimenez-Ibanez et al., 2017). Мутации по генам, кодирующим белки этого модуля, способствуют заражению растений патогенами-некротрофами.

В работе Geng et al. (2016) сообщается о меньшей световой индукции открывания устьиц у растений генотипа *jin1*. Имеются сведения и об участии этого транскрипционного фактора в сигналинге ключевого стрессового гормона

растений абсцизовой кислоты (АБК) (Ton et al., 2009). Так, установлено, что АБК, как и жасмоновая кислота, усиливала экспрессию гена *AtMYC2/JIN1* (Lorenzo et al., 2004). Показано отсутствие влияния АБК на состояние устьиц у мутантов *jin1* (Yastreb et al., 2017). В то же время сопоставления влияния АБК на устьичный аппарат мутантов арабидопсиса, дефектных по различным компонентам жасмонатного сигнала, в одинаковых условиях до сих пор не проводилось, что не позволяет однозначно говорить о специфической роли транскрипционного фактора *JIN1/MYC2* в АБК-индуцированных изменениях состояния устьиц. Не сравнивалась в идентичных условиях и реакция мутантов *jar1*, *coil* и *jin1* на метилжасмонат. В связи с этим целью работы было сопоставить устьичную реакцию указанных мутантов арабидопсиса и растений дикого типа на действие АБК и метилжасмоната.

МЕТОДИКА

Для работы использовали пятидневные растения *Arabidopsis thaliana* L. дикого типа (*Col-0*) и мутантных линий *jar1*, *coil* и *jin1*, дефектных по генам, кодирующим соответствующие белки, участвующие в трансдукции жасмонатного сигнала. Семена растений мутантов были любезно предоставлены проф. Ж.-М. Нейгаузом (Университет Нашатель, Швейцария). Растения выращивали в водной культуре на питательной среде Хогланда с модификациями (Gibeaut et al., 1997) при температуре 24/18°C (день/ночь), освещении 6000 лк и фотопериоде 10 ч (Semchuk et al., 2012).

Устьичную апертуру определяли по методике, описанной Ramirez et al. (2009) с модификациями. Эпидермис с абаксиальной поверхности розеточных листьев выдерживали в течение 2,5 ч на холодном белом свете (150 Вт/м²) в чашках Петри с 10 мМ раствором KCl, приготовленном на 10 мМ Трис-HCl буфере (pH 6,15) без CO₂ (Яковенко и др., 2008). После этого в среду вносили АБК (Sigma-Aldrich, США) в конечных концентрациях 10, 50 или 100 мкМ либо метилжасмонат (Sigma-Aldrich, США) (10, 50 или 200 мкМ) и через 2 ч измеряли устьичную апертуру, используя окулярный винтовой микрометр МОВ-1-16×, установленный на световой микроскоп Granum R40. Также производили подсчет относительного количества открытых устьиц (без учета величины апертуры).

В каждом варианте оценивали состояние не менее 60 устьиц на эпидермисе листьев, взя-

тых с шести разных растений. Опыты повторяли независимо не менее трех раз. На рисунках приведены средние величины и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние АБК на состояние устьиц растений арабидопсиса

После выдерживания на свету у растений арабидопсиса дикого типа 80% устьиц находилось в открытом состоянии (рис. 1). Обработка эпидермиса листьев этих растений АБК в концентрациях 10-100 мкМ вызывала значительное уменьшение как относительного количества открытых устьиц, так и величины устьичной апертуры (рис. 1).

У растений генотипа *jar1* после экспозиции на свету большая часть устьиц была открытой, в то же время величина устьичной апертуры у них была значительно меньше, чем у растений *Col-0* (рис. 1). Обработка эпидермиса АБК в концентрациях 50 и 100 мкМ вызывала уменьшение количества открытых устьиц до 68 и 54% соответственно. Под влиянием фитогормона в концентрациях 10-100 мкМ уменьшался и размер апертуры устьиц. Однако в целом эффект замыкания устьиц после обработки АБК у мутантов *jar1* был менее существенным, чем у растений дикого типа.

У мутантов *coil* после воздействия холодного белого света 90% устьиц находилось в открытом состоянии (рис. 1). При этом величина устьичной апертуры у этого генотипа немного превышала таковую у растений дикого типа. Под влиянием АБК происходило существенное уменьшение процента открытых устьиц и величины устьичной апертуры.

После экспозиции на свету большая часть устьиц у мутантов *jin1* была открытой, однако величина устьичной щели у них была существенно меньше, чем у растений дикого типа (рис. 1). Под влиянием АБК в исследуемом диапазоне концентраций у растений *jin1* достоверно не изменялись ни показатель количества открытых устьиц, ни величина апертуры (рис. 1).

Влияние метилжасмоната на состояние устьиц у растений арабидопсиса

Обработка эпидермиса листьев растений дикого типа метилжасмонатом в концентрациях 10 и 50 мкМ вызывала увеличение относительного количества открытых устьиц до 100%, однако в концентрации 200 мкМ этот фитогормон снижал процент открытых устьиц (рис. 2).

РЕАКЦИЯ УСТЫЧНОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ

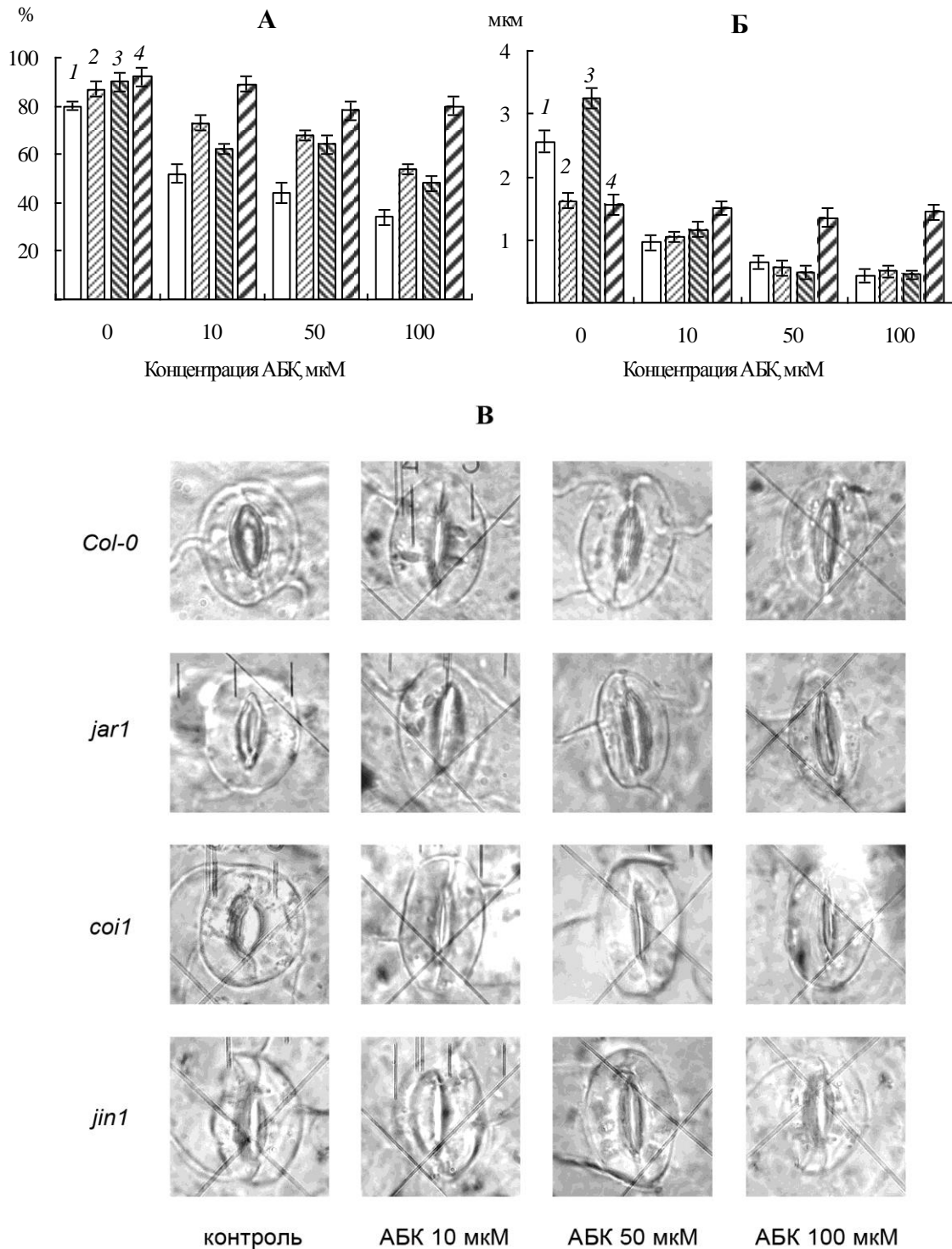


Рис. 1. Влияние АБК на состояние устьиц растений арабидопсиса.

Здесь и на рис. 2: А – количество открытых устьиц (%); Б – ширина устьичной щели (мкм); В – фото типичных устьиц 1 – *Col-0*; 2 – *jar1*; 3 – *coi1*; 4 – *jin1*.

Величина устьичной апертуры существенно уменьшалась под влиянием метилжасмоната в концентрациях 50 и 200 мкМ.

При обработке метилжасмонатом эпидермиса листьев генотипа *jar1* практически все устьица оставались приоткрытыми, при этом

размер устьичной щели также не изменялся (рис. 2).

У генотипа *coi1* при обработке метилжасмонатом количество открытых устьиц оставалось близким к 100%. В то же время величина апертуры устьичной щели под влиянием фи-

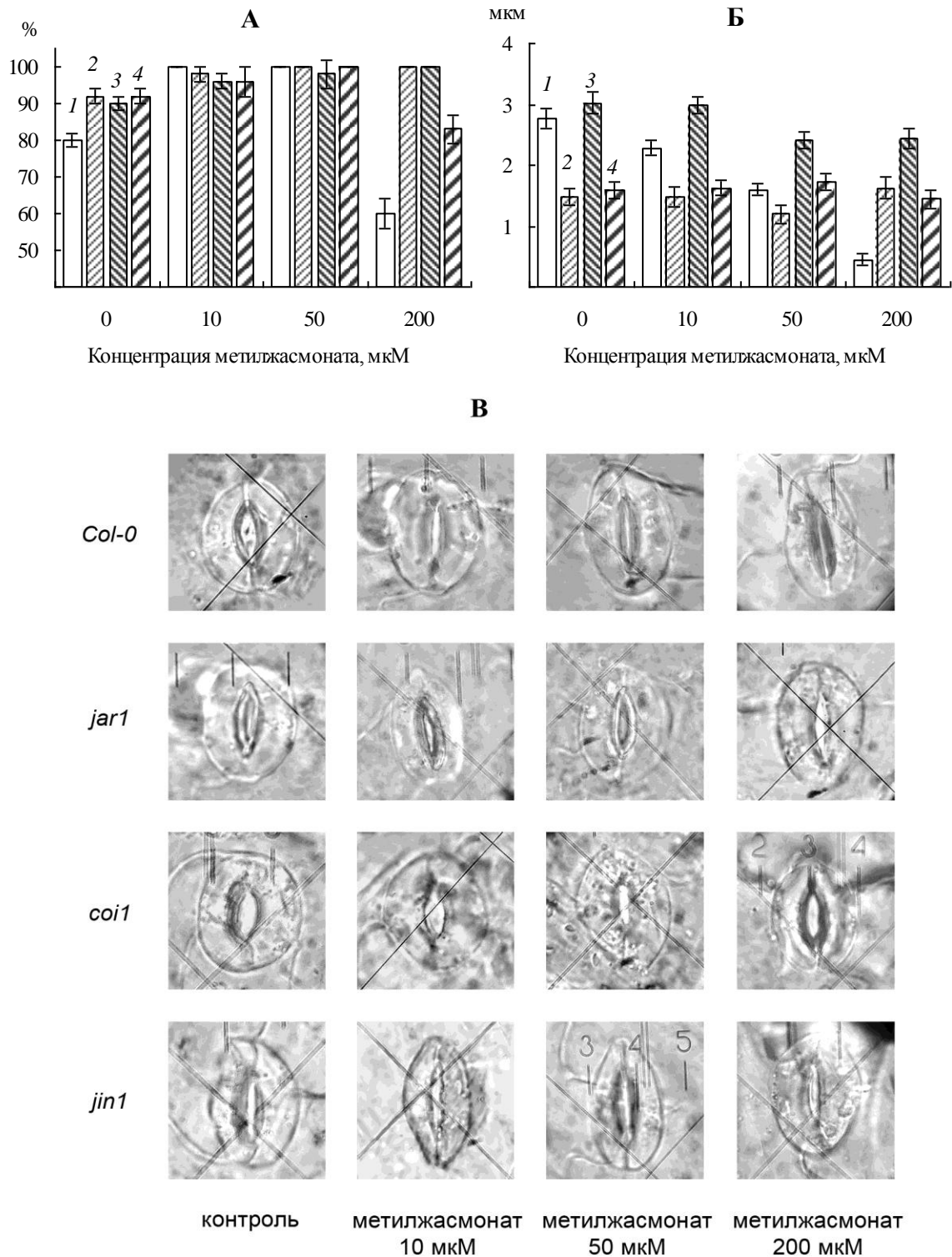


Рис. 2. Влияние метилжасмоната на состояние устьиц растений арабидопсиса. Обозначения, как на рис. 1.

тогормона немного уменьшалась, хотя эффект не был достоверным при $p \leq 0,05$ (рис. 2).

У растений *jin1* обработка метилжасмонатом не вызвала существенных изменений как показателя количества открытых устьиц, так и величины устьичной апертуры (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемые мутанты арабидопсиса, дефектные по жасмонатному сигналингу, отличались от растений дикого типа по устьичной реакции не только на фитогормоны, но и на воздействие холодного белого света. Так, у гено-

типов *jar1* и *jin1* величина устьичной апертуры была меньше, а у мутантов *coil* больше, чем у растений дикого типа (рис. 1). О меньшей световой индукции открывания устьиц у растений генотипа *jin1* сообщается и в публикации Gent et al. (2016), что согласуется с представлениями о том, что транскрипционный фактор JIN1/MYC2 задействован в передаче не только сигнала жасмоната, но и света (Yadav et al., 2005). Роль других белков, участвующих в рецепции и трансдукции жасмоната в восприятии растениями световых воздействий, остается недостаточно изученной.

Устьичный аппарат мутантов *jin1* оказался полностью нечувствительным к действию АБК: при обработке фитогормоном у растений этого генотипа не изменялось ни относительное количество открытых устьиц, ни величина апертуры. В то же время у мутантов *jar1* и *coil* под влиянием АБК оба этих показателя уменьшались (рис. 1). В работе Suhita et al. (2004) отмечается, что у мутантов *jar1* эффект АБК проявлялся менее заметно, чем у растений дикого типа. В наших опытах абсолютные величины устьичной щели у мутантов *jar1* после обработки АБК приблизительно соответствовали таковым у растений *Col-0*, однако изменения апертуры по отношению к исходной величине были менее существенными, чем у растений дикого типа. У мутантов *coil*, наоборот, исходная величина апертуры (после световой обработки) была немного большей, чем у растений дикого типа, а после обработки АБК она имела значения, не отличающиеся от таковых у растений *Col-0*, обработанных фитогормоном (рис. 1). Существенное уменьшение устьичной апертуры после обработки 10 мкМ АБК у растений арабидопсиса *coil* было показано ранее в работе Melotto et al. (2006). Также имеются сведения о частичном подавлении коронатином (антагонистом чувствительности растений к жасмонату) закрывания устьиц индуцируемого АБК (Toum et al., 2016).

По-видимому, влияние АБК на состояние устьиц частично зависит от различных звеньев жасмонатного сигналинга. Однако полученные результаты свидетельствуют о том, что реализация влияния АБК на устьичный аппарат зависит в первую очередь от функционирования транскрипционного фактора JIN1/MYC2 (не проявляется у мутантов *jin1*). Влияние других белковых компонентов жасмонатного сигналинга на этот процесс незначительное и, вероятно, косвенное.

Под влиянием метилжасмоната существенный эффект уменьшения величины устьичной щели проявлялся только у растений дикого типа (рис. 2). В то же время относительно низкие концентрации метилжасмоната (10 и 50 мкМ), уменьшая устьичную апертуру, увеличивали относительное количество частично открытых устьиц. О возможности индуцирования открывания устьиц метилжасмонатом сообщается в работе Munemasa et al. (2011). Авторы полагают, что реакция устьичного аппарата на метилжасмонат может изменяться в зависимости от возраста и других особенностей состояния растений.

У мутантов *jin1* и *jar1* изменений устьичной апертуры при обработке эпидермиса метилжасмонатом не наблюдалось (рис. 2). Можно полагать, что у этих растений совсем не функционирует система рецепции и/или трансдукции сигнала метилжасмоната, индуцирующего закрывание устьиц. В то же время у мутантов *coil* под влиянием метилжасмоната проявлялась тенденция к уменьшению величины устьичной щели, хотя эффект не был достоверным при $p \leq 0,05$. В работе Munemasa et al. (2007) показано полное отсутствие устьичной реакции у растений *coil* на обработку метилжасмонатом. Некоторые различия результатов могут быть обусловлены неодинаковым физиологическим состоянием растений.

В целом полученные результаты свидетельствуют о том, что в индуцировании закрывания устьиц метилжасмонатом задействованы все ключевые белковые компоненты жасмонатного сигналинга: JAR1, COI1 и JIN1. В то же время в трансдукции сигнала АБК принимает участие, по-видимому, лишь один из изученных белковых компонентов жасмонатного сигналинга – белок JIN1/MYC2.

Публикация содержит результаты исследований, проведенных при грантовой поддержке Государственного фонда фундаментальных исследований по конкурсному проекту Ф70/136-2017.

ЛИТЕРАТУРА

- Веселов Д.С., Веселов С.Ю., Высоцкая Л.Б., Кудоярова Г.Р., Фархутдинов Р.Г. Гормоны растений: регуляция концентрации, связь с ростом и водным обменом / Отв. ред. Ф.М. Шакирова. – М.: Наука, 2007. – 158 с.
- Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Луговая А.А. Роль жасмонатов в адаптации растений к действию абиотических стрессоров // Физиология растений и генетика. – 2016. – Т. 48, № 2. – С. 105-121.
- Яковенко О.Н., Крестинин С.В., Кабачевская Е.М., Ляхнович Г.В., Волотовский Д.И., Кравец В.С.

- Роль фосфолипазы C в регуляции устьичного аппарата абсцизовой кислотой // Укр. бот. журн. – 2008. – Т. 65, № 4. – С. 604-613.
- Acharya B.R., Assmann S.M. Hormone interactions in stomatal function // Plant Mol. Biol. – 2009. – V. 69. – P. 451-462.
- Assmann S.M., Shimazaki K. The multisensory guard cell. Stomatal response to blue light and abscisic acid // Plant Physiol. – 1999. – V. 119. – P. 809-815.
- Brosché M., Merilo E., Mayer F., Pechter P., Puzõrjova I., Brader G., Kangasjärvi J., Kollist H. Natural variation in ozone sensitivity among *Arabidopsis thaliana* accessions and its relation to stomatal conductance // Plant Cell Environ. – 2010. – V. 33. – P. 914-925.
- Davies W.J., Kudoyarova G., Hartung W. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought // J. Plant Growth Regul. – 2005. – V. 24. – P. 285-295.
- de Ollas C., Dodd I.C. Physiological impacts of ABA–JA interactions under water-limitation // Plant Mol. Biol. – 2016. – V. 91. – P. 641-650.
- Geng S., Misra B.B., de Armas E., Huhman D.V., Alborn H.T., Sumner L.W., Chen S. Jasmonate-mediated stomatal closure under elevated CO₂ revealed by time-resolved metabolomics // Plant J. – 2016. – V. 88. – P. 947-962.
- Gibeaut D.M., Hulett J., Cramer G.R., Seemann J.R. Maximal biomass of *Arabidopsis thaliana* using a simple, low-maintenance hydroponic method and favorable environmental conditions // Plant Physiol. – 1997. – V. 115. – P. 317-319.
- Gimenez-Ibanez S., Boter M., Ortigosa A., García-Casado G., Chini A., Lewsey M.G., Ecker J.R., Ntoukakis V., Solano R. JAZ2 controls stomata dynamics during bacterial invasion // New Phytol. – 2017. – V. 213. – P. 1378-1392.
- Kazan K. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance // Trends Plant Sci. – 2015. – V. 20. – P. 219-229.
- Lackman P., González-Guzmán M., Tilleman S., Carqueijeiro I., Pérez A.C., Moses T., Seo M., Kanno Y., Häkkinen S.T., Van Montagu M.C., Thevelein J.M., Maaheimo H., Oksman-Caldentey K.M., Rodriguez P.L., Rischer H., Goossens A. Jasmonate signaling involves the abscisic acid receptor PYL4 to regulate metabolic reprogramming in *Arabidopsis* and tobacco // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2011. – V. 108. – P. 5891-5896.
- Lorenzo O., Chico J.M., Sanchez-Serrano J.J., Solano R. Jasmonate-insensitive1 encodes a MYC transcription factor essential to discriminate between different jasmonate regulated defence responses in *Arabidopsis* // Plant Cell. – 2004. – V. 16. – P. 1938-1950.
- Melotto M., Underwood W., Koczan J., Nomura K., He S.Y. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion // Cell. – 2006. – V. 126. – P. 969-980.
- Melotto M., Underwood W., He S.Y. Role of stomata in plant innate immunity and foliar bacterial diseases // Annu. Rev. Phytopathol. – 2008. – V. 46. – P. 101-122.
- Montillet J.L., Leonhardt N., Mondy S., Tranchimand S., Rumeau D., Boudsocq M., Garcia A.V., Douki T., Bigear J., Lauriere C., Chevalier A., Castresana C., Hirt H. An abscisic acid-independent oxylipin pathway controls stomatal closure and immune defense in *Arabidopsis* // PLOS Biol. – 2013. – V. 11. – Iss. 3. e1001513
- Munemasa S., Oda K., Watanabe-Sugimoto M., Nakamura Y., Shimoishi Y., Murata Y. The coronatine-insensitive 1 mutation reveals the hormonal signaling interaction between abscisic acid and methyl jasmonate in *Arabidopsis* guard cells. Specific impairment of ion channel activation and second messenger production // Plant Physiol. – 2007. – V. 143. – P. 1398-1407.
- Munemasa S., Mori I.C., Murata Y. Methyl jasmonate signaling and signal crosstalk between methyl jasmonate and abscisic acid in guard cells // Plant Signal. Behav. – 2011. – V. 6:7. – P. 939-941.
- Nilson S.E., Assmann S.M. The control of transpiration insights from *Arabidopsis* // Plant Physiol. – 2007. – V. 143. – P. 19-27.
- Pei Z.M., Murata Y., Benning G. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells // Nature. – 2000. – V. 406. – P. 731-734.
- Ramírez V., Coego A., López A., Agorio A., Flors V., Vera P. Drought tolerance in *Arabidopsis* is controlled by the OCP3 disease resistance regulator // Plant J. – 2009. – V. 58. – P. 578-591.
- Santino A., Taurino M., De Domenico S., Bonsegna S., Poltronieri P., Pastor V., Flors V. Jasmonate signaling in plant development and defense response to multiple (a)biotic stresses // Plant Cell Rep. – 2013. – V. 32. – P. 1085-1098.
- Savchenko T., Kolla V. A., Wang C.Q., Nasafi Z., Hicks D.R., Phadungchob B., Chehab W.E., Brandizzi F., Froehlich J., Dehesh K. Functional convergence of oxylipin and abscisic acid pathways controls stomatal closure in response to drought // Plant Physiol. – 2014. – V. 164. – P. 1151-1160.
- Semchuk N.M., Vasylyk Yu.V., Lushchak Ok.V., Lushchak V.I. Effect of short-term salt stress on oxidative stress markers and antioxidant enzymes activity in tocopherol-deficient *Arabidopsis thaliana* plants // Укр біохім. журн. – 2012. – V. 84, № 4. – P. 41-48.
- Staswick P.E., Tiryaki I. The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to isoleucine in *Arabidopsis* // Plant Cell. – 2004. – V. 16. – P. 2117-2127.

- Suhita D., Raghavendra A.S., Kwak J.M., Vavasseur A.* Cytoplasmic alkalization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate- and abscisic acid-induced stomatal closure // *Plant Physiol.* – 2004. – V. 134. – P. 1536-1545.
- Ton J., Flors V., Mauch-Mani B.* The multifaceted role of ABA in disease resistance // *Trends Plant Sci.* – 2009. – V. 14. – P. 310-317.
- Toum L., Torres P.S., Gallego S.M., Benavides M.P., Vojnov A.A., Gustavo E.* Gudesblat coronatine inhibits stomatal closure through guard cell-specific inhibition of NADPH oxidase-dependent ROS production // *Front Plant Sci.* – 2016. – V. 7:1851. doi: 10.3389/fpls.2016.01851
- Wasternack C., Hause B.* Jasmonates: Biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany* // *Ann. Bot.* – 2013. – V. 111. – P. 1021-1058.
- Webb A.R., McAinsh M.R., Mansfield T.A., Hetherington A.M.* Carbon dioxide induces increases in guard cell cytosolic free calcium // *Plant J.* – 1996. – V. 9. – P. 287-304.
- Yadav V., Mallappa C., Gangappa S.N., Bhatia S., Chattopadhyay S.* A basic helix-loop-helix transcription factor in *Arabidopsis*, MYC2, acts as a repressor of blue light-mediated photomorphogenic growth // *Plant Cell.* – 2005. – V. 17. – P. 1953-1966.
- Yastreb T.O., Kolupaev Yu.E., Lugovaya A.A., Dmitriev A.P.* Formation of adaptive reactions in *Arabidopsis thaliana* wild-type and mutant *jin1* plants under action of abscisic acid and salt stress // *Cytol. Genet.* – 2017. – V. 51. – P. 325-330.

Поступила в редакцию
04.10.2017 г.

RESPONSE OF STOMATAL APPARATUS OF ARABIDOPSIS PLANTS DEFECTIVE IN JASMONATE SIGNALING TO ABSCISIC ACID AND METHYL JASMONATE ACTION

T. O. Yastreb¹, Yu. E. Kolupaev^{1,2}, Yu. V. Karpets¹, O.P. Dmitriev³

¹*V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)*

E-mail: plant_biology@ukr.net

²*V.N. Karazin Kharkiv National University
(Kharkiv, Ukraine)*

³*Institute of Cell Biology and Genetic Engineering
National Academy of Sciences of Ukraine
(Kyiv, Ukraine)*

The effect of abscisic acid (ABA) and methyl jasmonate on the state of stomata of *Arabidopsis thaliana* plants of wild type (*Columbia-0* – *Col-0*) and defective ones in jasmonate signaling namely: *jin1* (a mutant defective in gene, coding protein transcription factor JIN1/MYC2 – a one of key proteins in jasmonate signaling), *jar1* (a mutant for the gene coding JAR1-synthase responsible for the formation of a physiologically active conjugate of jasmonic acid with isoleucine) and *coil* (a mutant for the gene encoding the COI1 protein that is involved in the removal of repressor proteins from transcriptional factors of jasmonate signaling) was investigated. In wild-type *Arabidopsis* plants, ABA at concentrations of 10-100 μM caused a significant reduction in the percentage of open stomata and the size of the stomatal aperture. In plants *jin1* at the treatment with ABA at these concentrations, the indices describing the state of the stomatal apparatus remained practically unchanged. In the mutants *jar1* and *coil* under the influence of ABA, the size of stomatal aperture decreased almost in the same way as in wild-type plants, however, the percentage of partially open stomata was somewhat larger. Under the influence of methyl jasmonate in concentrations of 50-200 μM, the stomatal aperture value in *Col-0* plants decreased significantly, and the percentage of partially open stomata under the influence of 10 and 50 μM methyl jasmonate increased slightly, and when treated with 200 μM methyl jasmonate decreased. In the *jin1* and *jar1* mutants, when treating methyl jasmonate at various concentrations, the parameters characterizing the stomatal activity did not practically change, while the *coil* genotype had a tendency to some decrease in the size of the stomatal aperture. The role of proteins involved in jasmonate signaling in controlling the state of stomata by ABA and jasmonate is discussed.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, stomata, jasmonic acid, methyl jasmonate, abscisic acid, jasmonate signaling

РЕАКЦІЯ ПРОДИХОВОГО АПАРАТУ РОСЛИН АРАБІДОПСИСУ,
ДЕФЕКТНИХ ЗА ЖАСМОНАТНИМ СИГНАЛІНГОМ,
НА ДІЮ АБСЦИЗОВОЇ КИСЛОТИ І МЕТИЛЖАСМОНАТУ

Т. О. Ястреб¹, Ю. Є. Колупаєв^{1,2}, Ю. В. Карпець¹, О. П. Дмитрієв³

¹Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)

E-mail: plant_biology@ukr.net

²Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
(Харків, Україна)

³Інститут клітинної біології та генетичної інженерії
Національної академії наук України
(Київ, Україна)

Досліджували вплив абсцизової кислоти (АБК) і метилжасмонату на стан продихів рослин *Arabidopsis thaliana* дикого типу (*Columbia-0* – *Col-0*) і дефектних за жасмонатним сигналіном: *jin1* (мутант, дефектний за геном, що кодує білок транскрипційний фактор JIN1/MYC2 – один з ключових у жасмонатному сигналіну), *jar1* (мутант за геном, що кодує JAR1-синтазу, відповідальну за утворення фізіологічно активного кон'югату жасмонової кислоти з ізолейцином) і *coi1* (мутант за геном, що кодує білок COI1, який бере участь у видаленні білків-репресорів транскрипційних факторів жасмонатного сигналіну). У рослин арабідопсису дикого типу АБК в концентраціях 10-100 мкМ викликала значне зменшення відсотка відкритих продихів і величини продихової апертури. У рослин *jin1* за обробки АБК в цих концентраціях показники, що характеризують стан продихового апарату, практично не змінювалися. У мутантів *jar1* і *coi1* під впливом АБК величина апертури продихів зменшувалася практично так само, як і у рослин дикого типу, проте відсоток частково відкритих продихів був трохи більшим. Під дією метилжасмонату в концентраціях 50-200 мкМ величина продихової апертури у рослин *Col-0* істотно зменшувалася, а відсоток частково відкритих продихів під впливом 10 і 50 мкМ метилжасмонату дещо збільшувався, а за обробки 200 мкМ метилжасмонатом зменшувався. У мутантів *jin1* і *jar1* при обробці метилжасмонатом в різних концентраціях показники, що характеризують продихову активність, практично не змінювалися, в той же час у генотипу *coi1* відзначалася тенденція до деякого зменшення величини продихової апертури. Обговорюється роль білків, задіяних у жасмонатному сигналіну, в регуляції стану продихів АБК і жасмонатом.

Ключові слова: *Arabidopsis thaliana*, продихи, жасмонова кислота, метилжасмонат, абсцизова кислота, жасмонатний сигналінг