

Н. И. Шевякова, член-корреспондент НАН Украины **Л. И. Мусатенко**,
Л. А. Стеценко, **Н. П. Веденичева**, **Л. В. Войтенко**, **В. Ю. Ракитин**,
академик НАН Украины **К. М. Сытник**,
член-корреспондент Рос. АН Вл. **В. Кузнецов**

Влияние засоления на содержание полиаминов и фитогормонов в проростках *Phaseolus vulgaris* L.

*Досліджено вміст ендогенних вільних та кон'югованих поліамінів і фітогормонів у листках та коренях проростків *Phaseolus vulgaris* L. за дії сольового стресу. Показано, що спрямованість відповіді гормонального комплексу та пулу поліамінів проростків залежить від концентрації солі і відрізняється у різних органах. Обговорюється взаємозв'язок між ендогенними фітогормонами та поліамінами при сольовому стресі.*

Как известно, любое внешнее воздействие приводит к цепи качественных и количественных преобразований во всем комплексе эндогенных фитогормонов, что, в свою очередь, вызывает ответ на уровне генома и белкового синтеза. Среди многих вторичных мессенджеров, задействованных в трансдукции гормональных сигналов, в последнее время привлекают внимание полиамины — универсальные органические поликатионы с высокой биологической активностью. Подобно фитогормонам, полиамины участвуют в процессах репликации, транскрипции и трансляции, в стабилизации мембран и модуляции активности ферментов, влияют на экспрессию генома, на рост и развитие растений в целом [1, 2]. Значительное внимание уделялось прямым и косвенным доказательствам взаимодействия полиаминов с ростиндуцирующими фитогормонами [3]. Однако системных исследований взаимосвязей между фитогормонами и полиамінами, в том числе в стрессовых условиях, не проводилось.

Целью проведенного нами исследования было изучение взаимозависимостей содержания эндогенных полиаминов и фитогормонов в проростках *Phaseolus vulgaris* L. при воздействии солевого (NaCl) стресса.

Семена фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) сорта Белозерная после стерилизации проращивали в чашках Петри, проростки переносили на водную культуру (среда Джонсон), и через 10 сут в питательную среду опытной группы растений одноразово вносили NaCl до концентраций 50, 100, 150 и 200 мМ. Спустя 96 ч экспозиции измеряли морфометрические параметры опытных и контрольных растений, а первичные листья и корни фиксировали в жидком азоте. Полиамины экстрагировали 5% HClO₄, суспензию фильтровали, для определения конъюгированных полиаминов осадок и 1/2 объема фильтрата гидролизировали [4], индивидуальные полиамины определяли в виде их бензоильных производных методом ВЭЖХ [5]. Фитогормоны выделяли и очищали по ранее описанной методике [6]. Окончательный анализ их качественного и количественного содержания проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1200 LC с диодно-матричным детектором G 1315 B (США), колонка Eclipse XDB-C 18.

Результаты исследования показали, что биомасса, линейные размеры листьев, корней и эпикотили проростков снижались при всех концентрациях NaCl. Концентрация соли 200 мМ оказывала токсическое действие и вызывала некроз и опадение листьев, но корни при этом еще сохраняли жизнеспособность.

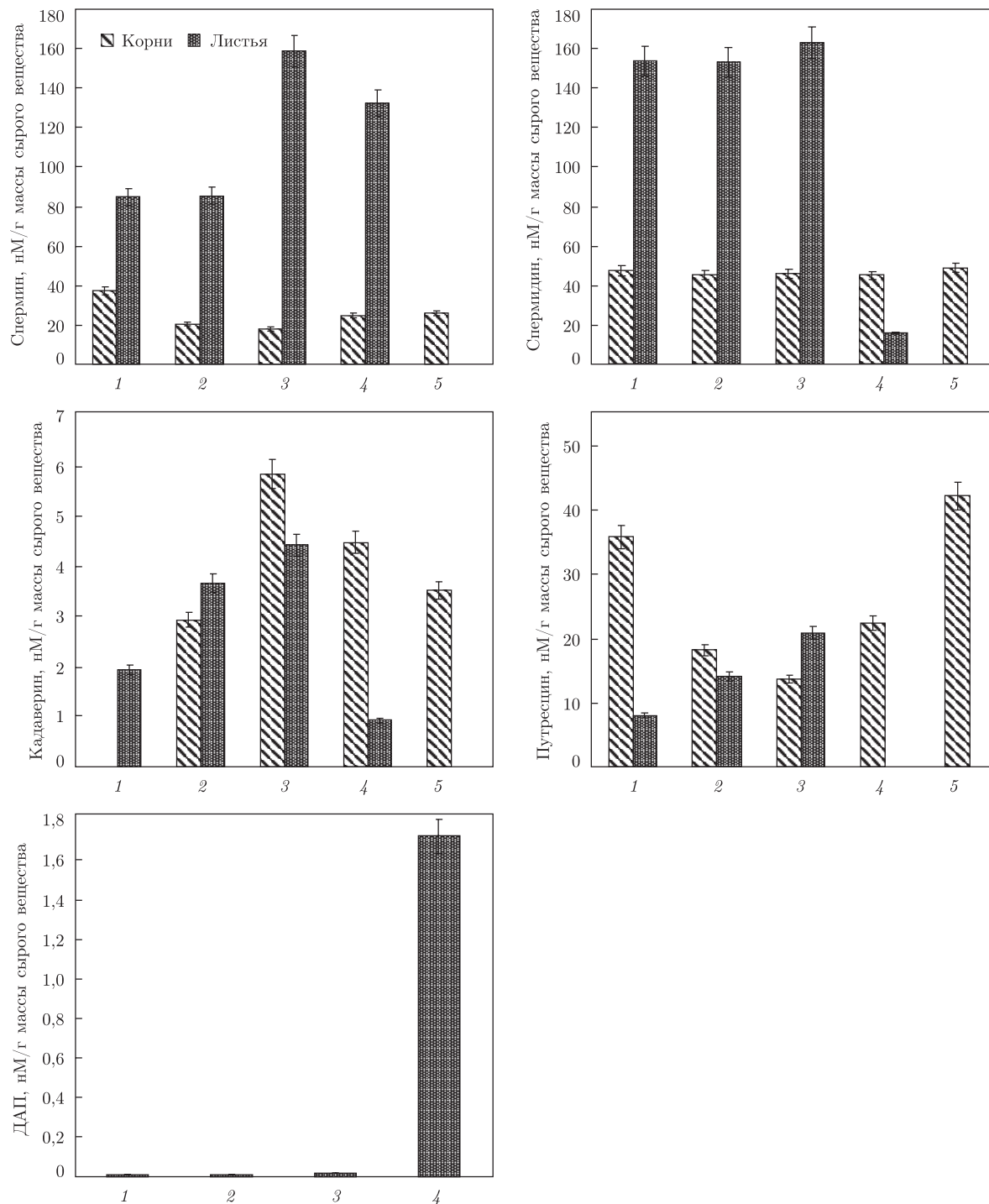


Рис. 1. Содержание свободных полиаминов в проростках фасоли при засолении. 1 — контроль; 2 — 50 mM NaCl; 3 — 100 mM NaCl; 4 — 150 mM NaCl; 5 — 200 mM NaCl

В условиях солевого стресса высокий конститутивный уровень свободного путресцина отмечался в корнях проростков, а спермидина и спермина — в листьях (рис. 1). При засолении 100 mM NaCl наблюдалась аккумуляция всех свободных полиаминов в листьях,

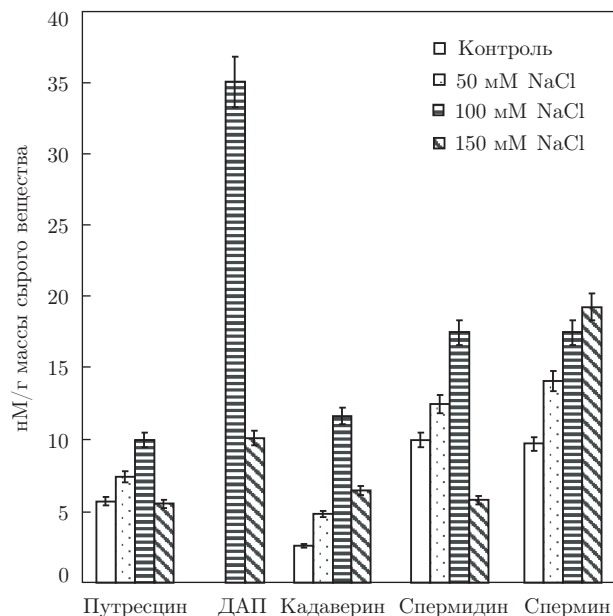


Рис. 2. Содержание конъюгатов полиаминов в листьях фасоли при засолении

а при концентрации 150 мМ их содержание резко снижалось и в спектре свободных полиаминов появлялся диаминопропан (ДАП) — продукт окислительной деградации спермидина и спермина. В корнях содержание свободных спермидина и спермина при действии соли изменялось незначительно, диамины, напротив, активно реагировали на засоление. При концентрации соли 50–100 мМ содержание свободного путресцина в корнях снижалось, а при 150–200 мМ NaCl наблюдалась его аккумуляция. По сравнению с путресцином изменения содержания свободного кадаверина в корнях имели противоположный характер. Так, в контроле определялись его следовые количества, при засолении 100 мМ NaCl аккумуляция свободного кадаверина достигла максимума, с увеличением содержания соли в среде уровень свободного кадаверина снизился, что свидетельствует об обратном коррелятивном отношении этих диаминов.

Содержание конъюгатов полиаминов в листьях проростков фасоли увеличивалось в присутствии 50–100 мМ NaCl (рис. 2). Конъюгаты ДАП в связанной форме обнаруживались лишь при засолении 100 мМ, а при 150 мМ NaCl количество связанных конъюгатов всех полиаминов, за исключением спермина, резко снижалось.

Анализ полученных результатов показал, что для растений фасоли на стадии 10-дневных проростков полиамины имели наибольшее значение в адаптации к засолению при действии 100 мМ NaCl. Это выразилось в транзиторном повышении в листьях проростков как содержания всех полиаминов в свободной и конъюгированной форме, так и в образовании конъюгированной формы ДАП. Можно предположить, что для участия полиаминов в адаптации проростков к засолению необходимо поддержание их пула на оптимальном уровне, что регулируется как на уровне их биосинтеза, так и деградации.

Существенные изменения наблюдались также в содержании свободных и связанных фитогормонов. Так, добавление в питательную среду NaCl вызывало весьма значительный подъем уровня свободной АБК в листьях (особенно при концентрации 100 мМ) и менее заметное — в корнях (рис. 3), где повышалась и концентрация связанной АБК, тогда как

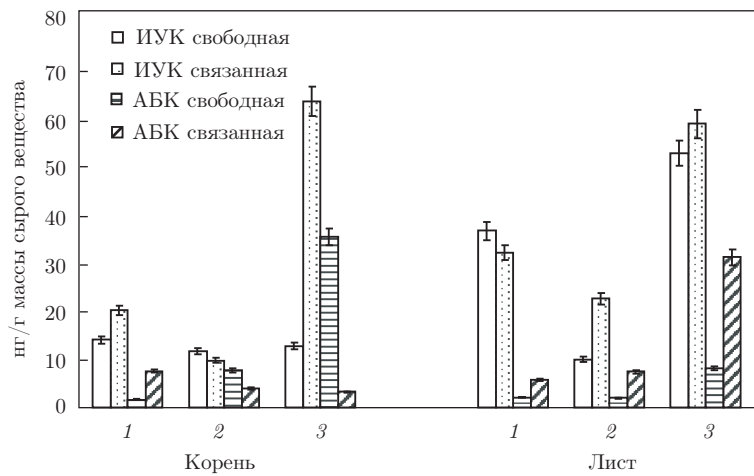


Рис. 3. Содержание ИУК и АБК в проростках фасоли при засолении: 1 — контроль; 2 — 50 мМ NaCl; 3 — 100 мМ NaCl

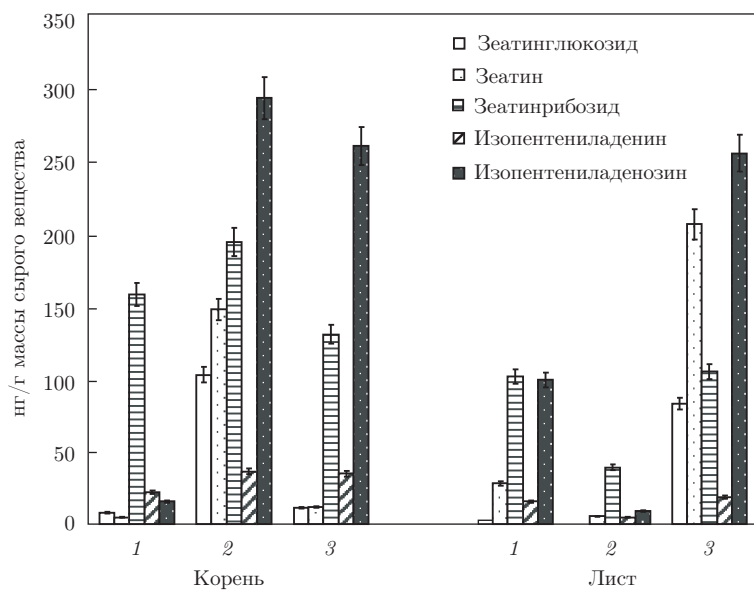


Рис. 4. Содержание цитокининов в проростках фасоли при засолении: 1 — контроль; 2 — 50 мМ NaCl; 3 — 100 мМ NaCl

в листьях она снижалась. Уровень свободной ИУК в корнях под действием засоления изменялся несущественно, а связанной — снижался вдвое при концентрации 50 мМ и увеличивался втрое при концентрации 100 мМ. Содержание свободной и связанной ИУК в листьях изменялось сходным образом: в присутствии 50 мМ NaCl концентрация гормонов снижалась, а при 100 мМ — повышалась почти в 2 раза (см. рис. 3). Такое зависимое от концентрации влияние оказывала NaCl и на содержание цитокининов. В корнях под влиянием 50 мМ NaCl резко возрастал уровень зеатина, зеатинрибозида и зеатинглюкозида, тогда как при засолении 100 мМ NaCl содержание этих цитокининов повышалось не более, чем в 3 раза по сравнению с контролем (рис. 4). В листьях наблюдалась обратная ситуация: при концентрации 50 мМ NaCl уровень зеатиновых цитокининов снижался, а при 100 мМ — резко

увеличивался в десятки раз (см. рис. 4). Наблюдаемые изменения содержания изопентениладенозина в листьях и корнях были подобны таковым для цитокининов зеатинового ряда, уровень же изопентениладенина изменялся незначительно.

Таким образом, под действием засоления происходят существенные изменения гормонального баланса фасоли, зависящие как от концентрации соли, так и от органа растения. Ранее было показано, что при засолении концентрация АБК в растительных тканях резко увеличивается [7]. Под действием NaCl наблюдали как уменьшение содержания ИУК в растениях томата [8], ириса [7], так и накопление ИУК в листьях пшеницы [9], корнях кукурузы [10]. Очевидно, при интерпретации полученных данных необходимо учитывать как концентрацию соли, так и тип растительной ткани, а также продолжительность стресса [9]. Имеются сведения о снижении содержания цитокининов в ответ на солевой стресс, однако уровень различных их форм изменялся в различной степени [10, 11]. В целом можно сказать, что под влиянием засоления происходят изменения фитогормонального баланса, которые приводят к снижению ростовых показателей у различных растений.

В проведенных нами экспериментах накопление свободной АБК в корнях и листьях происходило параллельно с увеличением содержания кадаверина в этих органах, а в листьях, кроме того, — с возрастанием уровня путресцина и спермина. Аккумуляция спермина, кадаверина и путресцина в листьях при добавлении в питательную среду 100 мМ NaCl совпадала с накоплением цитокининов. Следует отметить, что уровни полиаминов под влиянием засоления изменялись относительно пропорционально концентрации раствора, тогда как большинство фитогормонов реагировали на разные концентрации противоположным образом, особенно это заметно в случае цитокининов (например, увеличение содержания в корнях при 50 мМ и снижение — при 100 мМ NaCl).

Взаимосвязь между полиаминами и фитогормонами была установлена ранее в экспериментах с экзогенными обработками растений. Нанесение путресцина индуцировало возрастание содержания эндогенной ИУК и уменьшение активности ИУК-оксидазы у *Vigna radiata* L. [12], снижало вызванное солевым стрессом увеличение содержания АБК и повышало сниженное содержание цитокининов у растений гороха [11]. Аналогичные данные были получены для гороха и при водном стрессе [13]. Ряд полиаминов (спермин, спермидин, путресцин, кадаверин) подавляли цитокининовые эффекты у амарантуса и арабидопсиса [3]. Как показали наши данные, в ответ на засоление изменяется уровень как полиаминов, так и фитогормонов. Прослеживается совпадение накопления свободных АБК и полиаминов в листьях в зависимости от концентрации соли. Изменения эндогенного содержания ИУК и цитокининов в сравнении с полиаминами имеют сложный характер. Полученные данные характеризуют взаимодействие полиаминов и фитогормонов в процессе адаптации к солевому стрессу у *Phaseolus vulgaris*, растений гликофитного типа, слабоустойчивых к засолению. Для выявления общих закономерностей солеустойчивости представляет интерес проследить взаимодействие полиаминов и фитогормонов у растений-галофитов.

1. Кузнецов Вл. В., Радюкина Н. Л., Шевякова Н. И. Полиамины при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция // Физиология растений. — 2006. — **53**. — С. 658–683.
2. Paschalidis K. A., Roubelakis-Angelakis K. A. Spatial and temporal distribution of polyamine levels and polyamine anabolism in different organs (Tissues of tobacco plants. Correlations with age, cell division, expansion and differentiation) // Plant Physiol. — 2005. — **138**. — P. 142–152.
3. Ракова Н. Ю., Романов Г. А. Полиамины препятствуют проявлению первичных эффектов цитокининов // Физиология растений. — 2005. — **52**, № 1. — С. 59–67.
4. Langebartels C., Kerner K., Leonardi S. et al. Biochemical plant responses to ozone. I. Differential induction of polyamine and ethylene biosynthesis in tobacco // Plant Physiol. — 1991. — **95**. — P. 882–887.

5. Flores H. E., Galston A. W. Analysis of polyamines in higher plants by performance liquid chromatography // *Ibid.* – 1982. – **69**. – P. 701–708.
6. Мусатенко Л. И., Веденичева Н. П., Васюк В. А. и др. Комплекс фитогормонов в проростках различных по устойчивости к повышенным температурам гибридов кукурузы // *Физиология растений.* – 2003. – **50**, № 4. – С. 499–504.
7. Yongyin W., Mopper S., Hasenstein K. H. Effects of salinity on endogenous ABA, IAA, JA and SA in *Iris hexagona* // *J. Chem. Ecol.* – 2001. – **27**, No 2. – P. 327–342.
8. Albacete A., Ghanem M. E., Martínez-Andújar C. et al. Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants // *J. Exp. Bot.* – 2008. – **59**, No 15. – P. 4119–4131.
9. Ахиярова Г. Р., Сабиржанова И. Б., Веселов Д. С., Фрике В. Участие гормонов в возобновлении роста побегов пшеницы при кратковременном засолении NaCl // *Физиология растений.* – 2005. – **52**, № 6. – С. 891–896.
10. Калинина Н. А., Драгозов И. В., Яворская В. К. Фитогормональный баланс корней кукурузы на фоне действия хлоридного засоления и 6-БАП // *Уч. зап. Таврич. нац. ун-та им. В.И. Вернадского.* – 2001. – № 14(53), ч. 1. – С. 84–87.
11. Hussein M. M., Nadia H., EL-Gereadly M., EL-Desuki M. Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum* L.) // *J. Appl. Sci. Res.* – 2006. – **2(9)**. – P. 598–604.
12. Nag S., Saha K., Choudhuri M. A. Role of auxin and polyamines in adventitious root formation in relation to change in compounds involved in rooting // *J. Plant Growth Regulation.* – 2001. – **20**, No 2. – P. 182–194.
13. Sairam R. K., Aruna T. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants // *Curr. Sci.* – 2004. – **86**, No 3. – P. 407–421.

*Институт физиологии растений
им. К. А. Тимирязева Рос. АН, Москва
Институт ботаники им. Н. Г. Холодного
НАН Украины, Киев*

Поступило в редакцию 26.07.2009

N. I. Shevyakova, Corresponding Member of the NAS of Ukraine **L. I. Musatenko**,
L. A. Stetsenko, **N. P. Vedenicheva**, **L. V. Vojtenko**, **V. Yu. Rakitin**,
Academician of the NAS of Ukraine **K. M. Sytnik**,
Corresponding Member of the Russian AS **Vi. V. Kuznetsov**

Salinity effect on polyamines and phytohormones content in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings

The content of endogenous free and conjugated polyamines and phytohormones in leaves and roots of Phaseolus vulgaris L. seedlings under salinity is studied. Responses of the hormonal complex and the polyamines pool depend on the salt concentration and are different in two organs. Relations between endogenous phytohormones and polyamines under salt stress are discussed.