

Влияние мутаций *axr1-1*, *axr2-1*, *axr3-1* и *aux1-7* по генам сигнализации ауксина *AXR1*, *AXR2*, *AXR3* и *AUX1* на строение корневых волосков у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh

С.Г. Хаблак, к.б.н., Луганский НАУ

Ауксины – класс низкомолекулярных соединений преимущественно индольной природы (индолил-3-уксусная кислота и её производные), которые участвуют в различных биохимических и физиологических процессах растений, в том числе регулируют корнеобразование, рост корней в длину и стимулируют их ветвление [1]. В то же время роль ауксинов в процессе формирования корневых волосков у растений до конца ещё не определена. Вполне очевидно, что необходимо проведение специальных исследований для выяснения влияния ауксинов на образование волосков эпиблемы у растений.

В последние годы большие успехи были достигнуты в получении и изучении мутантных растений у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. с изменённой чувствительностью к ауксину [2]. Ауксин-нечувствительные мутанты обеспечили прогресс в выделении генов, отвечающих за восприятие и передачу ауксинового сигнала в растениях и помогли частично расшифровать молекулярные пути, по которым сигнал проходит, вызывая включение или подавление определённых физиологических программ [3].

К настоящему времени молекулярно-генетические и физиологические исследования мутантных растений у *A. thaliana* позволили изолировать и секвенировать ряд генов, участвующих в сигнализации ауксина. К ним относятся гены *AUXIN1* (*AUX1*) [4], *AUXIN RESISTANT1* (*AXR1*) [5], *AUXIN RESISTANT2* (*AXR2*) и *AUXIN RESISTANT3* (*AXR3*) [6].

Ген *AUX1* кодирует мембранный белок-транспортёр, который переносит ауксин, образуемый преимущественно в апикальной меристеме побега, в основном вниз по стеблю к конусу нарастания корня и к клеткам зон растяжения и всасывания [4].

Ген *AXR1* контролирует убиквитин-активирующий фермент (E_1), который является одним из 3 компонентов убиквитин-протеин-лигазного комплекса, состоящего из E_1 (убиквитин-активирующий фермент), E_2 (убиквитин-конъюгирующий фермент) и E_3 – собственно убиквитин-протеин-лигазы, которая катализирует финальное присоединение молекулы убиквитина к субстрату, а также наращивание мультиубиквитиновой цепи [5].

Гены *AXR2* и *AXR3* кодируют транскрипционные факторы *IAA7*, *IAA17*, принадлежащие к семейству регуляторных белков *Aux/IAA*, контро-

лирующих экспрессию генов вторичного ответа на ауксин [6].

Целью настоящей работы было изучение влияния мутантных аллелей *axr1-1*, *axr2-1*, *axr3-1* и *aux1-7* генов *AXR1*, *AXR2*, *AXR3* и *AUX1* на строение корневых волосков.

Материалы и методика исследования. Материалом для исследований служили растения *Arabidopsis thaliana* экотипа (расы) *Columbia* (Col-O) и мутантных линий *auxin1-7* (*aux1-7*), *auxin resistant1-1* (*axr1-1*), *auxin resistant2-1* (*axr2-1*) и *auxin resistant3-1* (*axr3-1*). Семена мутантных линий были получены из Ноттингемского центра образцов арабидопсиса (Nottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC), UK).

Растения выращивали в асептической пробирочной культуре на агаризованной питательной среде Кнопа, обогащённой микроэлементами [7]. Питательную смесь разливали в химические пробирки размером 14×120 мм и закрывали их плотными ватными пробками.

Семена к посеву готовили путём яровизации в течение 5 сут. при температуре 4–6°C и последующего односуточного проращивания при комнатной температуре. Пробирки для предохранения от нагревания и попадания света на корни растений обвёртывали двумя слоями бумаги. Растения культивировали при температуре 18–20°C, освещённость круглосуточная в пределах 4000–7000 лк.

При проведении наблюдений за растениями руководствовались общепринятыми методиками вегетационных и сравнительно-морфологических исследований [7]. Учёт количества корневых волосков и их длину в корневых системах у растений экотипа Col-O и исследуемых мутантных линий проводили в фазе второй пары настоящих листьев под микроскопом типа МБС-9. Объём выборки у расы Col-O и мутантных линий *axr2-1*, *axr3-1*, *axr1-1* и *aux1-7* составлял по 30 растений. Математическую обработку результатов проводили по методам, описанным Б.А. Доспеховым [8].

Результаты исследований. У арабидопсиса, как и у всех растений, кончик корня снаружи покрыт однослойной эпibleмой (кожицей). Кожица корня всасывает воду, минеральные вещества из почвы и передаёт их в стебель и листья. Клетки эпibleмы способны образовывать корневые волоски. Они являются настоящими выростами внешних стенок поверхностных клеток корня, которые не ограничиваются от них перегородками.

Волоски эпibleмы возникают в зоне дифференциации и развиваются в области всасывания выше апекса корня в среднем на 1–3 мм. По длине

Средние значения биометрических параметров (длины, толщины и количества) корневых волосков у экотипа Col-0 и мутантных линий axr2-1, axr3-1, axr1-1 и aux1-7 в фазу второй пары настоящих листьев (на 10-й день после прорастания семян)

Название линии	Корневые волоски			
	длина, мкм	диаметр в основании, мкм	диаметр в средней части, мкм	количество, шт/1 мм ²
WT (Col-O)	997,8±0,3	21,3±0,2	9,8±0,1	50,7±0,1
axr2-1	553,2±0,2	19,2±0,2	9,8±0,2	1,5±0,2
axr3-1	414,1±0,1	16,8±0,1	8,8±0,1	1,1±0,1
axr1-1	110,7±0,1	21,6±0,2	10,1±0,2	42,7±0,2
aux1-7	119,7±0,2	21,5±0,1	10,5±0,1	40,1±0,1
НСР _{0,05} , микрометр (мкм)	4,84	0,99	0,94	1,91

кончика корня они обычно занимают площадь 1,5–2 см².

Корневые волоски недолговечны. Обычно период их жизни составляет 10–20 дней. Во время роста корня на некотором расстоянии от его кончика, там, где заканчивается зона роста, появляются новые выросты клеток эпиблемы. Недавно возникшие корневые волоски короткие. По мере своего роста они удлиняются и приобретают трубчатую форму. У *A. thaliana* длина полностью закончившего рост волоска эпиблемы в среднем составляет около 1000 мкм, а диаметр в средней части равен примерно 10 мкм. Ближе к зоне проведения выросты клеток кожицы корня укорачиваются, теряют свою функцию, отмирают и слизываются.

У *A. thaliana* все клетки поверхностной ткани поглощающей зоны корня потенциально обладают способностью к развитию волосков эпиблемы. Однако у растений арабидопсиса обычно наблюдается морфологическая дифференциация эпиблемы на клетки, образующие выросты, и клетки, которые их не формируют.

У растений мутантных линий axr1-1, axr2-1, axr3-1 и aux1-7 корневые системы резко отличаются от экотипа Col-O по длине и количеству корневых волосков (табл.). Длина волосков эпиблемы у растений данных мутантных линий варьирует в широких пределах – от 110,7 до 553,2 мкм. Достоверное понижение величины корневых волосков по отношению к контролю (Col-O) выявлено у всех мутантных линий. Короткие волоски эпиблемы характерны для растений линий axr1-1 (110,7 мкм) и aux1-7 (119,7 мкм). Более крупные волоски эпиблемы имеют растения мутантных линий axr3-1 (414,1 мкм) и axr2-1 (553,2 мкм). Наибольшей длиной корневых волосков обладает линия axr2-1, а наименьшей – линия axr1-1.

Количество корневых волосков у растений изучаемых мутантных линий также сильно варьирует. Достоверное их понижение на 1 мм² поглощающей зоны корня по сравнению с исходной расой Col-O выявлено у всех мутантных линий. Растения линий axr2-1 и axr3-1 практически вовсе не формируют волоски эпиблемы в этой зоне, а растения линий axr1-1 и aux1-7 их образуют, но

в меньшем количестве, чем у контроля (Col-O). Наибольшее количество корневых волосков на 1 мм² зоны всасывания выявлено у мутантной линии axr1-1 (42,7 шт/1 мм²), тогда как наименьшее – у мутантной линии axr3-1 (1,1 шт/1 мм²).

Таким образом, полученные результаты указывают на существование различий у мутантных линий axr2-1, axr3-1, axr1-1 и aux1-7 по числу и длине корневых волосков. Причём мутации axr1-1, axr2-1, axr3-1 и aux1-7 в генах сигнализации ауксина AXR1, AXR2, AXR3 и AUX1 вызывают у растений подавление образования волосков эпиблемы. Эти результаты свидетельствуют в пользу того, что ауксин у растений играет важную роль в процессе развития корневых волосков. Наши данные вполне согласуются с имеющимися литературными сведениями о том, что ауксин является фитогормоном, стимулирующим рост клеток, поскольку корневые волоски являются выростами клеток поверхностной ткани корня.

Выводы. У мутантных линий axr1-1, axr2-1, axr3-1 и aux1-7 корневые системы значительно отличаются от исходной расы Col-O по количеству корневых волосков и их длине. Мутации axr1-1, axr2-1, axr3-1 и aux1-7 генов AXR1, AXR2, AXR3 и AUX1 обуславливают в корневой системе понижение образования выростов клеток кожицы корня.

Литература

1. Blakesley D., Weston G.D., Hall J.F. The Role of Endogenous Auxin in Root Initiation // *Plant Growth Regul.* 1991. Vol. 10, № 1. P. 341–353.
2. Hobbie L., Estelle M. Genetic approaches to auxin action // *Plant Cell Environ.* 1994. Vol. 17. № 6. P. 525–540.
3. Mockaitis K., Estelle M. Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm // *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2008. Vol. 24. № 3. P. 55–80.
4. Rahman A., Ahamed A., Amakawa T. Chromosaponin I specifically interacts with AUX1 protein in regulating the gravitropic response of Arabidopsis roots // *Plant Physiol.* 2001. Vol. 125. № 2. P. 990–1000.
5. Pozo J.C., Timpte C., Tan S., Callis J., Estelle M. The ubiquitin-related protein RUB1 and auxin response in Arabidopsis // *Science.* 1998. Vol. 280. № 1. P. 1760–1763.
6. Belin C., Megies C., Hauserova E., Lopez-Molina L. Abscisic acid represses growth of the Arabidopsis embryonic axis after germination by enhancing auxin signaling // *Plant Cell.* 2009. Vol. 21. № 1. P. 2253–2268.
7. Рубин Б.А., Чернавина И.А., Потапов Н.Г. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высш. шк., 1978. 408 с.
8. Дослехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.