

УДК 581.1.581.14

ИУК И АБК СТИМУЛИРУЮТ ПРОРАСТАНИЕ *IN VITRO* МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА ПЕТУНИИ, АКТИВИРУЯ K^{\pm} КАНАЛЫ В ПИЛЛЕРНЫХ ТРУБОЧКАХ.**А.С. Воронков, Ю.В. Минкина¹, Г.В. Тимофеева, Л.В. Ковалева***Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*¹*Обнинский институт атомной энергетики, Обнинск, Россия*

Прорастание пыльцевых зерен и рост пыльцевых трубок зависит от водных и ионных (Ca^{2+} , H^+ , K^+ , Cl^-) потоков [2]. Калий, основной осмотический агент в клетках растений, обеспечивает поддержание тургорного давления и его поглощение создает движущую силу для трансмембранных осмотических потоков воды в клетки. Как осмотический регулятор, калий необходим и для прорастания ПЗ, и для роста ПТ, которые используют K^+ , наряду с другими осмотиками, такими как сахароза. Транспорт K^+ через ПМ пыльцы регулируется K^{\pm} каналами [2, 3, 4, 5]. Присутствие этого катиона выявлено в области апертуры зрелой пыльцы и, учитывая синхронизированное появление K^+ в зрелой пыльце, пыльниках и папиллах, авторы предположили, что K^+ может регулировать раскрытие пыльника, набухание пыльцы и гидратацию пилл и совместно с ионами Ca^{2+} и H^+ участвует в регуляции полярного роста ПТ [3]. Брейгина и др. [1] установили, что рост ПЗ как в условиях *in vivo*, так и *in vitro* сопровождается выходом из него подвижных ионов K^+ и Cl^- . Мы провели исследование, направленное на выяснение механизма включения ИУК и АБК в морегуляцию прорастающего *in vitro* мужского гаметофита петунии. Результаты представлены на рис. 1 и в таблицах 1–3. Пыльца петунии прорастает на воде, однако длина ПТ остается постоянной в течение 2 ч и составляет 15 мкм (рис. 1а; табл. 1). Внесение гормонов, ИУК или АБК, стимулировало в 2 раза прорастание ПЗ. При культивировании пыльцы на среде, содержащей 0.4 М сахарозу и 1.6 мМ H_3BO_3 , гормоны стимулировали как прорастание ПТ, так и рост ПТ (рис. 1а, б; табл. 2). В первые 0.5 ч культивирования, на стадии гидратации ПЗ и инициации прорастания ПТ, % прорастания ПЗ и длина ПТ на среде (без гормонов) были идентичны этим показателям при культивировании ПЗ на воде в присутствии ИУК или АБК, причем АБК в большей степени стимулировала прорастание ПЗ, а ИУК – рост ПТ (рис. 1а, б). При последующем культивировании было обнаружено, что АБК в большей степени стимулировала и прорастание ПЗ, и рост ПТ (рис. 1а, б; табл. 1 и 2).

ТИБК, ингибитор транспорта ИУК и флуридон, ингибитор синтеза АБК, тормозили рост ПТ. При этом флуридон полностью ингибировал рост ПТ на воде, в то время как ТИБК снижала в 3 раза рост ПТ на среде (табл. 1 и 2).

В ходе ингибиторного анализа было установлено, что ингибитор K^{\pm} канала в ТЕС-С1 ингибировал прорастание ПЗ, культивируемых на среде, содержащей 0.4 М сахарозу и 1.6 мМ H_3BO_3 (табл. 3). При совместном внесении в среду гормонов с ТЕА-С1 наблюдали снятие ингибиторного эффекта ТЕА-С1 и прорастание ПЗ и рост ПТ. Эффект АБК был более значительный, а именно, ее присутствие в среде культивирования стимулировало прорастание ПЗ в 3 раза, а рост ПТ в 2 раза (по сравнению с контролем), в то время как ИУК стимулировала рост лишь незначительного числа

Таблица 1. Влияние ИУК, АБК, ТИБК и флуридона на рост пыльцевых трубок (в мкм)

Время культивирования	Вода (К)	Вода + ИУК	Вода + ТИБК	Вода + ТИБК + ИУК	Вода + АБК	Вода + флуридон	Вода + АБК + флуридон
1 ч	15 ± 0.9	22.9 ± 1.7	10.41 ± 0.7	10 ± 0.6	13.72 ± 0.7	-	12.5 ± 0.5
2 ч	22.9 ± 1.9	23.0 ± 2.1	10.5 ± 0.9	27.5 ± 1.9	23.1 ± 2.1	-	27.1 ± 2.2

Таблица 2. Влияние ИУК, АБК, ТИБК и флуридона на рост пыльцевых трубок (в мкм)

Время культивирования	Среда (К)	Среда + ИУК	Среда + ТИБК	Среда + ТИБК + ИУК	Среда + АБК	Среда + флуридон	Среда + АБК + флуридон
1 ч	89.5 ± 5.5	110.4 ± 8.2	37.5 ± 2.8	47.5 ± 2.8	147.5 ± 3.1	18.75 ± 0.9	40 ± 2.2
2 ч	235 ± 12.5	337.5 ± 15.8	78.7 ± 5.1	75.5 ± 4.2	365 ± 23.1	202.1 ± 3.4	282.5 ± 1.7

* Время культивирования

Таблица 3. Влияние ТЕА-Сl, ингибитора К ± каналов, на прорастание пыльцевых зерен и рост пыльцевых трубок петунии

Вариант	Время культивирования на среде (0.4 М сахара + 1.6 мМ Н ₃ ВО ₃)	% прорастания пыльцевых зерен	Длина пыльцевых трубок, мкм
Контроль	1 ч	5	4.5 ± 0.31
Контроль	2 ч	10	11.83 ± 0.63
ТЕА-Сl 20 мМ	1 ч	-	-
ТЕА-Сl 20 мМ	2 ч	-	-
ТЕА-Сl + ИУК 5 мкМ	1 ч	ед.	3.5 ± 0.17
ТЕА-Сl + ИУК 5 мкМ	2 ч	ед.	10.85 ± 0.75
ТЕА-Сl + АБК 5 мкМ	1 ч	20	11.66 ± 0.74
ТЕА-Сl + АБК 5 мкМ	2 ч	30	20.16 ± 1.81

ПТ, сравнимых по длине с контрольными ПТ. Полагаем, что АБК снимала действие ТЕА-Сl, стимулируя транспорт ионов К⁺ через ПМ прорастающего мужского гаметофита. Полученные результаты о роли ионов К⁺ в гормональном контроле движущих сил транспорта воды в прорастающем мужском гаметофите позволили сформулировать гипотезу, объясняющую возможную роль фитогормонов в этом процессе. Мы полагаем, АБК и ИУК стимулируют прорастание ПЗ и рост ПТ, активируя К[±] каналы в ПМ ПТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брейгина М.А., Матвеева Н.П., Андреюк Д.С. и др. Трансмембранный перенос К⁺ и Сl⁻ – в процессе активации пыльцевого зерна *in vivo* и *in vitro* // Онтогенез. 2012. Т. 43. С. 103–112.
2. Feijo J.A., Malho R., Obermeyer G. Ion dynamics and its possible role during *in vitro* pollen germination and tube growth // Protoplasma. 1995. V. 187. P. 155–167.
3. Rehman S., Yun S.J. Developmental regulation of K accumulation in pollen, anthers, and papillae: are anther dehiscence, papillae hydration, and pollen swelling leading to pollination and fertilization in barley (*Hordeum vulgare* L.) regulated by changes in K concentration? // J. Exp. Bot. 2006. V. 57. P. 1315–1321.
4. Safiarian M.J., Pertl-Obermeyer H., Lughofer P. et al. Lost in traffic? The K⁺ channel of lily pollen, LilKT1, is detected at the endomembranes inside yeast cells, tobacco leaves, and lily pollen // Front Plant Sci. 2015. 6: Article 47. doi: 10.3389/fpls.2015.00047
5. Zhao L. – N., Shen L. – K., Zhang W. – Z. et al. Ca²⁺ dependent protein kinase11 and 24 modulate the activity of the inward rectifying K⁺ channels in Arabidopsis pollen tube // Plant Cell. 2013. V. 25. P. 649–661.