

НАКОПЛЕНИЕ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АБК В ТКАНЯХ ЛИСТА И УСТЬИЧНАЯ ПРОВОДИМОСТЬ ПРИ ВОДНОМ СТРЕССЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ ЗАСОЛЕНИЕМ

© Г. Р. Ахиярова,¹ В. Фрике,² Д. С. Веселов,¹ Г. Р. Кудоярова,¹ С. Ю. Веселов³

¹ Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа,

² Биологический факультет Университета Пэйсли, Пэйсли, Великобритания,

³ Башкирский государственный университет, Уфа;
электронный адрес: veselov@anrb.ru

Рассматривалось участие абсцизовой кислоты (АБК) в быстрых устьичных реакциях растений в условиях водного стресса, вызванного засолением питательного раствора 100 мМ хлоридом натрия. Было изучено влияние кратковременного действия засоления питательного раствора на динамику содержания и иммуногистохимическое распределение гормона АБК в дифференцированных тканях третьего листа, устьичную проводимость и транспирацию растений ячменя обыкновенного *Hordeum vulgare* L. Было выявлено быстрое (в течение 30 мин) накопление АБК, что соответствовало усилению иммунного окрашивания, особенно заметного в клетках мезофилла и устьиц дифференцированной ткани листа. Увеличение общего содержания АБК в тканях растений совпадало по времени с закрытием устьиц под влиянием засоления. Сделан вывод об участии АБК в процессах быстрого закрытия устьиц.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L., устьичная проводимость, транспирация, АБК, иммунолокализация, засоление.

Принятые сокращения: АБК — абсцизовая кислота; ФЖТ — 0.1 М фосфатный буферный раствор, содержащий 0.2 % желатина и 0.05 % Tween-20; ФТ — физиологический раствор, содержащий 0.05 % Tween-20.

Засоление почвы является одним из наиболее важных факторов окружающей среды, оказывающих отрицательное влияние на рост и развитие растений. Его ингибирующее действие прежде всего связано с нарушением процессов поглощения воды из засоленной почвы. Закрытие устьиц является важным механизмом поддержания водного баланса в условиях снижения поступления воды из корней. Неоднократно было показано, что в условиях засоления устьичная проводимость снижается (Herralde et al., 1998; Sohan et al., 1999). При длительном действии засоления закрытие устьиц объясняли накоплением АБК, способностью которой закрывать устьица хорошо известна (Mansfield, McAinsh, 1995). Вместе с тем было показано, что даже кратковременное засоление, когда токсические ионы еще не влияют непосредственно на клетки растений, снижение осмотического потенциала почвенного раствора способно вызвать нарушение водного обмена (водный стресс), что проявляется в практически мгновенном прекращении роста клеток листа растяжением (Munns et al., 2000b). В этих экспериментах также была обнаружена способность растений быстро (в течение нескольких десятков минут) реагировать на изменение условий окружающей среды, обеспечивая возобновление роста клеток растяжением. Было показано, что частичное восстановление роста при засолении связано с быстрым закрытием устьиц (Fricke et al., 2004). В тех же экспериментах было обнаружено быстрое увели-

чение содержания АБК в экстракте из листьев растений, что указывало на возможное участие данного гормона в устьичной реакции на кратковременное действие засоления. Однако увеличение общего содержания АБК в экстракте из листьев еще не может быть доказательством того, что гормон находится в области замыкающих клеток устьиц, где он должен быть локализован, чтобы вызвать их закрытие. Известно, что распределение АБК между клетками тканей растений подчиняется сложным закономерностям. В литературе имеются данные исследований о влиянии pH на распределение данного гормона между различными клеточными структурами и апопластом (Hartung, 1983; Hartung et al., 1988; Hartung, Radin, 1989; Hartung, Slovik, 1991; Gollan et al., 1992; Wilkinson, Davies, 2002). Поэтому важно не только показать увеличение общего содержания гормона в тканях, но и установить характер его распределения между клетками. Имеется лишь небольшое количество работ, посвященных изучению влияния стрессового воздействия на особенности гистохимического распределения АБК между различными тканями (Sotta et al., 1985) и клеточными компартментами растений с использованием антител к АБК (Pastor et al., 1995, 1999; Van Rensburg et al., 1996). На растениях лаванды *Lavandula stoechas* L. было показано, что на фоне развивающегося дефицита воды повышение общего содержания АБК в листьях растений в 4 раза сопровождалось увеличением иммуноокрашива-

ния прежде всего в апопласте, а затем в хлоропластах и ядрах клеток. Причем преимущественное накопление АБК в апопласте не было вызвано перераспределением данного гормона из клеточных компартментов (Pastor et al., 1999). Авторы предположили, что источником такого накопления гормона в апопласте являлись корни.

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о перспективности использования иммуногистохимического подхода для изучения распределения АБК между клетками растений при действии засоления. Исследования проводили на растениях ячменя, поскольку в предварительных экспериментах нами было показано возможное участие в АБК в процессах возобновления роста побегов однодольных растений в условиях кратковременного засоления питательного раствора хлоридом натрия (Fricke et al., 2004).

Цель настоящего исследования заключалась в подтверждении участия АБК в регуляции устьичной проводимости при кратковременном действии засоления с помощью метода ее иммуногистологической локализации.

Материал и методика

Растения ячменя обыкновенного *Hordeum vulgare* L. сорта Golf выращивали в лабораторных условиях на водной культуре. Семена проращивали в темноте в течение 2—3 сут на дистиллированной воде с добавлением 10^{-5} М CaCl_2 при 24 °С. На 4-е сут проростки пересаживали на 100%-ную среду Хогланда—Арнона-I (Гродзинский, Гродзинский, 1973) и выращивали при освещенности 18 000 лк и продолжительность светового дня 14 ч. Опыты проводили с третьим листом 14-суточных проростков ячменя. Водный дефицит создавали путем добавления в питательный раствор хлорида натрия до конечной концентрации 100 мМ.

Транспирацию растений определяли весовым методом (по потере веса стаканчиком с 50 мл питательного раствора и десятью проростками). Для предотвращения испарения воды с поверхности питательного раствора стаканчик закрывали алюминиевой фольгой с отверстием для проростков. Вес стаканчиков определяли каждые 10 мин и по разнице в весе судили об интенсивности транспирации.

Устьичную проводимость растений определяли с помощью автоматического порометра Mk3 (Англия). Прибор автоматически регистрирует продолжительность времени (ΔT 5 %) повышения относительной влажности в узкой листовой камере в фиксированном интервале значений от номинального заданного уровня до +5 %. Предварительную калибровку проводили с помощью специальной пластины, содержащей набор отверстий с известными диффузионными сопротивлениями. По результатам калибровки строили калибровочный график в координатах «сопротивление—показания прибора», используя известное сопротивление каждой группы отверстий. По показаниям прибора и полученному калибровочному графику вычисляли устьичное сопротивление и рассчитывали устьичную проводимость растений.

Для определения общего содержания АБК в листьях использовали вырезки длиной 2 см из дифференцированной зоны третьего листа ячменя. Сбор образцов осуществляли через 10, 30, и 60 мин после начала воздействия засоления. Растительный материал гомогенизировали и экстрагировали 80%-ным этанолом. Спиртовой

экстракт отделяли центрифугированием и упаривали до водного остатка с помощью ротационного испарителя. Экстракцию АБК из аликвоты водного остатка проводили по модифицированной схеме с уменьшением объема (Veselov et al., 1992). Водный остаток подкисляли до pH 2—3 1 н. раствором HCl, затем дважды проводили экстракцию диэтиловым эфиром в соотношении 1 : 5 (органическая фаза/водная фаза). Из объединенной органической фазы АБК реэкстрагировали 1%-ным раствором гидрокарбоната натрия, взятым в соотношении 1 : 3 (водная фаза/органическая фаза). Органическую фазу отделяли и отбрасывали, а из водной после подкисления до pH 2—3 вновь дважды экстрагировали фитогормоны диэтиловым эфиром и метилировали их диазометаном (Кислин и др., 1983). Содержание гормонов определяли с помощью иммуноферментного анализа по модифицированной методике (Kudoyarova et al., 1998). Иммуноферментный анализ проводили в лунках полистиролового планшета (Costar, США). На первом этапе конъюгат гормона с белком сорбировали на твердой фазе (полистирол) и выдерживали в течение 1.5 ч при 37 °С, после чего проводили 3-кратную промывку физиологическим раствором, содержащим 0.05 % Tween-20 (ICN Biomedicals, США) (ФТ; pH 6.8—7.0). В лунки вносили антисыворотку (любезно предоставлена проф. С. Ю. Веселовым, Башкирский государственный университет, Уфа) к фитогормону вместе с раствором стандарта фитогормона (Sigma, Германия) или растительным экстрактом и инкубировали при 37 °С в течение 1 ч, затем промывали лунки раствором ФТ. Для определения количества сыворотки, прореагировавшей с сорбированными в лунках белковыми конъюгатами гормонов, использовали препарат антикроличьих бараньих антител, меченных пероксидазой (НИИЭМ, Россия). Планшеты с этим препаратом инкубировали 1 ч при 37 °С, после чего промывали раствором ФТ. Количество иммуносорбированных антител определяли по цветной реакции субстрата — 0.4 мг/мл ортофенилендиамина (Sigma, США) в 0.06 М фосфатном буферном растворе (pH 5.0), содержащем 0.006 % перекиси водорода. Цветная реакция развивалась в течение 15—30 мин, затем ее останавливали 4 н. серной кислотой. Оптическую плотность измеряли на фотометре Titertek-Uniskan (Eflab, Финляндия) при длине волны 492 нм.

Сбор образцов для изучения иммуногистохимического распределения АБК в тканях листа проводили через 30 мин после начала воздействия засоления. Вырезки дифференцированной зоны третьего листа ячменя фиксировали в 4%-ном растворе карбодиимида (Sigma, Япония), приготовленном на 0.1 М фосфатном буферном растворе (pH 7.4), в течение 4 ч. На следующем этапе образцы тканей отмывали в течение 1 ч в 0.1 М фосфатном буферном растворе (pH 7.4). Дегидратацию образцов проводили в серии разведений этанола (30, 50, 70, 80 и 96 %), выдерживая в каждом по 30 мин. Затем их заключали в гидрофильную метакрилатную смолу GB-4 (Electron Microscopy Sciences, США). С помощью ультрамикротомы готовили гистологические срезы толщиной 0.5 мкм. На стекле размещали по 4 среза. Иммунолокализацию гормонов проводили, как описано ранее (Веселов и др., 1999). На первом этапе на срезы наносили по 50 мкл раствора 0.1 М фосфатного буферного раствора (pH 7.2—7.4), содержащего 0.2 % желатина и 0.05 % Tween-20 (ФЖТ), выдерживая их в течение 30 мин во влажной камере. После промывания дистиллированной

водой часть срезов обрабатывали иммунной сывороткой, содержащей антитела к АБК, а другие срезы — нормальной сывороткой, не содержащей специфических антител, по 20 мкл на каждый срез (в разведении 1 : 50). Указанное разведение сывороток готовили на растворе ФЖТ. Обработанные сывороткой срезы помещали во влажную камеру на 2 ч, затем проводили 3-кратное промывание раствором ФТ. Для выявления сыворотки, прореагировавшей с АБК, срезы обрабатывали раствором золотого конъюгата (BVInt., Великобритания) по 20 мкл на каждый срез (в разведении 1 : 100) и выдерживали во влажной камере 1 ч. Разведение золотого конъюгата готовили на ФЖТ. После 3-кратного промывания ФТ на срезы наносили серебряный усилитель (BVInt., Великобритания) в количестве 50 мкл и помещали срезы в темноту на 15—20 мин. Далее развитие окраски наблюдали под микроскопом. Серебряный усилитель удаляли промыванием срезов дистиллированной водой. В качестве иммунологического контроля служили образцы тканей, взятых у растений, находящихся в контрольных условиях, а также через 30 мин после засоления, обработанные нормальной сывороткой кролика, не содержащей специфических антител к АБК.

Результаты и обсуждение

Добавление хлорида натрия в питательный раствор приводило к быстрому снижению устьичной проводимости третьего листа растений ячменя (через 10 мин после добавления соли) и суммарной транспирации (в течение первых 30 мин воздействия; см. таблицу). Различия в характере изменения устьичной проводимости и транспирации через 10 мин после начала действия засоления связаны с тем, что транспирация — это потеря воды всем растением, в то время как устьичную проводимость измеряли только для третьего листа, который фиксировали для изучения локализации АБК. Первоначальное увеличение уровня транспирации через 10 мин после начала действия водного стресса связано с гидропассивным открытием устьиц вследствие резкой потери тургора клетками и выхода из них воды (Munns et al., 2000a), причем в этом процессе как раз принимают участие более зрелые листья. Поэтому повышения уровня устьичной проводимости в третьем листе в этот же момент времени не было обнаружено. Закрытию устьиц предшествовало быстрое увеличение общего содержания АБК в экстракте из листьев (см. таблицу). Было важно проследить, как распределяется АБК в клетках растений до и после воздействия засоления.

Изменение содержания АБК и устьичной проводимости третьего листа и общей (суммарной) транспирации растений ячменя при засолении

Время после начала воздействия, мин	Содержание АБК, нг на 1 г сырого веса	Устьичная проводимость, ммоль на 1 м ² за 1 с	Транспирация, мг на 1 растение за 1 ч
0	36.0 ± 8.6	96.7 ± 5.8	158
10	120.3 ± 22.4	59.9 ± 15.8	189
30	74.0 ± 13.1	64.3 ± 9.5	122
60	59.7 ± 19.9	60.7 ± 16.2	118

После обработки срезов иммунореагентами наблюдалось интенсивное иммунное окрашивание клеток дифференцированной ткани листа. При этом наиболее интенсивное окрашивание наблюдалось в образцах тканей листа, взятых через 30 мин после начала воздействия засоления и обработанных иммунной сывороткой (рис. 1, а). Некоторое окрашивание отмечали в контрольных образцах растений, также обработанных иммунной сывороткой (рис. 2, а). О специфичности иммуноокраски судили по отсутствию окрашивания в образцах, обработанных нормальной сывороткой (рис. 1, б; 2, б).

Данные рис. 1, а, на котором представлено гистохимическое распределение гормона в дифференцированных тканях листа ячменя через 30 мин после засоления, позволяют сделать вывод о том, что АБК выявляется преимущественно в клетках мезофилла и что очень важно, внутри и вокруг устьичных клеток, а в клетках эпидермиса и сосудистых пучках практически не обнаруживается.

В образцах растений, находившихся в контрольных условиях, также было обнаружено незначительное иммуноокрашивание (рис. 2, а). При этом основная часть АБК была сосредоточена в мезофильных клетках листа; устьичные клетки, клетки эпидермиса и сосудистых пучков окрашивались слабо.

В предварительных экспериментах (Fricke et al., 2004) подавление роста третьего листа ячменя происходило уже в 1-е мин после добавления соли в питательный раствор. Возобновление роста побегов наблюдалось примерно через 1 ч после засоления. Этому предшествовало падение транспирации проростков ячменя через 30 мин после начала засоления (см. таблицу). Уменьшение транспирации, по-видимому, было связано со снижением устьичной проводимости растений уже через 10 мин после воздействия (см. таблицу). В это же время происходило значительное накопление АБК как в целом побеге, так и в дифференцированных тканях листа (см. таблицу). Так, уже через 10 мин после начала воздействия засоления содержание АБК в дифференцированных тканях третьего листа растений ячменя составило 36 нг на 1 г сырого веса (у контрольных растений) и 120 нг на 1 г сырого веса (у опытного растений), после чего содержание ее у опытных растений постепенно снижалось и через 1 ч после воздействия было 61 нг на 1 г сырого веса.

Исследование гистохимического распределения АБК в дифференцированных тканях растений ячменя через 30 мин после засоления питательного раствора показало преимущественное накопление данного гормона в клетках мезофилла и вокруг замыкающих клеток устьиц листа. Похожие результаты были получены и другими исследователями при изучении влияния засухи на распределение АБК в тканях листа (Pastor et al., 1999). Однако в этих экспериментах исследователи рассматривали влияние длительной (в течение 2—4 сут) засухи. В наших опытах мы обнаружили изменение иммуногистохимического распределения гормона уже в течение первых 30 мин после начала воздействия засоления.

На основании результатов количественного определения АБК и ее распределения в дифференцированных тканях листьев в условиях засоления можно сделать вывод о том, что значительное накопление данного гормона в листьях растений (в 3.3 раза по сравнению с контролем уже через 10 мин после начала воздействия) сопровождалось преимущественным концентрированием его в

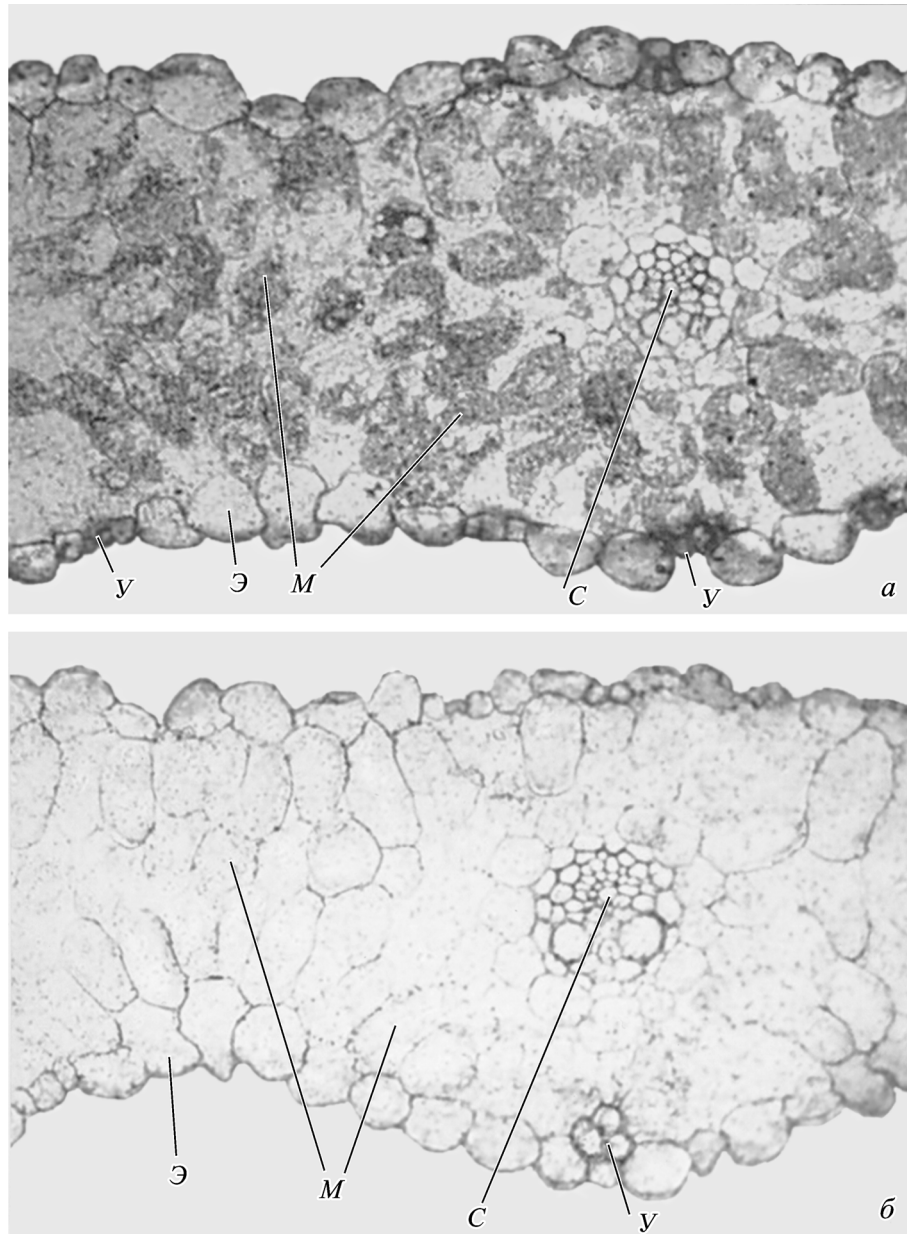


Рис. 1. Иммуногистохимическая локализация АБК в листьях растений ячменя через 30 мин после добавления хлорида натрия в питательную среду.

a — срезы листовой пластинки, обработанные иммунной сывороткой; *б* — срезы листовой пластинки, обработанные нормальной (неиммунной) сывороткой. *М* — клетки мезофилла, *С* — сосудистые пучки, *У* — устьичные клетки, *Э* — клетки эпидермиса. 400×.

мезофильных и устьичных клетках. Такое накопление АБК предшествовало по времени наблюдаемому уменьшению устьичной проводимости и транспирации растений ячменя при засолении. Механизм влияния АБК на работу клеток устьичного аппарата достаточно широко и подробно изучен (Mansfield, McAinsh, 1995). Показано, что механизм закрытия устьиц под влиянием АБК связан с ее действием непосредственно на ионные каналы клеточных мембран замыкающих клеток (Schroeder, Hedrich, 1989; MacRobbie, 1992; Blatt, Thiel, 1993). Поэтому так важно, что обнаруженное нами концентрирование АБК наблюдалось именно вокруг устьичных клеток. Учитывая данный факт, мы считаем достаточно очевидным, что именно накопление АБК в дифференцированных тканях листьев уже в 1-е мин воздействия засоления

могло способствовать снижению транспирации и в конечном итоге — возобновлению роста растений. Что касается источника такого быстрого накопления АБК в побегах растений при засолении, то многими исследователями показано, что в условиях действия засухи (Davies, Zhang, 1991; Griffiths et al., 1996) или длительного засоления (Kefu et al., 1991) увеличивается приток АБК в побег по ксилеме из корней растений. Однако наши результаты по доставке гормона из корней в побег (Fricke et al., 2004) не подтвердили это предположение в условиях кратковременного засоления. В литературе имеются сведения о возможности синтеза АБК в самих побегах при падении в них тургора, которое наблюдается при развивающемся в них дефиците воды (Outlaw et al., 1992; Jia et al., 2001). В наших экспериментах мы также реги-

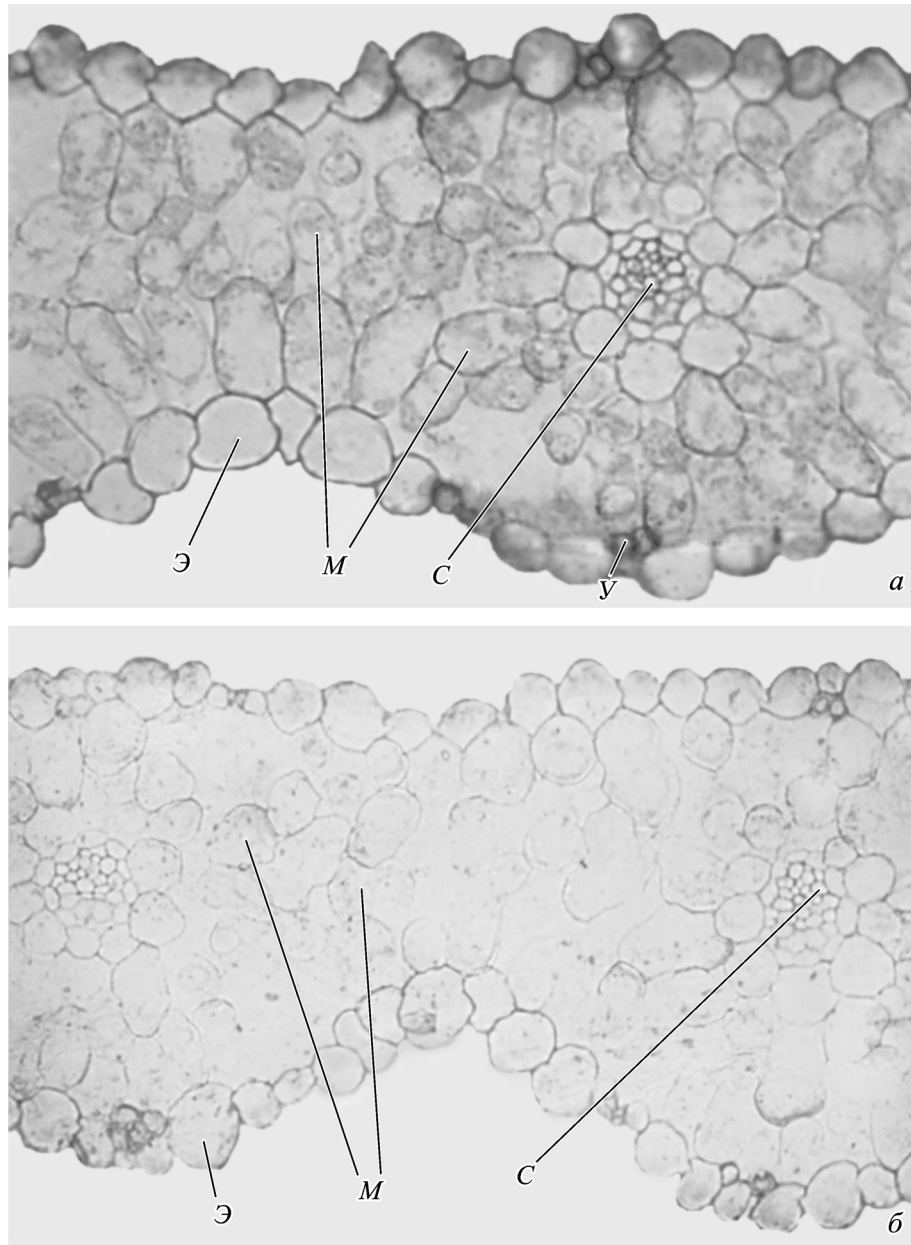


Рис. 2. Иммуногистохимическая локализация АБК в листьях контрольных растений ячменя.

a — срезы листовой пластинки, обработанные иммунной сывороткой; *б* — срезы листовой пластинки, обработанные нормальной (неиммунной) сывороткой. Обозначения те же, что и на рис. 1. 400×.

стрировали возникновение дефицита воды (Fricke et al., 2004) в побегах растений в первые 10 мин воздействия засоления на фоне продолжающегося повышенного уровня транспирации (см. таблицу). В свою очередь развивающийся дефицит воды в побегах опытных растений мог стать сигналом для синтеза в них АБК. Еще одним возможным источником АБК могли быть конъюгаты данного гормона, гидролиз которых может увеличиваться при действии какого-либо стрессового фактора (Sauter, Hartung, 2000).

Таким образом, способность растений быстро накапливать АБК определяет возможность регулирования водного баланса и поддержания роста в условиях кратковременного засоления.

Авторы выражают искреннюю благодарность к. б. н. Марианне Вячеславовне Симонян за техническую помощь в процессе выполнения работы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 03-04-49780) и Фонда содействия отечественной науке.

Список литературы

Веселов С. Ю., Вальке Р., Ван Онкелен Х., Кудоярова Г. Р. 1999. Содержание и локализация цитокининов в листьях исходного и трансгенных растений табака. Физиол. раст. 46 (1) : 326—335.

- Гродзинский А. М., Гродзинский Д. М. 1973. Краткий справочник по физиологии растений. Киев: Наук. думка. 591 с.
- Кислин Е. Н., Богданов В. А., Щелоков О. Н., Кефели В. И. 1983. Абсцизовая и индолилуксусная кислоты в культуре корней гороха. Газохроматографический хромато-массоспектрометрический анализ. Физиол. раст. 30 (1): 187—194.
- Blatt M. R., Thiel G. 1993. Hormonal control of ion channel gating. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 44 : 543—567.
- Davies W. J., Zhang J. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 42 : 55—76.
- Fricke W., Akhilarova G., Veselov D., Kudoyarova G. 2004. Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves. J. Exp. Bot. 55 : 1115—1123.
- Gollan T., Schurr U., Schulze E.-D. 1992. Stomatal response to drying soil in relation to changes in the xylem sap composition of *Helianthus annuus*. I. The concentration of cations, anions, amino acids in, and pH of, the xylem sap. Plant Cell and Environ. 15 : 551—559.
- Griffiths A., Parry A. D., Jones H. G., Tomos A. D. 1996. Abscisic acid and turgor pressure regulation in tomato roots. J. Plant Physiol. 149 : 372—376.
- Hartung W. 1983. The site of action of abscisic acid at the guard cell plasmalemma of *Vaierianella locustula*. Plant Cell and Environ. 6 : 427—428.
- Hartung W., Radin J. W. 1989. Abscisic acid in the mesophyll apoplast and in the root xylem sap of water stressed plants. The significance of pH gradient. Current Topics in Plant Biochem. and Physiol. 8 : 110—124.
- Hartung W., Radin J. W., Hedrix D. L. 1988. Abscisic acid movement into the apoplastic solution of water stressed cotton leaves: role of apoplastic pH. Plant Physiol. 86 : 908—913.
- Hartung W., Slovik S. 1991. Physicochemical properties of plant growth regulators and plant tissues determine their regulators distribution and redistribution: stomatal regulation by abscisic acid in leaves. New Phytol. 119 : 361—382.
- Herradale F. D., Biel C., Save R., Morales M. A., Torrecillas A., Alarcon J. J., Sanchez-Blanco M. J. 1998. Effect of water and salt stress on the growth, gas exchange and water relations in *Argyranthemum coronopifolium* plants. Plant Sci. 139 : 9—17.
- Jia W., Zhang J., Liang J. 2001. Initiation and regulation of water deficit-induced abscisic acid accumulation in maize leaves and roots: cellular volume and water relations. J. Exp. Bot. 52 : 295—300.
- Kefu Z., Munns R., King R. W. 1991. Abscisic-acid levels in NaCl-treated barley, cotton and saltbush. Aust. J. Plant Physiol. 18 : 17—24.
- Kudoyarova G. R., Farhutdinov R. G., Mitrichenko A. N., Teplova I. R., Dedov A. V., Veselov S. U., Kulaeva O. N. 1998. Fast changes in growth rate and cytokinin content of the shoot following rapid cooling of roots of wheat seedling. Plant Growth Regul. 26 : 105—108.
- MacRobbie E. A. C. 1992. Calcium and ABA-induced stomatal closure. Phil. Trans. R. Soc. Lond. 338 : 5—18.
- Mansfield T. A., McAinsh M. R. 1995. Hormones as regulator of water balance. In: Plant hormones. London: Kluwer. 598—616.
- Munns R., Guo J., Passioura J. B., Cramer G. R. 2000a. Leaf water status controls day-time, but not daily rates of leaf expansion in salt-treated barley. Aust. J. Plant Physiol. 27 : 949—957.
- Munns R., Passioura J. B., Guo J., Chazen O., Cramer G. R. 2000b. Water relations and leaf expansion: importance of time scale. J. Exp. Bot. 51 : 1495—1504.
- Outlaw W. H., Hite D. R., Zhang S. Q. 1992. Molecular, cellular, and plant mechanisms of ABA control of stomatal aperture size. In: Progress in plant growth regulation. Netherlands: Kluwer Acad. Publ. 474—485.
- Pastor A., Cortadellas N., Allegre L. 1995. Immunolocalization of abscisic acid by monoclonal antibodies in *Lavandula stoechas* L. leaves. Plant Growth Regul. 16 : 287—292.
- Pastor A., Lopez-Carbonell M., Alegre L. 1999. Abscisic acid immunolocalization and ultrastructural changes in water-stressed lavender (*Lavandula stoechas* L.) plants. Physiol. Plant. 105 : 272—279.
- Sauter A., Hartung W. 2000. Radial transport of abscisic acid conjugates in maize roots: its implication for long distance stress signals. J. Exp. Bot. 51 : 929—935.
- Schroeder J. I., Hedrich R. 1989. Involvement of ion channels and active transport in osmoregulation and signaling in higher plant cells. Trends Biochem. Sci. 14 : 187—192.
- Sohan D., Jasoni R., Zajicek J. 1999. Plant-water relations of NaCl and calcium-treated sunflower plants. J. Exp. Bot. 42 : 105—111.
- Sotta B., Sossountzov L., Maldiney R., Sabbagh I., Tachon P., Miginiac E. 1985. Abscisic acid localization by light microscopic immunohistochemistry in *Chenopodium polyspermum* L. Effect of water stress. J. Histochem. Cytochem. 33 : 201—208.
- Van Rensburg L., Kruger H., Breytenbach J., Coetzee J., Van der Merwe C. F., Van Aswegwn A., Kruger G. H. J. 1996. Immunogold localization and quantification of cellular and subcellular abscisic acid, prior to and during stress. Biotech. Histochem. 71 : 38—43.
- Veselov S. Yu., Kudoyarova G. R., Egutkin N. L., Gyuli-Zade V. Z., Mustafma A. R., Kof E. M. 1992. Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for indole 3-acetic acid. Physiol. Plant. 86 : 93—96.
- Wilkinson S., Davies W. J. 2002. ABA-based chemical signaling: the coordination of responses to stress in plants. Plant Cell and Environ. 25 : 195—210.

Поступила 10 X 2005

ABA ACCUMULATION AND DISTRIBUTION DURING THE LEAF TISSUES SHOWS
ITS ROLE STOMATAL CONDUCTANCE REGULATION UNDER SHORT-TERM SALINITY

G. R. Akhilarova,¹ W. Fricke,² D. S. Veselov,¹ G. R. Kudoyarova,¹ S. Yu. Veselov³

¹ Institute of Biology RAS, Ufa, ² Department of Biology, Paisly University, Paisly, UK, and ³ State University, Ufa;
e-mail: veselov@anrb.u

The regulative role of ABA in the rapid plant stomatal reactions in response to salinity was investigated. The influence of the short-term salinity on the overall ABA accumulation and its distribution within the mature leaf (revealed by immunohistochemical technique) and stomatal conductance of barley (*Hordeum vulgare* L.) were determined. Rapid bulk leaf ABA accumulation and increase in ABA immunolabeling in the mesophyll and guard cells of stomata were shown. The bulk ABA increasing in mature barley leaves coincided with stomatal closure induced by salt treatment indicating on the ABA contribution to the rapid stomatal closure.