

МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ДИНАМИКИ ВОДНОЙ ПРОВОДИМОСТИ В КОРНЯХ ИНТАКТНЫХ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

Суслов М.А.

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН
ул. Лобачевского, 2/31, г. Казань, 420111, РФ; e-mail: makscom87@mail.ru
Поступила в редакцию: 09.08.2019

Аннотация. В данной работе представлен оригинальный методический и технический подход на базе низкочастотного спин-эхо ЯМР для неинвазивного и непрерывного исследования водного переноса в корнях интактных растений при действии повышенной концентрации CO_2 . Для реализации данного подхода была разработана и изготовлена портативная камера роста растений, имеющая возможность сопряжения с ЯМР установкой и газовой системой. Исследование интенсивности межклеточного водного переноса производилось на основе измерения коэффициента самодиффузии воды в тканях корня. Для этого был использован метод спин-эхо ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля. С помощью метода, представленного в данной работе, было показано, что водная проницаемость клеток в радиальном направлении всасывающей зоны корня уменьшается приблизительно в 1,5 раза при повышении уровня CO_2 до максимального значения в 1%. Впервые получена динамика изменения водной проводимости в корнях в зависимости от концентрации CO_2 , которая показывает, что величина и скорость снижения водного переноса возрастают с увеличением концентрации CO_2 . Предполагается, что трансмембранный путь переноса воды через аквапорины вносит значительный вклад в суммарное снижение межклеточной водной проводимости в тканях корня в ответ на повышение концентрации CO_2 .

Ключевые слова: углекислый газ, транспорт воды в корнях растений, ядерный магнитный резонанс.

Известно, что повышение концентрации углекислого газа в окружающей среде может оказывать положительное влияние на различные физиологические процессы в некоторых растениях [1, 2]. В частности, повышение концентрации CO_2 может приводить к увеличению скорости фотосинтеза, увеличению скорости роста корней и побегов растений, увеличению эффективности использования воды, а также к частичному нивелированию различных стрессовых воздействий, например, засухи, засоления почвы, дефицита питания [3-5]. В связи с этим, поиск механизмов увеличения продуктивности и устойчивости растений в ответ на повышение уровня CO_2 является перспективной задачей и не перестает вызывать интерес исследователей. В условиях антропогенного увеличения концентрации CO_2 в атмосфере Земли исследования в этой области приобретают ещё большую актуальность.

Подавляющая часть исследований реакции растений на повышение CO_2 посвящена физиологическим процессам, происходящим в наземной части растений, в основном в листьях, например, фотосинтез, устьичная проводимость, гидравлическая проводимость листьев [6]. При этом информация относительно реакции корневой системы, в частности, регуляции водной проводимости в корнях, особенно на клеточном и молекулярном уровнях, ограничена [5]. Растения поглощают воду и растворённые в ней питательные вещества с помощью корневой системы, а регуляция проводимости корней является одним из факторов эффективного использования воды и повышения продуктивности. Экспериментальные исследования последних лет показывают значительное влияние повышенной концентрации CO_2 на гидравлику растений и использование ими воды [7]. Очевидно, что перечисленные выше эффекты влияния повышенной концентрации CO_2 , в частности, увеличение эффективности использования воды и повышение устойчивости к водному стрессу, косвенно или напрямую связаны с регуляцией транспорта воды в корнях.

В большинстве исследований, в основном долгосрочных, было показано, что гидравлическая проводимость корней уменьшается в ответ на воздействие повышенного CO_2 . Это частично связывается с изменением структуры эндо- и экзодермиса корней, сопровождающимся накоплением суберина и увеличением сопротивления водному потоку [8]. В целом информация о влиянии повышенной концентрации CO_2 на водную проводимость в корнях растений ограничена [9, 10]. Остаётся много нерешённых вопросов относительно процесса регуляции водообмена в корнях растений в ответ на повышение концентрации CO_2 . В частности, отсутствуют данные о динамике изменения водного переноса в корнях. Неясно, какие изменения происходят в апопластном и трансклеточном путях водного переноса и в функциональной активности аквапоринов корневых клеток. Также отмечается важность и в то же время недостаток исследований о координации процессов, происходящих в листовой и корневой зонах растения в ответ на повышение концентрации CO_2 [7, 11].

Ограниченное количество исследований о реакции системы транспорта воды в корнях растений в ответ на повышение концентрации углекислого газа, связано, прежде всего, с экспериментальными сложностями их реализации, тем более в условиях *in vivo*. На сегодняшний день самый распространённый метод исследования водного переноса в корнях основан на измерении интегрального коэффициента гидравлической проводимости [8]. Для этого проводится процедура отсечения корня и затем, с помощью камеры давления или прижимного

аппарата, к корневой системе прикладывается избыточное давление и производится сбор корневого экссудата из места среза [8, 12, 13]. Похожий способ, но без отсечения всего корня, а лишь нижнего бокового ответвления от стебля, использован в работе [14]. Несмотря на популярность, данный метод обладает рядом ограничений и недостатков. Во-первых, процедура отсечения корня приводит к нарушению целостности растения. При этом следует обратить внимание на то, что раневой стресс в отдельности приводит к снижению интенсивности водного переноса в корнях [15, 16]. Во-вторых, применение данного метода, как самостоятельного, не позволяет разделить вклады различных путей водного переноса в корне, а также исследовать динамику изменения гидравлической проводимости при одновременном действии на растения нескольких различных факторов, в том числе повышенной концентрации CO_2 .

В настоящей работе представлен оригинальный методический и технический подход на базе низкочастотного ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля, позволяющий неинвазивно и непрерывно регистрировать параметры диффузионного транспорта воды и оценивать межклеточную водную проницаемость в корнях интактных растений непосредственно при контролируемом изменении концентрации углекислого газа в окружающей среде растений.

1. Камера роста растений, сопряжённая с ЯМР-диффузометром.

Для неинвазивного и непрерывного измерения ЯМР параметров водного переноса в корнях интактных растений непосредственно в условиях повышенной концентрации CO_2 было разработано и изготовлено две идентичные переносные камеры роста, имеющие возможность сопряжения с ЯМР установкой (рис. 1, а). Камеры имеют кубическую форму и объём 60 литров. Каждая камера состоит из двух отдельных частей – нижней пластины (основания), к которой крепится ампула с растениями и верхней части – купола. Первая камера (контрольная камера) предназначена для выращивания растений в условиях нормальной концентрации CO_2 ($\approx 0,04\%$), вторая камера – для выращивания при повышенных концентрациях CO_2 . Для исследования реакции системы транспорта воды в корнях растений в ответ на резкое повышение CO_2 вполне можно обойтись и одной камерой с одним образцом, однако для большей достоверности и качественного сравнительного анализа в долгосрочных экспериментах, необходимо иметь дополнительный контрольный образец. Для изготовления камер использовали оргстекло толщиной 6 мм. Камеры оснащены лампами освещения, цифровыми датчиками температуры, влажности, атмосферного давления (BME280, Bosch), концентрации CO_2 (MH-Z19B, WINSSEN), а также небольшими вентиляторами для перемешивания воздуха. Для поддержания нормального уровня CO_2 в контрольную камеру непрерывно поступал поток воздуха с концентрацией CO_2 0,04%. Вторая камера, с помощью тонкой 3мм пневмотрубки и системы последовательно соединённых электрического пневмоклапана и редуктора, подсоединялась к баллону с чистым углекислым газом. Углекислый газ дозированно подавали через штуцер в верхней части камеры. Стоит отметить, что камеры не были полностью герметизированы в целях избежания накопления этилена, ингибирующего рост растений. Считывание показаний датчиков и управление электроклапанами подачи CO_2 осуществляли с помощью аппаратно-программной платформы Arduino Uno R3. Во время проведения ЯМР экспериментов одну из камер устанавливали на специальную платформу на магните, при этом корневая зона растений помещалась в ЯМР зонд. По необходимости камеру с растениями можно перенести или заменить на другую камеру, например, контрольную.

В качестве образца использовали растения кукурузы (*Zea mays* L.) сорта «Пионер». Проростки кукурузы выращивали гидропонным способом в 0,25 мМ растворе CaCl_2 (pH = 7) при температуре 25°C в течение 5 дней при 12-часовом фотопериоде (освещенность 15 Вт м⁻²) и относительной влажности 60%. Затем сорок растений с длиной корня около 15 см размещали в две пробирки, изготовленные специально для ЯМР-зонда и для камер роста (по двадцать растений в каждой пробирке) (рис. 1, б, в). После этого пробирки с растениями помещали в камеры (рис. 1, б). В течение двух суток до начала ЯМР экспериментов растения выращивали в камерах при нормальной концентрации CO_2 (0,04%), относительной влажности 60% и температуре 25°C. Через капилляр в нижней части пробирки (рис. 1, в) осуществляли аэрацию корневой зоны с помощью аквариумного компрессора. Для орошения корней через этот же капилляр периодически добавляли раствор CaCl_2 (0,25 мМ, pH = 7). Зона ЯМР измерений находилась на расстоянии 8 см от верхнего конца пробирки, на 2,5 см выше верхнего уровня раствора CaCl_2 в пробирке.

2. ЯМР-диффузометрия

В данной работе исследование интенсивности межклеточного водного переноса основано на измерении коэффициента самодиффузии воды в тканях корня. Для этого использован метод спин-эхо ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля. Данный метод широко применяется для исследования транспорта воды в биологических образцах, в том числе в растительных тканях [15-18]. Его преимуществом является неинвазивность, а также возможность разделения вкладов различных путей водного переноса в растительных тканях [19, 20]. В течение ЯМР эксперимента, используя трёхимпульсную последовательность стимулированного эха [21], регистрировали диффузионные затухания (ДЗ) сигнала спин-эхо (рис. 2). ДЗ представляет зависимость амплитуды сигнала стимулированного спинного эха (R) от параметров импульсной последовательности: g – амплитуда импульсов градиента магнитного поля, t_d – время диффузии как интервал между импульсами градиента магнитного поля, δ – длительность градиентных импульсов. Эта зависимость выражается как:

$$R = \exp(-\gamma^2 \delta^2 g^2 (t_d - \delta/3) D) \quad (1)$$

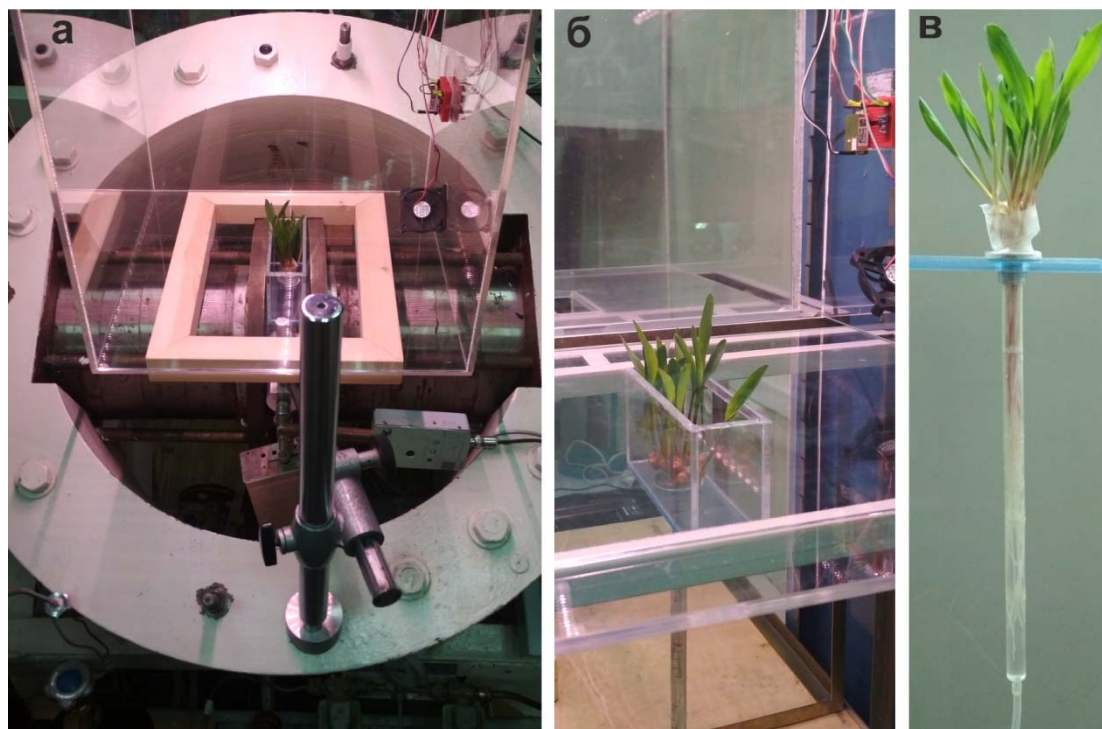


Рисунок 1. Техническая оснастка для неинвазивного исследования методом спинового эха ЯМР водного переноса в корнях интактных растений при действии повышенной концентрации углекислого газа: (а) – камера роста растений, установленная на ЯМР-диффузомер, готовая для проведения диффузионных измерений; (б) – фотография камеры роста с помещёнными в неё растениями кукурузы; (в) – пробирка с растениями, изготовленная специально под ЯМР-зонд и камеры роста

где R – относительная амплитуда сигнала спинового эха, которая равна отношению сигнала спин-эха в присутствии и отсутствии градиента магнитного поля $R = A(g)/A(0)$; γ – гиромагнитное отношение для протонов ($2.67 \cdot 10^8$ Тл $^{-1}$ с $^{-1}$); D – коэффициент само-диффузии воды. На графиках используется обобщённый параметр $b = \gamma^2 \delta^2 g^2 (t_d - \delta/3)$.

Известно, что зависимость коэффициента самодиффузии воды D от времени диффузии t_d в пористых системах, включая воду в биологических тканях, имеет S-образную форму с тремя характерными областями [16]: 1 – область свободной неограниченной диффузии большей части молекул воды, в которой коэффициент самодиффузии D_0 постоянен и близок к коэффициенту самодиффузии объёмной воды; 2 – область ограниченной диффузии, где усреднение локальных трансляционных движений молекул воды по большому объёму клеточного пространства не происходит; 3 – область затрудненной диффузии, которая характеризует межклеточную проницаемость. В этой области коэффициент самодиффузии воды D_∞ не зависит от t_d .

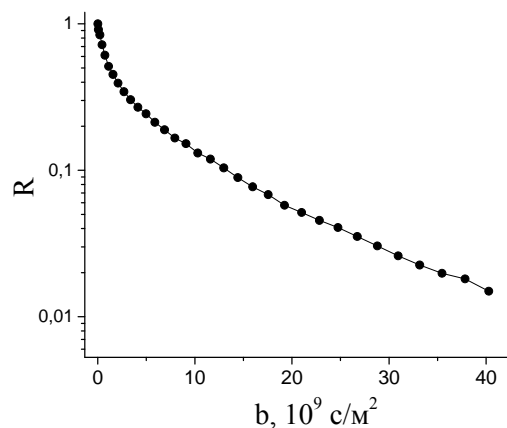


Рисунок 2. Диффузионное затухание амплитуды сигнала стимулированного спинового эха (R), полученное для радиального направления всасывающей зоны корней кукурузы в контрольных условиях при времени диффузии $t_d = 700$ мс и длительности градиентных импульсов $\delta = 400$ мс

При длительном фиксированном времени t_d (например, 700 мс для корней кукурузы) межклеточные барьеры (мембраны и клеточные стенки) существенно ограничивают подвижность молекул воды в клетке, поскольку расстояния, пройденные молекулами, становятся сопоставимыми с размером клеток [15, 16]. В результате измеренное значение D меньше, чем D объемной воды. Поэтому для количественной оценки диффузионного переноса воды в образцах используется средний эффективный коэффициент диффузии воды D_{ef} [22]. D_{ef} определяется путём аппроксимации начального участка ДЗ уравнением (1) при $g \rightarrow 0$. Важно отметить, что при длительных временах диффузии t_d изменение D_{ef} напрямую коррелирует с изменением водопроницаемости межклеточных барьеров, которые ограничивают диффузионный процесс [22-24].

В ряде случаев для получения большего временного разрешения изменения D_{ef} , после регистрации полного ДЗ (рис. 1) дальнейшее измерение амплитуды сигнала спин-эха производится только при двух точках градиента магнитного поля, которые укладываются на начальный участок ДЗ, что также позволяет провести аппроксимацию начального участка ДЗ прямой линией и вычислить D_{ef} . Для контроля корректности измерения D_{ef} по двум точкам в конце опыта снова проводится измерение полного ДЗ. Таким образом, можно получить динамику изменения коэффициента само-диффузии воды с большим временным разрешением, что потенциально позволяет отслеживать быстрые изменения в водном переносе в корневой системе.

Для количественной оценки среднего эффективного коэффициента межклеточной водной проницаемости P использовалось уравнение Крика [23]. Это соотношение получено из расчёта сопротивления переносу воды через ряд параллельных проницаемых барьеров, разделенных расстоянием a (размер клеток) [16]:

$$\frac{1}{D_{\infty}} = \frac{1}{D_0} + \frac{1}{Pa} \quad (2)$$

Более подробно метод определения характеристических размеров ограничений a для молекул воды в тканях корня описан и применён в недавней работе [16]. Поскольку межклеточный перенос воды в тканях растений происходит по параллельным путям (трансмембранный путь, главным образом, через аквапорины, и симпластный путь – через плазмодесмы), уравнение (2) позволяет определить общую эффективную проницаемость цитоплазматической мембраны и плазмодесм.

ЯМР эксперименты проводили при температуре 25°C на ^1H ЯМР-диффузомере, оснащённом цифровым приёмно-передающим устройством «Spin Track» (Resonance Systems Ltd., Йошкар-Ола, Россия), работающем на частоте 19 МГц. ДЗ были получены с фиксированными значениями $t_d = 700$ мс и $\delta = 400$ мкс. Импульсный градиент магнитного поля прикладывали в радиальном направлении всасывающей зоны корня и, соответственно, самодиффузию воды наблюдали в этом направлении.

3. Оценка вклада аквапорин-опосредованного радиального межклеточного транспорта воды в корнях кукурузы в ответ на повышение концентрации CO_2 .

Хлорид ртути HgCl_2 – общепринятый специфический ингибитор аквапоринов. Он широко используется для оценки вклада аквапоринов в транспорт воды в растениях [25-27]. Чтобы ингибировать перенос воды через аквапорины, корни интактных растений кукурузы инкубировали в течение 20 минут в 200 мкМ растворе HgCl_2 непосредственно во время эксперимента ЯМР и без извлечения образца из зонда ЯМР. ЯМР-эксперименты с ингибированием аквапоринов проводили двумя способами. В первом случае повышенный уровень CO_2 применяли к растениям с корнями, предварительно инкубированными в растворе HgCl_2 . Перед воздействием CO_2 было проведено измерение D_{ef} для проверки ингибирующего влияния HgCl_2 на перенос воды. Во втором случае корни растений инкубировали после повышенного воздействия CO_2 .

4. Оценка реакции симпластного пути водного переноса в корнях на повышение уровня CO_2 .

Для выделения симпластного пути (через плазмодесмы) из общего межклеточного переноса воды в радиальном направлении корней использовали метод парамагнитного допинга, а в качестве парамагнитного комплекса диэтилен-триаминпентаацетат (Gd-DTPA) [28]. Gd-DTPA представляет собой парамагнитный комплекс с высокой релаксивностью, который позволяет повысить контрастность изображений и используется в магнитно-резонансной томографии [29]. При инкубации корней интактных растений в растворе Gd-DTPA парамагнитные ионы вводятся в межклеточное пространство, но не проникают в клетки. Внеклеточные молекулы воды испытывают быструю магнитную релаксацию благодаря контакту с парамагнитными ионами, что приводит к быстрому релаксационному затуханию сигнала от внеклеточной воды. В результате молекулы воды в апопласте становятся «невидимыми» и не вносят вклад в ДЗ, в то время как внутриклеточные молекулы воды, движущиеся по симпластной системе и все еще имеющие более длительное время релаксации, остаются «видимыми» в ДЗ [16, 28]. В настоящей работе использовали водный раствор комплекса Gd-DTPA в концентрации 0,01 М с $\text{pH} = 7$. Корни интактных растений инкубировали в растворе Gd-DTPA в течение 2 часов непосредственно в камере при нахождении корней в ЯМР зонде. По изменению формы ДЗ производится контроль проникновения парамагнетика во внеклеточное пространство [28]. После достижения нужного эффекта от парамагнетика в камеру подаётся углекислый газ до нужной концентрации и происходит дальнейшая регистрация ДЗ.

В качестве результатов применения описанного в работе метода на рисунке 3 представлена динамика изменения среднего эффективного коэффициента самодиффузии воды в корнях кукурузы при двух значениях концентрации CO_2 (0,5% и 0,1%). В обоих случаях происходит снижение интенсивности межклеточного водного переноса со временем, причиной которого, скорее всего, является снижение общего тока воды в растении в связи

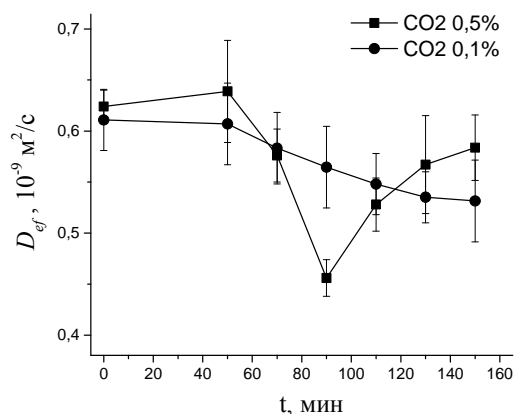


Рисунок 3. Динамика изменения среднего эффективного коэффициента самодиффузии воды во всасывающей зоне корней intactных растений кукурузы при повышении концентрации CO_2 в листовой зоне до 0,5 % и 0,1%

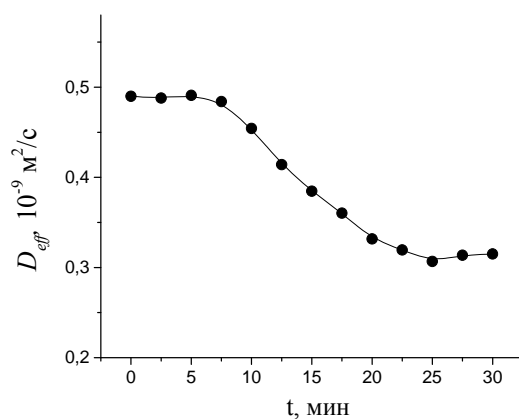


Рисунок 4. Динамика изменения среднего эффективного коэффициента самодиффузии воды во всасывающей зоне корней intactных растений кукурузы при повышении концентрации CO_2 в листовой зоне до 1%

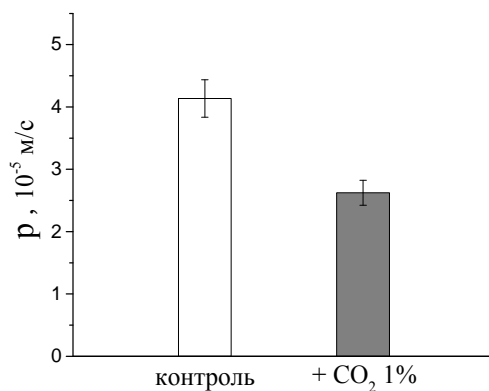


Рисунок 5. Суммарная межклеточная водная проницаемость в радиальном направлении всасывающей зоны корней intactных растений кукурузы в контроле (0,04% CO_2) и при повышении концентрации CO_2 в листовой зоне до 1%

с уменьшением устьичной проводимости и транспирации. Полученные результаты согласуются с общепринятыми литературными данными о снижении гидравлической проводимости корней в ответ на повышение CO_2 . На рисунке 4 отдельно представлена динамика изменения D_{eff} при максимальной концентрации CO_2 в 1% с временным разрешением в 2,5 минуты. В этом случае D_{eff} начинает снижаться уже через 5-7 минут после повышения CO_2 в камере и выходит на плато через 25-30 минут. По характеру кривых (рис. 3, 4) можно предположить, что амплитуда и скорость снижения D_{eff} зависит от концентрации углекислого газа. Интересно,

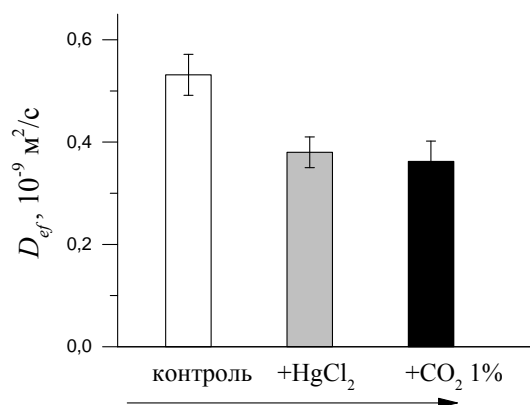


Рисунок 6. Средний эффективный коэффициент самодиффузии воды в клетках корней интактных растений кукурузы в контроле, после обработки этих же корней раствором хлорида ртути (HgCl₂ 200 мкМоль/л) и при последующем повышении концентрации CO₂ в листовой зоне до 1%

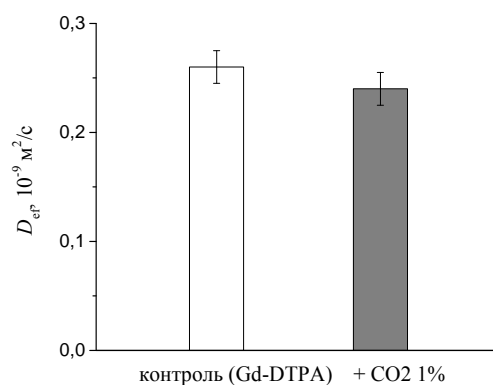


Рисунок 7. Влияние повышенной концентрации CO₂ на D_{ef} в корнях кукурузы с предварительно введённым во внеклеточное пространство корней парамагнитного комплекса Gd-DTPA

что при действии концентрации CO₂ в 0,5% через некоторое время наблюдается тенденция восстановления D_{ef} к значениям близким к начальным. Вычисленный коэффициент суммарной межклеточной водной проницаемости заметно снижается, приблизительно в 1,3-1,5 раза, при максимальной концентрации CO₂ в 1% (рис. 5).

После предварительной обработки корней ингибитором аквапоринов хлоридом ртути в концентрации 200 мкМоль/л повышение концентрации CO₂ не приводило к изменениям D_{ef} (рис. 6). Таким образом, ингибиторный анализ с использованием хлорида ртути, позволяет предположить, что значительный вклад в снижение суммарного межклеточного водообмена в корнях при повышении CO₂ вносит трансмембранный перенос воды через аквапорины. При этом не было зарегистрировано значительных изменений D_{ef} для симпластного переноса воды через плазмодесмы при действии CO₂ (рис. 7).

Таким образом, в данной работе продемонстрирован метод на базе низкопольного ЯМР, позволяющий неинвазивно исследовать динамику водного переноса в корнях растений, а также оценивать вклад путей водного переноса, при непосредственном действии на растения повышенной концентрации CO₂. Полученные впервые результаты по динамике интенсивности водного переноса могут быть полезны в исследовании скорости развития ответной реакции растений на повышение концентрации CO₂. В качестве недостатков использования метода можно отметить обязательное наличие и относительную дороговизну ЯМР оборудования. Однако второе можно оптимизировать используя более дешёвые портативные ЯМР- диффузомеры-релаксометры. Технически данный метод можно применять для исследования транспорта воды в корнях растений при действии CO₂ в сочетании с другими абиотическими факторами внешней среды, например, водный дефицит, солевой стресс, изменение газового состава атмосферы. Это может значительно расширить список исследовательских задач и дать новую информацию при исследовании механизмов адаптации водного режима в растениях к абиотическим факторам, а также при исследовании корреляции водо- и газообмена.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 19-04-00820 А.

Список литературы / References:

1. Qiao Y., Zhang H., Dong B., Shi Ch., Li Y., Zhai H., Liu M. Effects of elevated CO₂ concentration on growth and water use efficiency of winter wheat under two soil water regimes. *Agricultural Water Management*, 2010, vol. 97, pp. 1742-1748.
2. Prior S.A., Runion G.B., Marble S.Ch., Rogers H.H., Gilliam Ch.H., Torbert H.A. A review of elevated atmospheric CO₂ effects on plant growth and water relations: implications for horticulture. *Hort Science*, 2011, vol. 46, no. 2, pp. 158-162.
3. Jiang Y., Xu Z., Zhou G., Liu T. Elevated CO₂ can modify the response to a water status gradient in a steppe grass: from cell organelles to photosynthetic capacity to plant growth. *BMC Plant Biology*, 2016, vol. 16. DOI: 10.1186/s12870-016-0846-9.
4. Zaghdoud Ch., Mota-Cadenas C., Carvajal M., Muries B., Ferchichi A., Martínez-Ballesta M. Elevated CO₂ alleviates negative effects of salinity on broccoli (*Brassica oleracea* L. var *Italica*) plants by modulating water balance through aquaporins abundance. *Environmental and Experimental Botany*, 2013, vol. 95, pp.15-24.
5. Huang B., Xu Y. Cellular and molecular mechanisms for elevated CO₂ regulation of plant growth and stress adaptation. *Crop Science*, 2015, vol. 55, pp. 1-20.
6. Domec J.-C., Palmroth S., Ward E., Maier Ch., Therezien M., Oren R. Acclimation of leaf hydraulic conductance and stomatal conductance of *Pinus taeda* (loblolly pine) to long-term growth in elevated CO₂ (free-air CO₂ enrichment) and N-fertilization. *Plant, Cell and Environment*, 2009. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2009.02014.x.
7. Hao Guang-You, Holbrook N.M., Zwieniecki M.A., Gutschick V.P., Bassiri-Rad H. Coordinated responses of plant hydraulic architecture with the reduction of stomatal conductance under elevated CO₂ concentration. *Tree Physiology* OO, 2018, pp. 1-12.
8. Sarker B.C., Hara M. Effects of elevated CO₂ and water stress on root structure and hydraulic conductance of *Solanum melongena* L. *Bangladesh J. Bot.*, 2009, vol. 38, no. 1, pp. 55-63.
9. Leakey A.D.B., Ainsworth E.A., Bernacchi C.J., Rogers A., Long S.P., Ort D.R. Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany*, 2009, vol. 60, pp. 2859-2876.
10. Calvo O.C., Franzaring J., Schmid I., Fangmeier A. Root exudation of carbohydrates and cations from barley in response to drought and elevated CO₂. *Plant and Soil*, 2019, vol. 438, pp. 127-142.
11. Easlon H.M., Bloom A.J. The effects of rising atmospheric carbon dioxide on shoot-root nitrogen and water signaling. *Frontiers in Plant Science*, 2013, vol. 4. DOI: 10.3389/fpls.2013.00304.
12. Gorska A., Ye Q., Holbrook N.M., Zwieniecki M.A. Nitrate control of root hydraulic properties in plants: translating local information to whole plant response. *Plant Physiology*, 2008, pp. 1159-1167.
13. Gebauer T., Bassiri-Rad H. Effects of high atmospheric CO₂ concentration on root hydraulic conductivity of conifers depend on species identity and inorganic nitrogen source. *Environmental Pollution*, 2011, vol. 159, pp. 3455-3461.
14. Stirzaker R.J., Passioura J.B. The water relations of the root-soil interface. *Plant, Cell and Environment*, 1996, vol. 19, pp. 201-208.
15. Velikanov G.A., Sibgatullin T.A., Belova L.P., Ionenko I.F. Membrane water permeability of maize root cells under two levels of oxidative stress. *Protoplasma*, 2015, vol. 252, pp. 1263-1273.
16. Anisimov A.V., Dautova N.R., Suslov M.A. Growth function and intercellular water transfer in excised roots. *Protoplasma*, 2019. DOI: 10.1007/s00709-019-01388-w.
17. Cho C.H., Hong Y.S., Kang K., Volkov V.I., Skirda V., Lee C.Y., Lee C.H. Water self-diffusion in *Chlorella* sp. studied by pulse field gradient NMR. *Magn Reson Imaging*, 2003, vol. 21, pp. 1009-1017.
18. Van As.H. Intact plant MRI for the study of cell water relations, membrane permeability, cell-to-cell and long distance water transport. *Journal of Experimental Botany*, 2007, vol. 58, pp. 743-756.
19. Ishida N., Koizumi M., Kano H. The NMR microscope: a unique and promising tool for plant science. *Annual Botany*, 2000, vol. 86, pp. 259-278.
20. Anisimov A.V. Spin-echo NMR study of the translational water diffusion selectively along the apoplast and the cytoplasmic and vacuolar symplasts of plants. *Biophysics*, 2004, vol. 49, pp. 816-821.
21. Tanner J.E. Use of the stimulated echo in NMR diffusion studies. *Journal of Chemical Physics*, 1970, vol. 52, pp. 2523-2526.
22. Anisimov A.V., Sorokina N.Y., Dautova N.R. Water diffusion in biological porous systems: a NMR approach. *Magn Reson Imaging*, 1998, vol. 16, pp. 565-568.
23. Crick F. Diffusion in embryogenesis. *Nature*, 1970, vol. 225, pp. 420-422.
24. Cooper R.L., Chang D.B., Young A.C., Martin C.J., Ancker-Johnson B. Restricted diffusion in biophysical systems. *Biophysical Journal*, 1974, vol. 14, pp. 161-177.
25. Javot H., Maurel C. The role of aquaporins in root water uptake. *Annual Botany*, 2002, vol. 90, pp. 301-313.
26. Adiredjo A., Navaud O., Grieu Ph., Lamaze Th. Hydraulic conductivity and contribution of aquaporins to water uptake in roots of four sunflower genotypes. *Botanical Studies*, 2014, vol. 55. DOI: 10.1186/s40529-014-0075-1.
27. Sutka M., Li G., Boudet J., Boursiac Y., Doumas P., Maurel C. Natural variation of root hydraulics in *Arabidopsis* grown in normal and salt-stressed conditions. *Plant Physiology*, 2011, vol. 155, pp. 1264-1276.
28. Anisimov A.V., Suslov M.A., Alyab'ev A.Yu. Symplasmic transport of water along the root depends on pressure. *Russ. J. Plant. Physiol.*, 2014, vol. 61. DOI: 10.1134/S1021443714040025.

29. Carr D.H., Brown J., Bydder G.M., Steiner R.E., Weinmann H.J., Speck U., Hall A.S., Young I.R. Gadolinium-DTPA as a contrast agent in MRI: Initial clinical experience in 20 patients. *Am. J. Radiol.*, 1984, vol. 143, no. 2, pp. 215-224.

THE METHOD OF STUDYING THE DYNAMICS OF WATER CONDUCTIVITY IN THE ROOTS OF INTACT MAIZE PLANTS UNDER ELEVATED CONCENTRATION OF CARBON DIOXIDE

Suslov M.A.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences
Lobachevskogo str., 2/31, Kazan, 420111, Russia; e-mail: makscom87@mail.ru

Abstract. This work presents an original methodological and technical approach based on low-field spin-echo NMR for non-invasive and continuous study of water transfer in the roots of intact plants under impact of elevated concentration of carbon dioxide (CO₂). To realize this approach, portable plant growth chamber, that can be paired with an NMR system and a gas system, was made. The study of the intensity of intercellular water transfer was carried out on the basis of measuring of water self-diffusion coefficient in the root tissues. For this, the spin-echo NMR method with a pulsed magnetic field gradient was used. Using the method presented in the present work, it was shown that water permeability of cells in radial direction of root suction zone decreases by about 1.5 times with CO₂ enrichment to a maximum value of 1%. For the first time, the dynamics of changes in water conductivity in the roots depending on the concentration of CO₂ was obtained. It was shown that the magnitude and the rate of decreasing of water conductivity increase with CO₂ concentration enrichment. It is supposed, that transmembrane pathway of water transfer through aquaporins makes a significant contribution to the total decrease in the intercellular water conductivity in root tissues under elevated CO₂ concentration.

Key words: *carbon dioxide, water transport in plant roots, nuclear magnetic resonance.*