

**II МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ
«Регуляторы роста растений:
внутриклеточная гормональная
сигнализация и применение
в аграрном производстве»
(Киев, 8–12 октября 2007 г.)**



8–12 октября 2007 г. Институтом биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины совместно с Институтом ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины был проведен II Международный симпозиум «Регуляторы роста растений: внутриклеточная гормональная сигнализация и применение в аграрном производстве». В его работе приняли участие около 100 ученых, включая представителей Австрии, Великобритании, Беларуси, Бельгии, Германии, Греции, Испании, Италии, Казахстана, Китая, Молдовы, Нидерландов, России, США, Украины, Финляндии, Чешской Республики и Японии.

Программа симпозиума состояла из семи сессий, отражающих основные направления современных исследований фитогормональных сигнальных систем.

Со вступительным словом выступил председатель Организационного комитета директор Института биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины акад. В.П. Кухарь. С приветствием к участникам симпозиума обра-

тились также академик-секретарь Отделения общей биологии НАН Украины акад. НАН Украины Д.М. Гродзинский и директор Фонда фундаментальных исследований Украины проф. Б.Р. Кияк.

**История фитогормонологии – 125-летие
со дня рождения выдающегося ученого
академика Н.Г. Холодного**

22 июня 2007 г. биологи Украины и других стран мира отметили 125-летие со дня рождения академика Н.Г. Холодного – одного из основателей учения о фитогормонах, который уже в 20–30-х гг. прошлого столетия дал емкое определение самому понятию «гормон». Роль и достижения в науке всемирно известного ученого осветила в своем докладе чл.-кор. НАН Украины Л.И. Мусатенко. Основы науки о фитогормонах Н.Г. Холодный заложил, когда был известен только один гормон – ауксин. Но уже тогда он говорил о многогранности («поливалентности») действия указанного фитогормона – возможности опосредовать различные эффекты в зависимости от концентрации и мишени действия, высказывался о наличии большого разнообразия данных веществ, влияющих на различные процессы морфогенеза растений. В 1918 г. Н.Г. Холодный говорил о локализации синтеза и транспорте фитогормонов. Впервые ученым была показана возможность того, что фитогормоны не только стимулируют, но и блокируют рост растений. Им впервые продемонстрированы морфогенетические эффекты фитогормонов и высказана идея о влиянии комплекса фитогормонов на процессы цветения. Более того, Н.Г. Холодный считал, что синтетические аналоги фитогормонов могут быть широко применены в сельском хозяйстве.

**Сигнализация и механизмы
действия цитокининов**

Цитокинины – класс фитогормонов, которые были открыты в лаборатории Скуга (США) более 50 лет назад, однако только исследования последних лет ознаменовали значительный прогресс в понимании процессов метаболизма и сигнализации цитокининов.

Доклад Т. Шмюллинга (Tomas Schmölling), Германия, был посвящен анализу фенотипа мутантов, характеризующихся сниженным содержанием или заблокированной сигнализацией цитокининов, созданных для исследования

роли цитокининов в регуляции развития растений. Снижение содержания цитокининов в растениях достигалось путем усиления экспрессии гена фермента деградации цитокининов (СКХ, ЕС 1.5.99.12), тогда как блокада сигнализации — удалением генов рецепторов этих фитогормонов.

Фенотипические изменения в дефицитных по цитокинину побегах свидетельствуют о позитивном влиянии фитогормона на поддержку активности апикальных меристем, формирование примордиев листьев, на деление клеток последних и развитие сосудов побегов. Меристемы побегов у таких растений были более мелкими, свидетельствуя о ранней дифференциации тканей.

У дефицитных по цитокинину растений обнаружено усиление роста и ветвления корней. Одной из точек приложения действия цитокининов в корнях является регуляция выхода клеток из меристем, запаздывающего вследствие дефицита указанного фитогормона. Рецептор CRE1/АНК4 играет ключевую роль в регуляции размера семян, прорастания, процессах роста первичных корней, регенерации побегов *in vitro*, АНК3 — в сохранении хлорофилла, регуляции фотоморфогенеза, АНК2 и АНК3 — в формировании клеток листьев и ветвлении корней, тогда как АНК2, АНК3 и CRE1/АНК4 опосредуют регулируемые цитокинином процессы деэтиолирования, изменения метаболизма цитокининов, признаки пола растения, чувствительность прорастания семян к красному/далекому красному свету, а также регуляцию времени прорастания.

У дефицитных по цитокинину листьях арабидопсиса фотосинтетическая активность существенно не изменялась. Однако импорт и утилизация фотоассимилятов существенно снижались. Блокировался также клеточный цикл ввиду нивелирования перехода G2/M. Меристемы побегов были более мелкими, свидетельствуя о ранней дифференциации тканей. Зарегистрирован летальный фенотип при экспрессии *STM::AtCKX3*.

В своем докладе Т. Шмуллинга также обсуждал проблему перспективного использования мутантов по генам СКХ и рецепторов цитокининов в биотехнологии. Согласно результатам его наблюдений за фенотипом мутантов по

трем рецепторам цитокининов размер семян существенно увеличился.

В докладе Т. Шмуллинга также были представлены успехи текущих исследований связи сигнальной системы цитокининов с геномом/протеомом арабидопсиса. К ранее известным 68 различным белок-белковым взаимодействиям в двухкомпонентной системе трансдукции сигнала цитокинина у арабидопсиса благодаря исследованиям его группы было добавлено 140 новых элементов.

Для более детального изучения свойств рецепторов цитокининов Г.А. Романов и др. (Россия) использовали в качестве модельной системы трансгенные бактерии, экспрессирующие гены отдельных рецепторов цитокининов. Бактерии, трансформированные *CRE1/АНК4* или *АНК3*, приобретали способность специфически связывать цитокинины в отличие от других фитогормонов и негормональных соединений. В докладе Г.А. Романова и др. были представлены важные характеристики процесса связывания цитокининов рецепторами. Константа аффинности связывания *транс*-зеатина с АНК согласуется с концентрациями цитокининов у растений. Любая химическая модификация *транс*-зеатина ослабляла связывание с рецепторами. В процессе связывания лиганда наряду с другими типами химических взаимодействий необходимы водородные связи. Производное фенилмочевины тидиазурон, отличающееся по структуре от обычных цитокининов, связывается с тем же участком молекулы рецептора АНК, что и *транс*-зеатин — производное аденина. Рибозиды цитокининов и *цис*-зеатин также связываются с рецепторами. Связывание цитокининов с АНК является обратимым, особенно в случае АНК4. Более того, указанные рецепторы также различаются по биохимическим свойствам (в зависимости от рН и концентрации солей — в случае АНК3) и, возможно, по локализации в клетке. Рецепторы CRE1/АНК4 и АНК3 различаются по специфичности связывания цитокининов. Эти различия обеспечивают координацию обмена информацией между наземными и подземными частями растения, обеспечивая поддержку целостности растительного организма.

Гомеостаз цитокининов обеспечивают различные ферменты биосинтеза и инактивации.

Согласно исследованиям, проведенным на мутантах риса *log* группой Х. Сакакибары (Н. Sakakibara), Япония, активация цитокининов может быть опосредована LOG, специфичной к цитокининам фосфорибогидролазы, которая катализирует реакцию превращения нуклеотидов цитокининов в биологически активные свободные основания. Дефекты в поддержке активности меристем побегов были обнаружены у мутантов *log*. Обнаружено, что в геномах риса и арабидопсиса присутствуют соответственно 11 и 9 генов *LOG*. Наличие цитокининов в ксилеме и флоэме, а также результаты исследования двойного нокаутированного мутанта *sup735a1/a2* свидетельствуют о том, что *трансеатин*, транспортирующийся из корней в побеги по ксилеме, играет важную роль в нормальном развитии последних.

Одним из путей инактивации цитокининов является окислительное отщепление изопреноидной боковой цепи, катализируемое цитокинин дегидрогеназой, ферментом, содержащим ковалентно связанный кофактор ФАД, с образованием аденина (аденозина) и соответствующего ненасыщенного альдегида. У высших растений СКХ кодируются немногочисленными семействами генов с разным количеством представителей. И. Фреборт и др. (I. Frébort et al.), Чешская республика, исследовали ферментативные свойства и локализацию в клетке семи изоферментов СКХ *Arabidopsis thaliana*. Было показано, что ферменты AtСКХ2, AtСКХ4, AtСКХ5 и AtСКХ6 регулируют уровень цитокининов в апопласте, преимущественно расщепляя свободные основания цитокининов. Различные изоферменты СКХ арабидопсиса отвечают за инактивацию различных цитокининов в цитозоле, вакуолях и апопласте. Однако как продукты активности СКХ, так и сама активность указанного фермента были зарегистрированы в хлоропластах табака и пшеницы. СКХ3 ячменя считается белком митохондрий.

Физиологический эффект цитокининов зависит от их концентраций. По свидетельству Ф. Ло Шиаво и др. (Lo Schiavo F. et al.), Италия, высокие уровни цитокининов, особенно бензилладенина (БА), приводят к запрограммированной гибели клеток растений. В частности БА, применяемый в концентрациях 13 и 27 мкМ,

усиливает клеточную гибель в культурах клеток моркови, арабидопсиса и *Lotus japonicus* в зависимости от времени действия и стадии роста клеток. Авторами зарегистрирована конденсация хроматина и высвобождение цитохрома *c* в цитоплазму. Высокие концентрации БА ускоряют пожелтение листьев и расщепление ДНК у арабидопсиса и моркови. Высокие уровни БА индуцируют запрограммированную гибель клеток растений путем ускорения старения культур клеток и интактных растений арабидопсиса. Для выявления сигнальных посредников обусловленного цитокинином апоптоза в суспензиях клеток *Arabidopsis* Ф. Ло Шиаво и др. исследовали роль оксида азота (NO) в данном процессе. Было обнаружено, что БА индуцирует синтез NO в корнях и клетках арабидопсиса в зависимости от дозы действия.

М.К. Гилманов (Казахстан) предложил схему сигнального пути цитокинина, предусматривающую стимуляцию синтеза в клетках 14–3–3 белков, обладающих способностью связываться с Ca^{2+} -АТФазой плазматических мембран и вызывать повышение уровня кальция в цитозоле.

Взаимодействие фитогормонов

Вот уже в течение многих десятилетий ауксины считаются одними из важных гормонов растений. На данный момент имеется детальная картина начальных этапов сигнализации ауксина. Доклад Р. Нэпьера (R. Napier), Великобритания, был посвящен механизмам связывания ауксинов рецепторами TIR1 и AWP1, Р. Нэпьером обсуждались перспективы создания биосенсоров ауксина, которые могут быть качественно и широко использованы *in vivo*. В докладе Р. Нэпьера были подытожены методы, используемые для оценки концентраций ауксинов в тканях растений, генетические репортеры, методы иммунологического анализа и масс-спектрометрии, причем именно последний метод, по мнению докладчика, является наиболее эффективным в подобных исследованиях.

Ауксин-связывающий белок 1 – AWP1 – был обнаружен много лет назад по способности связывать ауксин. AWP1 принимает участие в регуляции начальных этапов реакции клеток на действие ауксина, включая зависимость от

дозы указанного фитогормона активацию и деактивацию ионных каналов (для K^+ , анионов) и транспортеров (H^+ -АТФаза). АВР1 играет ключевую роль на ранних этапах эмбриогенеза. В целях дальнейшего исследования роли АВР1 группа К. Перро-Реченманн (С. Perrot-Rechenmann), Франция, осуществила нокадаун АВР1 в культуре клеток табака ВУ2. В результате было показано, что АВР1 может принимать участие в регуляции клеточного цикла в точках G1/S и G2/M, опосредуя, таким образом, действие ауксина. При инактивации АВР1 были также обнаружены существенные дефекты роста и развития растений, среди которых обращал на себя внимание процесс угнетения роста корней.

Закладка меристем корней впервые осуществляется у развивающихся зародышей в процессе специализации гипофизы — источника клеток-предшественниц, из которых формируются корневая чехлик, эпидерма, кора и другие ткани корня. Специализация клеток гипофизы контролируется фактором транскрипции ответа на ауксин (ARF) MONOPTEROS (MP) и ингибитором последнего IAA12/BODENLOS. Исследователи лаборатории Д. Вейерса (D. Weijers), Нидерланды, обнаружили, что MP функционирует в небольшой группе клеток, соседствующей с будущей гипофизой. На момент специализации последней связь между данными клетками и клетками гипофизы осуществляется благодаря специфическим сигналам. Считается, что ауксин сам по себе и является сигналом подобного рода, поскольку MP контролирует обеспечиваемый PIN1 транспорт фитогормона в клетки гипофизы. Однако накопления собственно ауксина недостаточно для специализации гипофизы.

Цитокинины способствуют дифференциации клеток флоэмы в период развития сосудов корней арабидопсиса путем блокады дифференциации клеток протоксилемы. Развитие клеток последней контролируется локальным угнетением сигнализации цитокининов посредством АНР6, белка псевдопереноса фосфата, блокирующего каскад передачи последнего, принимающего участие в сигнализации цитокинина. Ген *АНР6* специфически экспрессируется в клетках протоксилемы. Сигнализация цитокинина блокируется в тех органах

растений, в которых экспрессируется *АНР6*. Цитокинин предотвращает экспрессию названного гена, усиливая развитие протоксилемы. А. Компило (А. Compilho) из лаборатории проф. Ю. Хелариутта (Y. Helariutta), Финляндия, в своем докладе представила анализ новых мутантов, функциональная и молекулярная характеристика которых даст возможность обнаружить основные генетические механизмы, лежащие в основе процесса развития сосудов растений.

У растений, часто подвергаемых ранению, наблюдается торможение роста и повышение устойчивости к вредителям, что связано с накоплением жасмоновой кислоты. Более того, жасмоновая кислота перепрограммирует транскрипцию генов. Актуальной проблемой исследований механизмов действия жасмонатов на метаболизм клеток растений является выяснение клеточных событий на этапе, предшествующем изменению экспрессии генов ответа на фитогормоны. Несомненным прогрессом считается обнаружение мутантов ключевых участников регуляторного пути, связывающего восприятие ранения и реакцию клеток на названный стресс. Согласно Дж. Тарнеру (J. Turner), Великобритания, новый класс белков семейства JAZ связывает пути восприятия жасмоновой кислоты и последующее перепрограммирование метаболизма клеток. Белок JAZ блокирует транскрипцию генов ответа на жасмоновую кислоту.

Развитие растений и их реакция на действие стрессов регулируются сложным комплексом путей передачи сигналов, опосредующих специфическую реакцию на действие различных типов экзогенных и эндогенных сигналов. Жасмоновая кислота принимает участие в реакциях на стресс, действуя в качестве ингибитора роста. Текущие исследования сигнализации жасмоновой кислоты позволили зарегистрировать новые узловые пункты клеточных событий на уровне транскрипции, регулирующие различные реакции растений на действие эндогенных и экзогенных стимулов. А. Девото (А. Devoto), Великобритания, обсуждала важные компоненты путей взаимодействия жасмоновой кислоты с другими сигнальными каскадами, активирующимися под действием стрессов и защитных реакций растений. Исследования фенотипа му-

тантов по генам биосинтеза жасмоновой кислоты были преимущественно сконцентрированы на индуцируемой указанным фитогормоном экспрессии генов и защитных реакциях клеток. А. Девото представила результаты анализа механизмов влияния стрессовых реакций на процессы роста растений. Жасмоновая кислота блокирует клеточный цикл у табака в точках G1/S и G2/M. Это позволило автору утверждать, что жасмоновая кислота является сигналом бедствия, физиологическая роль которого — блокада клеточного цикла и торможение вегетативного роста при защитных реакциях.

Роль MAP-киназ (МКК) в клетках растений рассматривалась в докладе А. Питчке и Х. Хирта (А. Pitzschke, Н. Hirt), Австрия. Исследователи показали, что MAP-киназа арабидопсиса МКК2 принимает участие в реакциях клеток растений на действие абиотического стресса (солевого и холодого). Представленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что МЕКК1 является предшествующим активатором модуля сигнальных ферментов МКК2-МРК4/МРК6 и молекулярных мишеней последнего. Установлено, что МКК2 взаимодействует с МРК4 и МРК6, обуславливая активацию *in vivo* последних в зависимости от МКК1. Таким образом, последовательность событий трансдукции внутриклеточного сигнала на уровне MAP-киназ под действием холодого или солевого стрессов может быть смоделирована следующим образом: рецептор → МЕКК1-МКК2-МРК4/6 → реакция генов ответа на стресс. Анализ транскриптома у растений с конститутивно активной МКК2 (МКК2-ЕЕ) засвидетельствовал факт изменения характера экспрессии генов под влиянием абиотического и биотического стрессов, включая повышение уровня экспрессии генов ферментов биосинтеза этилена и жасмоновой кислоты. У растений МКК2-ЕЕ обнаружено аккумулялирование жасмоновой и салициловой кислот при инфицировании *P. syringae*, что свидетельствует в пользу участия МКК2 в регуляции уровня фитогормонов в ответ на действие вредителя.

Сигнализация брассиностероидов

Брассиностероиды являются уникальным классом полигидроксистероидов, необходи-

мых для нормального роста и развития растений. Обнаружение изменения экспрессии генов в ответ на действие брассиностероидов, а также идентификация рецептора последних засвидетельствовали, что брассиностероиды действительно являются гормонами растений. Генетические подходы и создание мутантов арабидопсиса по генам синтеза и чувствительности к указанному классу фитогормонов позволили достичь значительного прорыва в изучении механизмов действия брассиностероидов. У мутантов арабидопсиса, дефектных по генам ферментов метаболизма и сигнализации брассиностероидов, зарегистрированы различные нарушения важных физиологических параметров, такие как карликовость, дефекты фотоморфогенеза и выражения пола растений, аномальная дифференциация сосудов и более позднее зацветание.

В докладе В.А. Хрипача (Белоруссия) были представлены результаты, свидетельствующие о том, что физиологическим эффектом нового класса гормонов является способность стимулировать рост и развитие растений. Одним из многообещающих направлений исследований указанных фитогормонов является применение генетических подходов к изучению участия брассиностероидов в процессах фотоморфогенеза. Проведенные В.А. Хрипачем и В.Н. Жабински исследования влияния брассиностероидов на баланс фитогормонов в процессе фотоморфогенеза арабидопсиса и созданных на основе этого растения мутантов по генам фоторецепторов засвидетельствовали факт взаимодействия реакций клеток, опосредованных последними, с механизмом действия изучаемых фитогормонов.

Результаты генетических и биохимических исследований последних лет засвидетельствовали возможность линейной трансдукции сигнала брассиностероидов в клетках. Передача информации фитогормонов обеспечивается двумя рецепторными киназами на поверхности клеток (BRI1 и BAK1), сходными с GSK3 киназой BIN2, а также двумя субстратами BIN2 — BZR1 и BES1, способными в дефосфорилированном состоянии прямо связываться с ДНК, регулируя экспрессию генов. Дж. Ли (США) подытожил результаты текущих исследований сигнального пути и обсудил возможный регу-

ляторный механизм реакции GSK3 в ответ на стимуляцию двух рецепторных киназ, а также возможную роль двух семейств белков типа спираль — петля — спираль в трансдукции сигнала brassиностероидов.

Предполагается, что в отсутствие brassиностероидов с неактивным димером рецептора последних BRI1 взаимодействует белок BKI1, предотвращая связывание рецептора с BAK1 и другими субстратами BRI1, а также блокируя передачу сигнала с плазматической мембраны. В данных условиях активна серин/треониновая киназа BIN2, фосфорилирующая по остатку серина и треонина BES1 и BZR1. Она обуславливает расщепление упомянутых белков протеасомой в цитозоле и блокирует связывание последних с ДНК в ядре. Связывание brassиностероида с внеклеточным доменом BRI1 приводит к автофосфорилированию рецептора, конформационным изменениям киназного внутриклеточного домена последнего и снятию авто-ингибиторного эффекта С-концевой части киназы, диссоциации BKI1 с плазматической мембраны, связыванию с BRI1 белков BAK1, TTL и TRIP1. В результате снижается активность BIN2 путем, возможно, изменения внутриклеточной локализации последнего. В связи с этим повышается стабильность нефосфорилированных BES1 и BZR1, которые перемещаются в ядро клетки и вместе с дефосфорилированными ядерной протеинфосфатазой BSU1 партнерами действуют в качестве факторов транскрипции генов ответа на brassиностероиды.

Существуют предположения, что brassиностероиды могут принимать участие в передаче сигнала света. Биосинтез и инактивация brassиностероидов, а также реакции ответа растений на действие последних происходят под контролем рецепторов красного (фитохромов) и голубого (криптохромов) света. Однако мало известно об участии brassиностероидов в механизме передачи светового сигнала. Сказанное особенно касается малоисследованных первичных реакций клеток на действие зеленого света. С целью исследования роли brassиностероидов в трансдукции сигнала зеленого света М.В. Ефимова с коллегами (Россия) в содружестве с лабораторией В.А. Хрипача (Бело-

руссия) использовали трансгенные растения *hy4* (мутированный ген криптохрома) и *det2* (нарушенный биосинтез brassинолида). Авторами было показано, что гипокотили этиолированных проростков растений *hy4* и *det2* оказались существенно короче, чем у растений дикого типа. Однако размер семядолей у первого мутанта был значительно меньше, чем у второго. В темноте под влиянием brassиностероидов гипокотили и корни растений *hy4* были короче, тогда как у растений *det2* усиливался рост осевых органов. Кратковременное воздействие зеленого света на проростки арабидопсиса обуславливало эффекты, аналогичные возникшим в результате влияния brassиностероидов. Результаты исследований свидетельствуют в пользу участия brassиностероидов в механизме действия зеленого света в проростках арабидопсиса как альтернативных посредников.

Липидная сигнализация

Особенностью симпозиума был особый интерес к анализу роли липидов в фитогормональной сигнализации. Клеточные мембраны являются начальным и центральным пунктом восприятия стимулов и формирования вторичных посредников. В докладе Х. Ванга (США) был приведен детальный анализ результатов исследования роли фосфолипаз и одного из продуктов этих ферментов, фосфатидной кислоты, в гормональной сигнализации. Фосфатидная кислота (ФК), простейший фосфолипид мембран и центральный посредник метаболизма глицеролипидов, рассматривается в качестве важного липидного медиатора разных клеточных процессов. Действие ФК проявляется в процессах сигнализации фитогормонов по мере роста и развития растений, а также в реакции на биотические и абиотические стрессы. Механизм действия ФК разнообразен и включает в себя связывание с компонентами мембран, прямую модуляцию активности ферментов, изменяя интенсивность и направленность метаболизма клеток. Фосфолипаза Д (ФЛД) является важным семейством ферментов, образующих ФК. Изоферменты ФЛД отличаются специфическими регуляторными свойствами. Результаты текущих исследований Х. Ванга и др. дают возмож-

ность построить модель механизмов участия ФЛД и ФК в реакциях на действие гормонов и стресса. Ими показана роль ФЛД α 1 в опосредованной АБК регуляции устьиц клеток растений.

Сигнальная роль липидов заключается в изменениях динамики метаболизма указанных соединений под влиянием стимулов внешней среды и последующего влияния на активность регуляторных ферментов. Фитогормоны влияют не только на расщепление фосфолипидов мембран с образованием сигнальных молекул, но и на биосинтез липидов. Исследователи в лаборатории Дж. Л. Харвуд (J.L. Harwood), Великобритания, зарегистрировали изменения метаболизма фосфолипидов под влиянием гиббереллина и особенно ауксина. Динамика роста стеблей соответствовала существенным изменениям метаболизма липидов, в частности фосфатидилхолина. Удлинение сегментов стеблей гороха было связано с увеличением эндогенных уровней фосфатидилхолина. Среди ферментов метаболизма последнего существенно изменялась активность холинкиназы и холинфосфатцитидилтрансферазы. Очищены оба фермента и изолирована их кДНК. Результаты исследований Дж. Л. Харвуда и др. свидетельствуют о том, что холинфосфатцитидилтрансфераза играет наиболее важную роль в процессе регуляции биосинтеза фосфатидилхолина в ответ на действие ауксина. Хотя ауксин повышает активность холинкиназы, активность меченного по [14 C] холина фосфатидилхолина снижалась на фоне снижения активности цитидилтрансферазы. Ауксин существенно усиливает биосинтез фосфатидилхолина и повышает уровень экспрессии гена холинфосфатцитидилтрансферазы, но снижает количество этого фермента в цитозоле. Таким образом, холинфосфатцитидилтрансфераза играет важную роль в обусловленных ауксином изменениях метаболизма фосфатидилхолина.

Роли фосфолипаз как ключевых звеньев в реализации действия фитогормонов на метаболизм клеток растений был посвящен доклад В.С. Кравца (Украина). Им были представлены результаты совместных исследований, проведенных с Г.А. Романовым (Россия), Я. Мартинец и И. Махачковой (J. Martinec and I. Machackova), Чешская республика, влияния

цитокининов на активность фосфолипаз С и D (ФИ-ФЛС и ФЛД). Применение мечения фосфолипидов клеток *in vivo* с помощью [33 Ф]-ортофосфата выявило активацию фосфолипаз при действии на ткани растений цитокининов. Об активации фосфолипаз фитогормонами свидетельствовало накопление фосфатидной кислоты, а также фосфатидилбутанола (в исследованиях реакции трансфосфатидилирования). В докладе были впервые представлены оригинальные результаты активации фосфолипазы D клеток меристемы при действии фитогормонов. Анализируя механизм реализации действия ФИ-ФЛС и ФЛД в клетках растений, докладчик представил схему, согласно которой основная роль в реализации действия указанных ферментов принадлежит фосфатидной кислоте. Изученные фосфолипазы функционируют в сигнальных каскадах в тесном взаимодействии с другими ферментами сигнализации липидов, в первую очередь фосфатидилинозитолкиназами и фосфатазами.

На симпозиуме были также представлены результаты совместных исследований влияния ФК на мембранный транспорт ионов Ca^{2+} , Mg^{2+} и H^+ в плазматических и внутриклеточных мембранах корней и coleoptилей кукурузы, выполненные в лабораториях С. Медведева, (Россия) и Я. Мартинеца (O. Martinec), Чешская республика. Наиболее существенный эффект был зарегистрирован для ФК, в состав которой входили два остатка олеиновой кислоты, тогда как ФК с двумя остатками пальмитиновой кислоты являлась слабым ионофором. ФК осуществляла транспорт кальция через мембраны преимущественно в щелочных условиях. Более того, ФК является неспецифическим ионофором, поскольку транспортирует не только Ca^{2+} , но и Mg^{2+} .

Липоксигеназы — ферменты, превращающие полиненасыщенные жирные кислоты в их гидроперекиси, известные как оксипирины, принимающие участие в реакциях растений на действие биотического и абиотического стрессов. Результаты исследований влияния ФК на активность 9-ЛОГ были представлены в докладе Т.Д. Скатерной и О.В. Харченко (Украина), где показано, что анионные фосфолипиды, включая фосфатидную кислоту, способны изменять активность 9-ЛОГ.

Сигнальные каскады

Каскады митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) являются важными и эволюционно консервативными механизмами регуляции, контролирующими различные этапы передачи сигналов гормонов и стресса у растений. Существует много проблем в понимании специфичности функционирования МАР-киназ МРК, МТК и МКК в реакциях клеток растений на действие гормонов, стресса и вредителей. Для того чтобы проанализировать динамику функционирования каскадов МАРК, в лаборатории Дж. Шин (J. Sheen), США, создали базы данных генов МАРК, регулируемых МКК, МТК, МРК, и осуществили скрининг последних у *Arabidopsis*. Установлено, что сигнализация каскада МАРК аналогична в культурах клеток клетках и интактных растениях арабидопсиса. Исследованы гены 20 МРК, 10 МКК и 68 гипотетических МТК в целях установления роли и связей в каскаде МАРК.

В исследованиях М. Дж. Маркоте (M.J. Marcote), Испания, зарегистрировано чувствительное к циклогексимиду повышение активности МААР-киназ подгруппы С1 AtMPK1/AtMPK2 в ответ на действие ранения и жасмоновой кислоты. Другие сигналы стресса, такие как абсцизовая кислота и пероксид водорода, также активируют AtMPK1/2. У гороха было изолировано полную кДНК *PsMAPK2* – МАР-киназы подгруппы С1. Изучена регуляция активности продукта упомянутого гена в ответ на действие различных сигналов стресса. Полученные результаты засвидетельствовали аналогию функций МАРК подгруппы С1 в различных видах растений.

Нормальный рост и развитие растений зависят от типа компетентной ткани и специальных внутриклеточных компонентов белкового комплекса транспорта мембран клеток растений. Внимание исследователей Ф. Аниенто и др. (Испания) было сконцентрировано на изучении белков семейства p24, представляющих собой семейство потенциальных рецепторов белков, которые задействованы в ранних секреторных механизмах.

Роли микротрубочек (МТ) в регуляции различных процессов морфогенеза и развития растений был посвящен доклад Я.А. Шеремет,

А.И. Емец, Я.Б. Блюма (Украина). У высших растений α - и β -тубулины существенно регулируются пост-трансляционными модификациями, включая фосфорилирование по серину/треонину и тирозину. Впервые показано, что ингибиторы тирозиновых протеинкиназ дизориентировали и разрушали микротрубочки, изменяя рост и развитие корневых волосков. Представленные результаты свидетельствуют о том, что фосфорилирование/дефосфорилирование тубулина может принимать участие в механизмах регуляции динамики и организации микротрубочек в разных типах клеток растений.

Взаимодействие гормонального и стрессового сигналов в клетках растений

Стрессы окружающей среды негативно влияют на продуктивность и развитие растений. Абиотические стрессы – главная причина потерь урожая во всем мире. Полиамины являются низкомолекулярными катионами, обнаруженными в подавляющем большинстве живых организмов – от бактерий до растений и животных. У растений полиамины принимают участие в различных физиологических процессах и считаются регуляторами роста растений. Растения накапливают полиамины при биотических и абиотических стрессах. С. Мапелли и В.В. Кузнецов (Италия, Россия) сравнивали эффект солевого стресса и ультрафиолетового излучения на уровни полиаминов. Действие солевого стресса обуславливает общее повышение концентрации полиаминов, преимущественно кадаверинов, в листьях и корнях *M. crystallinum*. Однако действие ультрафиолетового излучения индуцирует в корнях снижение уровня полиаминов, за исключением кадаверинов. Динамика концентраций путресцина и спермидина зависит от дозы ультрафиолетового излучения. Совместное действие ультрафиолетового излучения и солевого стресса на растения приводит к изменению количества полиаминов. Приведенные данные свидетельствуют в пользу того, что у *M. crystallinum* динамика уровней полиаминов под действием ультрафиолетового излучения отличается от динамики в условиях солевого стресса. Мутанты со сниженным уровнем полиамина спермина имеют более высокую

чувствительность к солевому стрессу. Спермин защищает арабидопсис от солевого стресса. Добавление путресцина усиливает устойчивость фотосинтетического аппарата к действию высоких концентраций солей и стимулирует рост клеток в условиях токсичных концентраций NaCl. Повышение уровней полиаминов, особенно путресцина, в мембранах тилакоидов под влиянием сильного ультрафиолетового излучения служит одним из первичных защитных механизмов фотосинтетического аппарата.

Роли фитогормонов в регуляции потребления воды растениями был посвящен доклад Я.К. Дода (I.C. Dodd Великобритания), где авторами был приведен анализ результатов, полученных с помощью метода, известного как «частичное осушение корней», который призван модулировать сигнализацию от корней к побегам для обеспечения снижения уровня использования воды растениями. Рассмотрены механизмы регуляции концентрации АБК и потока ассимилятов в ксилеме разными частями корневой системы. Исследование взаимного влияния $J_{\text{дгу}}$ и $\Psi_{\text{почв}}$ может способствовать, по мнению докладчика, созданию технологии поддержания экспорта АБК и других регуляторов роста из сухих частей растения в корневую систему для повышения эффективности использования влаги сельскохозяйственными растениями.

Проблеме гормональной регуляции реакций растений на действие стресса был посвящен доклад А. Гомез-Каденас и В. Арбона (A.Gómez-Cadenas and V. Arbona), Испания. Было показано, что АБК играет роль модулятора защитного ответа растений на действие абиотических стрессов. Жасмоновая кислота и полиамины также принимают участие в регуляции различных физиологических процессов у древесных растений, индуцированных неблагоприятными условиями окружающей среды. Применение АБК или синтетических ее аналогов предотвращало действие высоких концентраций солей на цитрусовые.

Солевой стресс является одним из наиболее тяжелых экологических факторов для растений. Существует возможность повышения устойчивости растений к засолению с помощью синтетических препаратов, способных

усилить процессы адаптации к воздействию стресса. Для исследования такой возможности Т.А. Палладиной и др. (Украина) был использован препарат Метиур, являющийся нетоксичным и дешевым синтетическим стимулятором роста растений. Защитный эффект Метиура на обработанные NaCl проростки кукурузы был более существенным по сравнению с Ивином, реализуясь в корнях, тогда как Ивин действовал на побеги. Более того, Метиур обеспечивал выживаемость растений в условиях засоления в течение всего периода вегетации и позволял растениям формировать семена.

Эндофитные микробы, согласно А.М. Пиртиле (Финляндия), влияют на рост культур тканей растений. Авторы показали, что *Bacillus circulans* опосредует соматический эмбриогенез у *Pelargonium*, а многочисленные представители *Methylobacterium* стимулируют созревание семян и способствуют росту и развитию растений *in vitro*. Биосинтез фитогормонов характерен для многих типичных грибов и бактерий растений.

О.П. Сердюк и др. (Россия) выделили из фототропных пурпурных бактерий *Rhodospirillum rubrum* рибозид зеатина и непуриновое соединение 4-ОН-фенэтилалкоголь с высокой активностью цитокининов. Осуществление поисков цитокининов в других пурпурных бактериях засвидетельствовало отсутствие их даже у микроорганизмов сходной α -филогенетической группы *Rs. rubrum* и почвенных бактерий.

Гормоны и синтетические регуляторы роста в сельском хозяйстве

В Институте биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины созданы различные высокоэффективные регуляторы роста растений нового поколения. Согласно работам С. Пономаренко (Украина), регуляторы роста растений нового поколения стимулируют стойкость растений к болезням и вредителям, снижают содержание нитратов, ионов тяжелых металлов и радионуклидов, эффект мутагенного воздействия гербицидов и других антропогенных факторов, являются экологически безопасными.

Использование ретардантов роста способствует повышению стойкости растений к действию стрессов. В докладе В.Д. Креславски и

др. (Россия) было показано влияние ретардантов роста — соединений, содержащих холин-2-хлорэтил-триметиламмоний хлорид (ССС) и его аналог 2-этил-триметиламмоний хлорид (СС), на стойкость к действию ряда стрессов фотосистемы II. Повышение устойчивости фотосистемы коррелировало с увеличением активности антиоксидантных ферментов и количества низкомолекулярных антиоксидантов (каротиноидов и флавоноидов).

И.Р. Фомина и др. (Россия) изучали влияние гербицида параквата (метилвиологена) на фенотип мутантов цианобактерий *Synechococcus* sp. PCC 7942, лишенных гена *sodB*, и *Synechocystis* sp. PCC 6803, лишенных гена *katG*. Паракват (MV0,5 мкМ) блокировал рост и фотосинтез у мутанта *sodB* *Synechococcus* sp. PCC 7942, за исключением цианобактерий дикого типа, как и мутантов *katG* *Synechocystis* sp.

Изучение транспорта тиамин в биологических системах направлено на выявление механизмов обратимого гидролиза ионов тиазолия. Р.В. Бугас и др. (Украина) показали, что циклическое фотофосфорилирование в при-

сутствии феназинметасульфата блокировалось солями тиазолия. Авторы сделали предположение, что локализация катиона тиазолия на мембранах тилакоидов, сопровождаемая раскрытием кольца последнего и взаимодействием с АТФ-синтазой, обуславливает ингибирование фотофосфорилирования.

На симпозиуме были не только обсуждены перспективные направления исследований гормональных сигнальных систем и рассмотрены генетические подходы к исследованию роли фитогормонов в метаболизме клеток растений, но и проведен анализ проблем, связанных с созданием и применением новых стимуляторов роста растений как в Украине, так и во всем мире.

Программа, материалы и фотоальбом симпозиума размещены на сайте: http://www.bpci.kiev.ua/news/Conference_PGSIHS/PGSIHS_official_site.html

Работа выполнена при поддержке Гранта ФФИ Украины № Ф14/253-2007.

В.С. КРАВЕЦ, Я.С. КОЛЕСНИКОВ, В.П. КУХАРЬ