

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
УФИМСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ**

БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

**Л.Б. ВЫСОЦКАЯ, Д.С. ВЕСЕЛОВ,
Р.Г. ФАРХУТДИНОВ, С.Ю. ВЕСЕЛОВ**

**ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ
ВОДНОГО ОБМЕНА И РОСТА РАСТЕНИЙ
НА РАЗНЫХ ФОНАХ МИНЕРАЛЬНОГО
ПИТАНИЯ И ПРИ ДЕФИЦИТЕ ВОДЫ**

**У ф а
РИЦ БашГУ
2014**

УДК 58
ББК 28.5

Г 69

*Монография рекомендована к изданию решением Ученого совета
Института биологии Уфимского НЦ РАН.
Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства
образования и науки РФ госзадание № 01201456413.*

Научный редактор

д-р биол. наук, профессор **Г.Р. Кудоярова**
(Институт биологии Уфимского НЦ РАН, г. Уфа)

Рецензенты:

д-р биол. наук, профессор **Ф.М. Шакирова**
(Институт биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН, г. Уфа)
д-р биол. наук **В.С. Сергеев** (ФГБОУ ВПО БГАУ, г. Уфа)

Высоцкая Л.Б., Веселов Д.С., Фархутдинов Р.Г., Веселов С.Ю.

Г69 Гормональная регуляция водного обмена и роста растений на разных фонах минерального питания и при дефиците воды: монография / Л.Б. Высоцкая, Д.С. Веселов, Р.Г. Фархутдинов, С.Ю. Веселов. – Уфа: РИЦ БашГУ, 2014. – 244 с.

ISBN 978-5-7477-3666-5

В монографии представлен анализ многолетних результатов исследований посвященных изучению роли гормональной системы растений в регуляции ростовых процессов и водного обмена в условиях действия стрессовых факторов различной природы.

Предназначено для студентов, магистрантов, аспирантов и преподавателей биологических специальностей вузов.

УДК 58
ББК 28.5

ISBN 978-5-7477- 3666-5

© Высоцкая Л.Б.,
Веселов Д.С.,
Фархутдинов Р.Г.,
Веселов С.Ю., 2014
© Институт биологии
УНЦ РАН, 2014
© БашГУ, 2014

ВЕДЕНИЕ

Недостаток воды в почве и воздухе, засоление и присутствие в почве ионов тяжелых металлов - наиболее распространенные неблагоприятные абиотические факторы окружающей среды, которые создают угрозу жизни растений, тормозят их рост и снижают урожайность. Общим для данных факторов является то, что они нарушают водный обмен растений и вызывают торможение роста растяжением поделившихся клеток. Вместе с тем, известно, что при резком возрастании дефицита воды вслед за торможением роста происходит его возобновление, что является важным свойством растений, обеспечивающим их выживание (Serpe, Matthews, 1992; Salah, Tardieu, 1996; Munns et al., 2000; Кудоярова и др., 2013).

Способность координировать процессы, которые происходят в разных органах – важное свойство растений, обеспечивающее их реакцию на организменном уровне и приспособление к изменению условий обитания. Одно из важных проявлений этого свойства – изменение гидравлической проводимости корней в соответствии с транспирационным запросом, обеспечивающее баланс между поглощением и испарением воды (Steudle, 2000; Meinzer, 2002; Parent et al., 2010; Шарипова и др., 2012). Другое проявление координации процессов, происходящих в разных органах растений – это относительная активация роста корней за счет ингибирования роста побега, лежащая в основе приспособления растений к дефициту воды и ионов (Beck, 1996; Poorter, Nagel, 2000; Vogeat-Triboulot et al., 2007; Puig et al., 2012).

Известно, что фитогормоны могут выполнять функцию сигналинга на уровне целого растения, передавая информацию из органа в орган (Кулаева, 1962; Davies et al., 2005; Романов, 2009; Титов, Таланова, 2009). Впервые это было показано на примере синтезируемых в корнях цитокининов, которые транспортируются в побег и влияют на происходящие там процессы (Кулаева, 1962). Была показана сигнальная функция корневой абсцизовой кислоты (АБК) в передаче в побег сигналов о наступающей засухе (Zhang, Davies, 1990). Идея о роли корневой АБК в адаптации растений к дефициту воды стала весьма популярной (см. обзор Schachtman and Goodger, 2008), а роль корневых цитокининов в нитратном сигналинге была подтверждена в опытах японский исследователей (Takei et al., 2001; Sakakibara et al., 2007).

В литературе много внимания уделяется сигнальной роли гормонов в реакции на внешние воздействия (Шакирова, 2001; Титов и др., 2006). Существует мнение, что быстрые ростовые реакции в ответ на

засоление не связаны с гормонами (Munns et al., 2000; Fricke et al., 2006). Тем не менее, некоторые воздействия уже через несколько минут вызывали изменения концентрации гормонов в растениях (Кудоярова и др., 1999), что привлекает интерес к изучению возможной роли гормонов в обеспечении быстрых адаптивных реакций у растений.

Тем не менее, не всегда удается доказать роль гормонов в качестве системных сигналов, обеспечивающих реакцию на уровне целого организма. Не у всех растений удалось зарегистрировать повышение притока АБК из корней при подсыхании почвы (Dodd 2005). Отдельные эксперименты с трансгенными растениями свидетельствовали против роли цитокининов в качестве системных сигналов (Faiss et al., 1997). В них было показано, что только локальная индукция *ipt*-гена в побегах трансгенного привоя приводит к активации роста боковых побегов, а индукция синтеза цитокининов в корнях трансгенного подвоя не давала такой реакции. Из литературы известна роль гидравлических (Malone, 1993; Холодова и др., 2006; Christman et al., 2007), электрических (Fromm, Lautner, 2007) и субстратных (трофических) (Forde, 2002; Rolland et al., 2006) сигналов в координации процессов в растениях. Высказывалось предположение о том, что их распространение по растению может вызывать локальные изменения в метаболизме гормонов, обеспечивая тем самым их участие в дистанционном сигналинге (Кудоярова и др., 1990; Полевой и др., 1997; Christmann et al., 2007). Способность гормонов влиять на концентрацию друг друга (Brugier et al., 2003; Reski, 2006) может играть важную роль в обеспечении распространения гормональных сигналов по растению.

И, тем не менее, взаимодействию гормональных, гидравлических и трофических сигналов уделяется крайне мало внимания. Также немногочисленны исследования, которые позволили бы выявить роль взаимовлияния разных гормонов в осуществлении гормональной системой функции сигналинга на уровне целого растения. Вместе с тем, можно было предполагать, что транспорт одного гормона может влиять на локальный метаболизм другого гормона, вовлекая его в системный сигналинг.

В проведении лабораторных и полевых исследований, помимо авторов монографии, принимали участие к.б.н. Дедов А.В., к.б.н. Митриченко А.Н., к.б.н. Веселова С.В., к.б.н. Тимергалина Л.Н., к.б.н. Иванов Е.А., к.б.н. Коробова А.В., к.б.н. Фаизов Р.Г., к.б.н. Г.Р. Ахиярова, к.б.н. И.Б. Сабиржанова и к.б.н. Г.В. Шарипова. Авторы благодарны за неоценимую помощь в анализе полученных результатов профессору Трапезникову В.К., и с.н.с. Иванову И.И. Особенная признательность за ценные советы и рекомендации профессору Кудояровой Г.Р., а также за её чуткое руководство и предоставление всех необходимых условий для выполнения экспериментов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- г - скорость роста;
m - коэффициент растяжимости;
Р - тургор (тургорное давление);
У - пороговое значение тургора;
 $\Delta\Pi$ - разность осмотических потенциалов;
 π – осмотическое давление;
 $\Delta\pi$ -разность между осмотическим потенциалом окружающей среды и клетки;
L, Lp, Lpr -гидравлическая проводимость;
Jv – скорость потока ксилемного экссудата;
 Ψ - водный потенциал;
 $\Delta\Psi$ - разность водных потенциалов;
 ε - коэффициент растяжения;
G, g_s - устьичная проводимость;
ТСХ - тонкослойная хроматография;
АБК – абсцизовая кислота;
ИУК – индолилуксусная кислота;
ЦКО - цитокининооксидаза
Z (З) – зеатин;
ZN (ЗН) – зеатиннуклеотид;
ZR (ЗР) – зеатинрибозид;
iP (ИП) – изопентениладенин;
IPa (ИПА) –изопентениладенозин;
БАП – 6-бензиламинопурин;
СВ – содержание воды в тканях растений;
ОСВ – относительное содержание воды;
ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией;
БК – боковые корни;
ПБК – примордии боковых корней;
НК – нуклеиновые кислоты

1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВОДНОГО ОБМЕНА И РОСТА РАСТЕНИЙ

Обмен сигналами между органами растения

Из-за прикрепленного образа жизни наземные растения вынуждены приспосабливаться к условиям тех мест обитания, в которых они оказались после прорастания. При этом выживание растений возможно лишь благодаря поразительной пластичности их морфологических и физиологических показателей. Для растений крайне важны физиологические реакции (закрытие устьиц, изменение скорости фотосинтеза, поглощения ионов и воды и т.д.), но также важны, как и более заметны, изменения морфологического характера. В отличие от животных, у которых размеры отдельных органов и их соотношение строго постоянны у особей одного вида, у растений одного и того же вида оба эти показателя могут варьировать на порядок и больше. Именно эта пластичность позволяет растениям приспособиться к условиям обитания. Так, относительная активация роста побега в длину позволяет растениям вынести листья в верхние ярусы и избежать затенения (Smith, Whitlam, 1997). И, наоборот, при дефиците воды скорость роста побега резко снижается, в результате чего уменьшается испарение воды с поверхности мелких листьев (Hsiao, Xu, 2000). При этом торможение роста побега позволяет растению мобилизовать ограниченные ресурсы для поддержания роста корней, обеспечивающих поглощение воды. При дефиците ионов также происходит относительная активация роста корней, необходимая для повышения их поглотительной способности (Beck, 1996; Van Der Werf, Nagel, 1996; Sharp, LeNoble, 2002).

Для исследователей важно понять, какие механизмы обеспечивают изменение скорости роста отдельных частей растения: подавление роста одних органов и стимуляцию других. Поэтому огромное количество публикаций на эту тему не вызывает удивления. Вместе с тем, до сих пор еще остается неясным, каким образом осуществляется регуляция (переключение) адаптивной ростовой реакции растений при изменении условий обитания. Об этом свидетельствует разнообразие точек зрения по этому вопросу. Так, существует мнение, что изменение пропорций между надземной и подземной частями растения происходит в результате активации роста тех органов, которые непосредственно контактируют с лимитирующими ресурсами (McIntyre, 1991). В соответствии с этой точкой зрения при

дефиците света побег быстрее растет потому, что именно в листьях образуются фотоассимиляты (Киселева, Каминская, 2002), а при дефиците воды и азота ресурсы в первую очередь оказываются в распоряжении корней, что обеспечивает их преимущественный рост (Pui et al., 2013). В пользу последнего предположения свидетельствуют особенности анатомического строения корней: ксилемные сосуды, по которым вода и ионы экспортируются в побег, находятся выше зоны роста корней, расположенной в их кончиках, а высокое гидравлическое сопротивление клеток этой зоны обеспечивает их гидравлическую изоляцию (hydraulic isolation, Hsiao, Xu, 2000). Хотя на первый взгляд эта точка зрения кажется обоснованной, не мало аргументов свидетельствует против нее.

Почвенные ионы действительно в первую очередь попадают в корни. Рассматривая условия дефицита нитратов, следует подчеркнуть, что субстратом для роста являются не сами нитраты, а продукты их восстановления, из которых синтезируются аминокислоты. Процесс восстановления нитратов идет как в корнях, так и побеге (интенсивность процесса может меняться и в том и другом органе в зависимости от внешних факторов), а активная рециркуляция аминокислот также может лишить корни преимущества использования поглощаемых ими нитратов (Walch-Liu et al., 2005). Кроме того, субстратом для роста являются не только ионы и вода, но, в первую очередь, фотоассимиляты. Поэтому предпосылкой для относительной активации роста корней является торможение роста побега, что позволяет уменьшить затраты ассимилятов на рост надземного органа и увеличить их экспорт в корни.

Изменение скорости роста побега зачастую также нельзя объяснить только большей доступностью фотоассимилятов. Их распределение между разными частями побега при затенении изменялось таким образом, что рост одних (листовые примордии) прекращался, а других (гипокотилия) активировался, хотя и те, и другие органы не синтезируют, а потребляют ассимиляты (Carabelli et al., 2007). Следовательно, скорость роста одной части растения зависит от скорости роста другой, и предпосылкой для ростовой реакции растения на уровне целого организма является координация процессов, происходящих в разных органах растений.

Основой для интеграции процессов в живом организме как в едином целом является обмен сигналами между его частями. Необходимо подчеркнуть, что в данной работе речь идет о сигналинге не на уровне клетки, а о сигналах, которые передаются на более дальние расстояния. Хотя этот механизм изучен у растений несравнимо хуже, чем у животных, есть достаточно много свидетельств в пользу самого факта обмена сигналами между разными органами растений. Так, при

изменении уровня освещенности очень быстро (уже через несколько минут) изменяется скорость поглощения ионов корнями, что указывает на быстрое распространение управляющего сигнала из побега в корень (Оприлов и др., 1972; Пятыгин, 2008). Использование гиперклубеньковых мутантов бобовых в качестве привоя и растений дикого типа в качестве подвоя стимулировало на последних образование клубеньков, что также свидетельствует о передаче сигнала из побега в корень (Walch-Liu et al., 2005). В литературе также можно найти много примеров, подтверждающих передачу сигналов из корня в побег и в пределах самого побега. Так, сразу же после полива резко возростали уровень фотосинтеза и устьичная проводимость в листьях растений (Fromm, Lautner, 2007). При раздражении одного листа (ожоге) в соседнем листе растения резко возростала протеолитическая активность (Malone, 1993). Эксперименты с зачехлением и удалением листьев прорастающих семян фасоли показали, что световой сигнал, приводящий к разгибанию гипокотилия, воспринимается листом и в течение минуты передается в гипокотиль (De Greef et al., 1976). Этот список примеров можно продолжить, но гораздо важнее попытаться выяснить, каким образом передаются сигналы из одного органа в другой. Лучшее всего известна и изучена сигнальная функция гормонов (Jackson, 1993). Исследование действия на растения различных внешних факторов показало, что под их влиянием меняется концентрация гормонов в растениях (Salisbury, Marinos, 1985). Хорошо известно, что уровень минерального питания влияет на концентрацию цитокининов в растениях: при дефиците ионов содержание цитокининов снижается (Kuiper et al., 1988; Кудоярова и др., 1989; Пузина, 2000). Одно из наиболее известных последствий действия на растения засухи – это накопление абсцизовой кислоты (АБК) (Yang et al., 2002; Davies et al., 2005). Изменение уровня освещения влияло на распределение ауксинов (Salisbury et al., 2007). В многочисленных экспериментах было показано, что затопление увеличивает продукцию этилена в растениях (Jackson, 2008). Поранение стимулирует продукцию жасмоновой кислоты (Morris, 2001), которую также причисляют к гормонам. Локальные внешние воздействия влияют на уровень продукции гормонов, а соответствующие изменения потока гормонов в другие органы могут служить сигналом для органа-мишени. Хотя у идеи о роли гормонов в качестве сигналов, передаваемых на расстояние, больше сторонников, чем противников, тем не менее, представления о том, как может осуществляться эта функция, в настоящее время значительно усложнились. Так, по аналогии с эндокринной системой животных сначала предполагалось, что гормоны синтезируются в одних органах (например, ауксины – в побеге, а цитокинины – в корнях), а действуют - в других (ауксины регулируют

рост корней, а цитокинины – побега) (Дерфлинг, 1985). В этом заключается эндокринный характер действия гормонов. Со временем оказалось, что гормоны могут влиять и на те клетки, в которых они синтезируются (так называемое паракринное действие) (Faiss et al., 1997). Пришлось отказаться и от идеи о функциональной специализации отдельных органов в продукции определенных гормонов. Оказалось, что не только корни, но и побеги могут синтезировать цитокинины (Takei et al., 2001; Miyawaki et al., 2004), а в корнях происходит синтез ауксинов (Ljung et al., 2005). Далее мы еще вернемся к вопросу о том, каким же образом гормоны, транспортируемые из органа в орган, могут осуществлять функцию сигналов, несмотря на способность органа-мишени синтезировать тот же самый гормон. Здесь же рассмотрим еще одну проблему понимания того, как гормоны растений могут выполнять функцию сигналов, передаваемых на расстояние. Сигнальная функция гормонов (так же, как и любых других химических сигналов) может подвергаться сомнению еще и из-за отсутствия у растений такой надежной транспортной системы, как кровеносная система животных. Как и любые другие химические вещества, гормоны растений могут транспортироваться от клетки к клетке, а также по флоэмным или ксилемным сосудам. Эти транспортные пути перечислены в порядке возрастания скорости переноса по ним веществ: за часы, минуты и секунды вещества транспортируются на один сантиметр в первом, втором и третьем случае соответственно. Сравнение показывает, что транспорт гормонов от клетки к клетке довольно медленный. Скорость флоэмного транспорта выше, но и этот путь не может обеспечить высокую скорость передачи сигналов по растению. Высокой скоростью отличается ксилемный транспорт, но его недостаток - зависимость от работы «верхнего концевое двигателя»: устьица закрываются (например, ночью) и транспирационный поток, а вместе с ним и быстрая доставка гормонов из корней, прекращается. Такого рода соображения направили исследователей на поиск иных способов передачи сигналов у растений. Так, в литературе обсуждается роль электрических и гидравлических сигналов. При поливе и изменении уровня освещенности было зарегистрировано распространение электрических сигналов (в первом случае - из корня в побег, а во втором - из побега в корень) (Опритов и др., 1972; Fromm, Lautner, 2007). При локальном ожоге листа в соседнем листе с помощью высокочувствительного датчика было обнаружено изменение его толщины, что свидетельствует о распространении гидравлического сигнала в виде перетока воды из поврежденных клеток в здоровый лист по сосудам (Malone, 1993). Эти и подобные им результаты интерпретировали как подтверждение возможного участия гидравлических и электрических сигналов в

регуляции ответа растений на внешние воздействия. Преимущество электрических и гидравлических сигналов заключается в высокой скорости их распространения. Так, электрические импульсы распространяются со скоростью 20-30 мм/с (Fromm, Lautner, 2007). Скорость распространения гидравлических сигналов в виде перепада гидростатического давления соответствует скорости распространения звука (Malone, 1993).

Механизм трансдукции гидравлических и электрических сигналов в физиологический ответ растений остается непонятным. Нам представляется перспективным подходом к решению этой проблемы изучение возможного взаимодействия этих сигналов с гормональными. Было показано, что локальное световое раздражение кончика колеоптиля вызывает распространение электрических импульсов, что сопровождается изменением содержания ауксинов в корнях за счет их высвобождения из связанных форм (Кудоярова и др., 1990). Также была выявлено взаимодействие гидравлических и гормональных сигналов (Tardieu et al., 2010). Оно проявлялось в том, что чувствительность растений к абсцизовой кислоте менялась в зависимости от водного потенциала листа. Эти результаты свидетельствуют о возможной трансформации гидравлических сигналов в гормональные.

Влияние гормональных и гидравлических сигналов на водный обмен растений

Координация поглощения и потери воды

Доступность воды – один из наиболее важных внешних факторов в жизни наземных растений. Жизнеспособность растения, прежде всего, определяется поддержанием совместимого с жизнью уровня воды, который зависит от баланса между ее поглощением корнями и испарением листьями. Растения, произрастающие в условиях континентального климата, часто испытывают дефицит воды из-за редкого выпадения дождей и подсыхания почвы (почвенная засуха). Еще более часто растения подвергаются воздействию воздушной засухи, т.е. низкой влажности воздуха. Почвенная засуха нарушает водный баланс, снижая доступность воды для поглощения ее корнями, а воздушная засуха увеличивает скорость потери воды растениями за счет ее испарения. В этих условиях растения могут поддерживать водный баланс и уровень водности своих тканей, увеличивая способность корней поглощать и проводить воду или ограничивая испарение воды с поверхности листьев. Способность корней поглощать воду возрастает в результате их роста и увеличения поглощающей поверхности. Как уже упоминалось выше, в неблагоприятных условиях, когда растения ограничены в ресурсах, активация роста корней возможна лишь за счет ингибирования роста побега (пример координации процессов в разных органах растений). Также важна способность корней проводить воду, т.е. гидравлическая проводимость. Было замечено, что гидравлическая проводимость в растении изменяется в зависимости от скорости испарения воды листьями: возрастает при увеличении скорости транспирации и снижается при ее ингибировании (Stuedle, 2000; Тимергалина и др., 2007; Kudoyarova et al., 2011; Кудоярова и др., 2014). Это еще один пример координации пространственно разобщенных процессов (транспирации в листе и гидравлической проводимости корневой системы), осуществление которой требует обмена сигналами.

Ограничение скорости испарения воды листьями не менее важно для поддержания водного баланса при дефиците воды. Наиболее быстро ограничения транспирации можно достигнуть путем закрытия устьиц. Это настолько общеизвестный факт, что трудно выбрать работу, на которую можно было бы сослаться по этому поводу. Более медленные реакции обеспечивают ограничение транспирации за счет формирования признаков ксероморфности листьев, к которым относятся уменьшение количества и размера клеток (в том числе устьичных) и листа в целом, утолщение кутикулы, формирование опушенности листа и т.д. Эти

процессы достаточно сложны и в основном выходят за рамки обсуждаемой проблемы. Для данной работы наиболее актуальный аспект – это механизмы согласования ростовых процессов побега и корня.

На наш взгляд, важно то, что функционирование этих разнообразных механизмов и процессов, которые реализуются в разных органах, происходит поразительно согласованным образом. Именно в результате согласованной регуляции процессов транспирации и проведения воды, роста побега и корня растения способны поддерживать оводненность своих тканей при изменении водного режима. Это свойство наиболее заметно у так называемых изогидрических (isohydric) растений, у которых водный потенциал листьев в дневное время поддерживается на постоянном уровне за счет закрытия устьиц, несмотря на резкое снижение водного потенциала почвы (Meinzer, 2002). Чтобы разобраться в том, как происходит согласование процессов, обеспечивающих поддержание водного баланса растений, необходимо подробнее остановиться на механизмах регуляции устьичной и гидравлической проводимости, а также роста побега и корня.

Регуляция устьичной проводимости

Устьица играют особенно важную роль в адаптации растений к условиям обитания, что проявляется в их чувствительности к огромному количеству внешних и внутренних факторов (уровень освещенности, концентрация углекислого газа и ионов, pH, действие гормонов и т.д.). Открытие устьиц под влиянием светового сигнала обеспечивает поступление углекислого газа в мезофилл листа (Roelfsema, Hedrich, 2005; Roelfsema et al., 2006). Устьица также реагируют на изменение концентрации углекислого газа: закрываются при повышении и открываются при падении концентрации углекислого газа в межклеточном пространстве листа (Warren, 2008). В результате чего обеспечивается сопряженность изменения устьичной проводимости и скорости фотосинтеза и поддержание постоянства концентрации углекислого газа в межклетниках.

Как уже упоминалось выше, изменение устьичной проводимости – одна из наиболее быстрых и характерных реакций на дефицит воды. Ответ на вопрос, как происходит закрытие устьиц при дефиците воды, кажется простым и очевидным. Общеизвестно, что благодаря особенностям устьичных клеток они закрываются в результате потери тургора и открываются при его восстановлении. Таким образом, устьица должны закрываться в ответ на снижение оводненности листа и

тургора (гидропассивное закрытие устьиц). Однако в большинстве случаев устьица закрываются еще до потери листом тургора. Механизм опережающего закрытия устьиц очень важен, т.к. благодаря его функционированию сохраняется тургор листа, что необходимо для поддержания роста растяжением, синтеза белка и других, чувствительных к тургору процессов. Парадоксальность ситуации заключается в том, что гидропассивные эффекты чаще приводят к открытию, а не закрытию устьиц. Этот так называемый эффект Иванова был описан в 1928 году при изучении устьичной реакции листьев после их изоляции (Ivanov, 1928). При этом транспирация сначала увеличивалась, и только затем (через 15 минут) устьица закрывались. Этот эффект объяснили влиянием давления соседних клеток на размер устьичной щели. Снижение тургора клеток эпидермиса (в результате потери воды и прекращения ее притока) уменьшало их давление на устьичные клетки, что приводило к кратковременному увеличению размера устьичной щели (Fricke, 1997).

Дальнейшее изучение реакции устьиц показало, что их закрытие может быть результатом не просто недостатка воды, а активного выброса ионов из устьичных клеток, приводящего к потере ими тургора (Luan, 2002). Открытие устьиц (например, под влиянием света), наоборот, связано с активным поглощением ионов из апопласта и повышением тургора (Doi, Shimazaki, 2008). Основным осмотиком, за счет которого осуществляется регуляция тургора устьичных клеток, является калий. Существует функциональная специализация калиевых каналов: по одним из них калий поступает в клетку, а по другим – выходит из клетки. При открытии устьиц активируются первые каналы, а при закрытии – вторые (Wasilewska, 2008). Кроме того, в регуляции устьичной проводимости принимают участие анионы и соответствующие им каналы, что необходимо для нейтрализации положительно заряженных ионов калия (Doi, Shimazaki, 2008). Таким образом, закрытие или открытие устьиц связано с изменением активности целого «оркестра» мембранных каналов, и важно понять, что является его «дирижером». В настоящее время обнаружено существование большого количества интермедиаторов в передаче каскада внутриклеточных сигналов, приводящих к изменению устьичной проводимости (образование перекиси водорода и нитрата азота, выполняющих сигнальную функцию, активация кальциевых каналов циклическим АДФ рибозидом и инозитол фосфатами, передача кальциевых сигналов с помощью сенсоров кальция в виде кальмодулина и кальций-зависимых фосфокиназ и фосфотаз (Luan, 2002; Roelfsema, Hedrich, 2005; Janicka-Russak, Klobus, 2007). Важно понять, что является первичным внешним сигналом, запускающим весь

этот фейерверк внутриклеточных сигналов, приводящих к открытию или закрытию устьиц. Не исключено, что эту роль могут играть небольшие изменения осмотического потенциала или тургора, которые сами по себе не способны вызвать движение устьиц, но могли бы активировать осмосенсоры (Boudsocq, Lauriere, 2005) или чувствительные к механическому раздражению ионные каналы, реагирующие на слабые изменения в натяжении мембран или на другие показатели, связанные с тургором клеток (Krol et al., 2000).

Альтернативное объяснение может заключаться в запуске процессов, приводящих к закрытию устьиц под влиянием химических сигналов, поступающих в устьица из других клеток, тканей и органов. Роль химических сигналов, поступающих из корней, в регуляции устьичной проводимости была выявлена в опытах с частичным поливом растений (Zhang, Davies, 1989). В этих экспериментах растения выращивали, размещая их корни в двух отсеках сосуда с почвой. После завершения укоренения растения в обоих отсеках один из них прекращали поливать. При этом из поливаемого отсека в побег поступало необходимое количество воды для поддержания водного потенциала листьев на уровне контрольных растений, у которых поливали оба отсека. Тем не менее, несмотря на высокий водный потенциал листьев, их устьица закрывались. Эти результаты свидетельствовали о том, что стимулом для закрытия устьиц в данном случае был не гидравлический, а какой-то иной сигнал, поступающий из корней. Модель частичного полива растений оказалось удобной (Siorongco et al., 2008; Martin-Vertedor, Dodd, 2011) для доказательства общей роли химических сигналов, поступающих из корней и регулирующих процессы в побеге. Уже первые результаты привлекли к себе внимание многих исследователей, и начался интенсивный поиск тех химических сигналов, которые могли сыграть роль корневого сигнала, закрывающего устьица.

Первоначально было высказано предположение, что в роли такого сигнала выступает снижение поступления в побег некоего соединения (предположительно, цитокининов), за счет того, что его продукция в подсыхающей корневой пряди уменьшилась (Gowing et al., 1993). Это предположение было отвергнуто на основании опытов, в которых было показано, что удаление половины корней не приводило к тому же эффекту, что и прекращение полива. Если бы в случае прекращения полива снижение устьичной проводимости было вызвано снижением притока регуляторов стимулирующего действия, то удаление корней, по мнению авторов, должно было бы также привести к закрытию устьиц. После того, как гипотеза о сигнальной функции снижения притока гормонов из корней была, в данном случае,

отвергнута, внимание исследователей переключилось на проверку возможной роли неких ингибиторов, синтез которых мог возрастать в подсыхающей пряди. Поиск привел к предположению, что эту роль выполняет абсцизовая кислота. Исследование этого соединения в качестве корневого сигнала заслуживает обсуждения в отдельном разделе.

Гормональные сигналы, регулирующие устьичную проводимость

Само открытие абсцизовой кислоты было связано с изучением реакции растений на дефицит воды (дегидратацию). При подсушивании изолированных листьев было обнаружено, что в них накапливается некое вещество, способное ингибировать рост (Wright, Hiron, 1969). Позднее оно было идентифицировано и получило свое название от процесса опадения листьев (abscission), который, как тогда полагали, контролирует АБК. Хотя первоначальное предположение оказалось неверным, у этого гормона обнаружилось множество других свойств, и одно из наиболее важных - способность индуцировать закрытие устьиц (Mansfield, MsAinsh, 1995). Это свойство АБК было выявлено в экспериментах с изолированными листьями и их эпидермисом, в которых экзогенная АБК вызывала закрытие устьиц (Anderson et al., 1994). Также было показано накопление АБК в листьях при их дегидратации. Было высказано предположение, что стимулом для синтеза АБК является небольшое снижение тургора клеток листьев, которое само по себе еще не достаточно для того, чтобы вызвать гидропассивное закрытие устьиц (Iwanov, 1928; Pierce, Raschke 1980). Сопоставление этих двух эффектов привело к выводу о том, что закрытие устьиц при дегидратации контролирует АБК. Несмотря на то, что данное предположение казалось совершенно очевидным, сравнение динамики общего содержания АБК в листьях и устьичной проводимости при дегидратации показало, что накопление АБК происходит уже после закрытия устьиц (Bacon et al., 1998). Сравнение дневной динамики общего содержания АБК и устьичной проводимости также не выявило между ними корреляции (Tallman, 2004). Было высказано мнение, что измерение суммарного содержания АБК во всем листе не информативно, потому что для индукции закрытия устьиц достаточно накопления АБК в апопласте устьичных клеток (Slovik et al., 1995). Это предположение возникло на основании результатов опытов (Kaiser, Hartung, 1981), в которых в апопласте листа поддерживалось щелочное значение pH, что приводило к диссоциации введенной извне АБК. АБК проникает через мембрану в виде нейтральной молекулы, а ее диссоциация подавляется при кислых значениях pH, которые характерны в норме для апопласта. В

этих экспериментах с помощью метки было показано, что АБК действительно не попадала внутрь клеток, но, тем не менее, она закрывала устьица. На основании данных этих опытов позднее распространилось представление о том, что рецепторы АБК находятся в клеточной мембране, экспонированы в апопласт и реагируют на концентрацию АБК в апопласте (Anderson et al., 1994). Интересно то, что в то время, когда было высказано это предположение впервые, рецепторы к АБК еще не были обнаружены. Тем не менее, в 1989 году уже полагали, что именно АБК является тем химическим сигналом, который поступает из подсыхающих корней и вызывает закрытие устьиц при недостатке воды в почве (Zhang, Davies, 1989). Утверждение о сигнальной функции корневой АБК сначала вызывало серьезные возражения. Во-первых, считалось, что АБК может синтезироваться только в листьях, поскольку синтез ее каратиноидного предшественника требует больших затрат энергии, источником которой, как казалось, мог быть только фотосинтез. Тем не менее, было показано, что процесс синтеза АБК может идти и в корнях (Parrу et al., 1992), в которых также была выявлена экспрессия генов, кодирующих необходимые для синтеза АБК ферменты. Кроме того, экспрессия фермента, ответственного за ключевую стадию синтеза АБК, индуцировалась в корнях под влиянием дефицита воды (осмотического шока). Таким образом, возражение о том, что АБК не синтезируется в корнях, было снято. Но только, исходя из гипотезы о расположении рецептора АБК в клеточной мембране, можно было объяснить, каким образом устьица могут реагировать на изменение притока АБК по ксилеме, в то время как в клетках листа содержится достаточное количество собственной листовой АБК (Pороva et al., 2000). Именно такое расположение рецепторов обеспечивает чувствительность устьичных клеток к апопластной АБК, т.е. поступающей из корней АБК по ксилеме и направляющейся к устьицам вместе с транспирационным потоком. Сопоставление концентрации АБК в ксилемном соке и устьичной проводимости выявило корреляцию между ними и отсутствие таковой с общим содержанием АБК в листе (Davies et al., 1994), что, казалось бы, подтвердило роль именно корневой АБК в регуляции устьичной проводимости. Но всех представленных выше фактов, в случае АБК, оказалось еще не достаточно для доказательства сигнальной функции корневой абсцизовой кислоты. М. Джексоном (Jackson, 1993) было высказано следующее возражение: корреляцию между концентрацией АБК в ксилемном соке и устьичной проводимостью можно объяснить не тем, что первый фактор определяет второй, а, наоборот, тем, что снижение устьичной проводимости и уменьшение объема транспирационного потока приводит к повышению концентрации АБК в ксилеме. При таком объяснении концентрация АБК

становится не регулирующим, а регулируемым фактором. М. Джексон настаивал на том, что в качестве корневого сигнала может выступать не концентрация АБК, а ее доставка (delivery), т.е. то количество гормона, которое продуцируется корнями и загружается в ксилему (и, соответственно, доставляется в побег) за единицу времени (Jackson, 1993). Дискуссия на тему о том, что является корневым сигналом: концентрация АБК или ее доставка, - продолжается и в ней даже сегодня не поставлена точка. Очевидно одно, что эта длинная история призвана показать, как сложно было подтвердить роль гормонов (в данном случае АБК) в качестве передаваемого на расстояние сигнала.

Повышение концентрации АБК в ксилемном соке (а в некоторых случаях - доставки АБК из корней) было обнаружено не только при действии засухи, но и многих других корневых стрессов (засоление и дефицит ионов; Jeschke et al., 1997), при которых происходило закрытие устьиц (Fricke et al., 2004). Эти данные подтверждают участие АБК в адаптации растений к неблагоприятным воздействиям. Но она способна влиять не только на состоянии устьиц, но и на другие процессы, обеспечивающие приспособление растений к условиям обитания. Прежде чем перейти к другим функциям АБК, необходимо отметить, что, несмотря на популярность идеи о роли АБК в качестве корневого сигнала, не всегда удавалось показать повышение ее концентрации в ксилемном соке растений при действии корневых стрессовых факторов, вызывающих закрытие устьиц (Trejo, Davies, 1991; Jackson, 2002).

Для того чтобы объяснить, как осуществляется регуляция устьичной проводимости в отсутствие АБК-ового сигнала, было высказано предположение, что в роли корневых сигналов может выступать изменение рН ксилемного сока (Gollan et al., 1992). Так, было показано повышение рН ксилемного сока при действии некоторых стрессовых факторов, а также закрытие устьиц при искусственном подщелачивании ксилемного сока (Wilkinson, Davies, 2002). Это позволило полагать, что сдвиг рН апопласта в щелочную сторону превращает его в ловушку для АБК, предотвращая ее поступление в клетки (Daeter et al., 1993). Очень важным при этом, на наш взгляд, является то, что сигналом, передаваемым из корней, может быть снижение притока ионов водорода в побег, а действующим на устьица фактором – накопление АБК в апопласте. На этом примере видно, что для участия в передаче сигнала из одного органа в другой гормоны не обязательно должны перемещаться на большие расстояния. Выше уже упоминался подобный механизм в случае, когда концентрация гормона менялась за счет его высвобождения из связанных форм под влиянием электрического сигнала, распространяющегося из другого органа (Кудоярова и др., 1990).

Несмотря на то, что гипотеза о роли pH в качестве корневого сигнала нашла подтверждение в ряде экспериментов, тем не менее, и этот механизм, скорее всего, не является универсальным, поскольку не все стрессовые воздействия вызывают повышение pH апоплста (Wilkinson et al., 1998). Поиск кандидатов на роль корневых сигналов продолжается. При затоплении убедительно показана роль этилена в качестве корневого сигнала, регулирующего эпинастию побега (Jackson, 2002). Однако механизм закрытия устьиц при затоплении все еще остается загадкой (Jackson, 2002), поскольку сам этилен скорее способен поддерживать устьица в открытом состоянии, чем закрывать их (Tanaka et al., 2005). Такие гормоны, как ауксины и брассиностероиды, также способны влиять на устьичную проводимость растений (Xiao-Ping, Xi-Gui, 2006). Но их роль в качестве корневых сигналов, насколько нам известно, до сих пор еще не рассматривалась.

Важным дополнительным фактором, влияющим на состояние устьиц, являются гормоны цитокинины, которые наряду с АБК могут играть роль корневого сигнала. Чувствительность устьиц к цитокининам была обнаружена практически одновременно с АБК (Blackman, Davies, 1985). Цитокинины являются антагонистами АБК, поскольку они поддерживают устьица в открытом состоянии. Обнаружено, что содержание цитокининов в растениях часто снижается при неблагоприятных условиях обитания (засухе, засолении, неоптимальной температуре; Hare et al., 1997). Наконец, важным аргументом является способность корней синтезировать цитокинины, которая была показана в самом начале истории изучения цитокининов (Кулаева, 1962; Chen et al., 1985) и подтверждена недавними исследованиями экспрессии генов, контролирующих синтез цитокининов в корнях (Miyawaki et al, 2004). Роль цитокининов в качестве корневых сигналов была показана (Кулаева, 1962) еще до того как появилась гипотеза о том, что эту функцию может выполнять АБК (Zhang, Davies, 1989). Тем не менее, в последующие годы убедительных доказательств участия цитокининов в корневом сигналинге получить не удавалось (Кулаева, Кузнецов, 2002). Прогресс в этой области был достигнут в основном при изучении действия на растения разных уровней минерального питания (Miyawaki et al, 2004), о котором мы будем говорить несколько позже. Здесь же необходимо отметить, что сигнальной функции цитокининов при дефиците воды уделялось до начала нашей работы недостаточно внимания, что, вероятно, было связано со сложностью метаболических превращений, контролирующих концентрацию активных форм цитокининов.

Регуляция гидравлической проводимости

Закрытие устьиц при недостатке влаги не является универсальным механизмом предотвращения дефицита воды. Увеличение притока воды из корней является альтернативным способом регуляции водного баланса наряду со снижением транспирации. Приток воды зависит не только от ее поглощения корнями, но и от способности тканей ее проводить. Уже много лет назад было замечено, что гидравлическая проводимость меняется в соответствии с транспирационным запросом: возрастает у транспирирующих растений и снижается в отсутствие транспирации (Brouwer, 1954). Возрастание гидравлической проводимости с увеличением транспирационного потока обеспечивает поддержание баланса между поглощением и испарением воды. В отличие от устьичной проводимости, которая характеризует способность листовой поверхности пропускать пары воды в атмосферу, от гидравлической проводимости зависит поток воды в жидкой фазе по тканям растений. Сопротивлением (величина, обратная проводимости) обладают мембраны клеток и вакуолей. Величина сопротивления отдельной мембраны чаще всего значительно меньше суммарного гидравлического сопротивления, но суммирование сопротивления значительного количества мембран, которые ток воды преодолевает по пути от клетки к клетке, приводит к существенному падению гидравлической проводимости тканей (Jones et al., 1983). Путь от клетки к клетке вносит существенный вклад в создание сопротивления на пути воды от поверхности корня к сосудам (Steudle and Peterson, 1998). Также обсуждается роль мембран мелких клеток вокруг сосудов в сопротивлении тканей листа току воды (Tang, Boyer, 2002). Теоретически, преодолев одну клеточную мембрану и попав в клетку, молекулы воды могут дальше перемещаться по симпласту, который, судя по данным, полученным на изолированных корнях с помощью метода ядерного магнитного резонанса, обладает высокой гидравлической проводимостью (Анисимов, Рагкович, 1992). Вместе с тем, трудно представить себе, что поток воды по симпласту может быть значительным по сравнению с остальными способами ее перемещения в растении, принимая во внимание небольшой размер плазмодесма по сравнению с общей поверхностью клетки (Гамалей, 2004). Межклеточное пространство, заполненное водой, и гидрофильные первичные клеточные стенки, относящиеся к апопластному пути, обладают высокой гидравлической проводимостью (Steudle, 2000). Особенность пути по первичным клеточным стенкам состоит в том, что их объем несравнимо меньше, чем объем симпласта. Тем не менее, считается, что он вносит существенный вклад в поток воды по

транспирирующему растению. Объем клеточных стенок может возрасти в результате изменения рН и ионной силы растворов, влияющих на степень набухания оболочка клетки через ионизацию радикалов матрикса (Meuchik, Yermakov, 1999). Последствия таких изменений трактуются неоднозначно. Казалось бы, набухание первичных клеточных стенок может повысить их гидравлическую проводимость. Однако до начала нашей работы в литературе не было экспериментальных подтверждений такого рода. Наоборот, есть сообщения о снижении гидравлической проводимости в результате возрастания степени набухания клеточных стенок (Gasco et al., 2006). Этот эффект связывают со структурой пит (pith) мембран – перфорированных участков вторичных стенок на границе между ксилемными сосудами (Choat et al., 2007). Их набухание приводит к уменьшению диаметра пор (отверстий в пит-мембранах), по которым вода транспортируется из сосуда в сосуд и возрастанию гидравлического сопротивления. Этот механизм изучен у древесных растений. Необходимо отметить, что изменение рН и концентрации ионов ксилемного сока может по-разному влиять на проводимость структур, состоящих из первичных и вторичных клеточных стенок.

Гидравлическое сопротивление первичных клеточных стенок резко возрастает в результате отложения суберина и лигнина в эндо- и экзодерме корня (образование так называемых поясков Каспари) (Steudle, 2000). Отложение кутикулы внутри листа так же снижает гидравлическую проводимость, как и присутствие слоев этого вещества на поверхности листа повышает устьичное сопротивление (Tang, Boyer, 2002). Хотя вторичные стенки ксилемных сосудов обладают крайне низкой проницаемостью для воды, на пути воды по самим сосудам гидравлическая проводимость очень высокая. Она зависит от диаметра всех сосудов. Гидравлическое сопротивление движению воды по ксилеме возрастает при закупорке сосудов, что может иметь большое значение для регуляции водного обмена древесных растений (Tugee, Ewers, 1991).

Как видно из всего сказанного, гидравлическое сопротивление растений складывается из сопротивлений нескольких путей, по которым вода может перемещаться по растениям. Развитие корневой системы обеспечивает не только увеличение их поглотительной поверхности, но и способности проводить воду. Увеличение количества корней и в них – ксилемных сосудов повышает их суммарный диаметр и гидравлическую проводимость (Sobrado, 2007).

Несмотря на важную роль ксилемного транспорта в обеспечении побега потоком воды из корней, отрезок пути от поверхности корней до ксилемных сосудов наиболее интересен. Именно

здесь, по некоторым данным (Steudle, 2000), расположен участок с наиболее высоким сопротивлением потоку воды, и по этой причине именно здесь регуляция гидравлической проводимости может быть наиболее эффективной. Исследование механизмов регуляции гидравлической проводимости на разных участках растения невозможно без измерения этого показателя.

По аналогии с законом Ома гидравлическое сопротивление измеряют как изменение скорости потока воды при изменении его движущей силы. В растениях движущей силой для потока воды является градиент осмотического или гидростатического давления. В первом случае для поддержания осмотического градиента необходимо наличие мембраны (Steudle and Peterson, 1998). Таким образом, измерение скорости потока воды, поддерживаемого градиентом осмотического потенциала между ксилемным соком и питательным раствором, позволяет оценить гидравлическую проводимость пути через мембраны клеток (осмотическая гидравлическая проводимость). При наличии градиента гидростатического давления, который на уровне целого растения поддерживается за счет транспирации, поток воды может идти также и через апопласт (гидростатическая гидравлическая проводимость). В эксперименте градиент гидростатического давления создается путем выдавливания ксилемного сока из корней с помощью положительного давления или, наоборот, - путем его отсасывания под вакуумом (Jackson, 1993, Veselova et al., 2005). Сравнение результатов, полученных при измерении осмотических и гидростатических потоков воды в растении, показало, что в первом случае гидравлическое сопротивление у большинства растений выше, чем во втором (Steudle, 2000). Поскольку в первом случае доминирует транспорт через мембраны клеток, а во втором присутствует апопластный компонент, эти результаты свидетельствуют о более высокой гидравлической проводимости апопластного пути в корнях молодых растений кукурузы, с которыми проводились эти эксперименты. Опираясь на эти соображения, Е. Штедле объяснил возрастание гидравлической проводимости у транспирирующих растений тем, что транспирация создает гидростатический градиент в растениях и тем самым активирует апопластный путь, который отличается высокой гидравлической проводимостью (Steudle, 2000). Таким образом, сравнение данных по осмотической и гидростатической проводимости позволяет оценить вклад апопластного пути и пути от клетки к клетке в транспорт воды у растений. Чем больше разница между ними, тем выше доля апопластного пути (Bramley et al., 2007). Такое сравнение пока проводилось лишь для ограниченного числа видов растений. Например, до начала наших исследований не было таких данных по растениям

пшеницы. А ведь такого рода информация очень важна для понимания особенностей регуляции водного обмена у растений разных видов. Предположение о том, что возрастание доли апопластного пути у транспирирующих растений является причиной повышения гидравлической проводимости с увеличением транспирационного запроса - важная часть композитной теории (Steudle, 2000), ставшей достаточно популярной. Вместе с тем, появились данные о циркадном ритмике экспрессии генов, кодирующих водные каналы в мембранах (аквапорины), и совпадении повышения уровня экспрессии с периодом высокой скорости транспирации. Эти результаты указывают на то, что регуляция гидравлической проводимости на пути от клетки к клетке может иметь большое значение не только в отсутствие транспирации, но и в транспирирующих растениях. Регуляция проницаемости мембран для воды должна быть особенно важной у таких растений, у которых путь от клетки к клетке в транспирирующих растениях сопоставим по значимости с апопластным.

Исследователи, занимающиеся водным обменом у растений, долго не могли поверить, что специализированные водные каналы существенно влияют на проницаемость мембран для воды, поскольку мембрана сама по себе проницаема для таких небольших молекул (Henzler et al., 1999). Только после того, как было показано, что экспрессия генов основных (intrinsic) мембранных белков в гетерологичной системе (ооциты лягушек) резко увеличивает их проницаемость для воды (Preston et al., 1992), началось серьезное изучение роли аквапоринов в водном обмене растений. В настоящее время описаны семейства генов аквапоринов у многих видов растений, изучены структура и функции кодируемых ими белков (Maurel et al., 2008). Проницаемость мембран для воды зависит от количества водных каналов, которое может регулироваться на уровне экспрессии соответствующих генов, а также от их активности (Lu, Maurel, 2005; Дустанматов, Жолкевич, 2008; Maurel et al., 2008; Vysotskaya et al., 2010; Naches et al., 2012). На активность аквапоринов влияет степень фосфорилирования гидроксильных радикалов остатков серина в определенном положении молекулы (Kaldenhoff, Fischer, 2006). Кроме того, их активность зависит от присутствия сульфгидрильных групп цистеина, связывание или окисление которых приводит к закрытию водных каналов (Nachez et al., 2006). Представляет интерес то, что абсцизовая кислота оказывает влияния на уровень экспрессии генов и фосфорилирования некоторых белков аквапоринов (Kaldenhoff et al., 2008).

Изменение устьичной и гидравлической проводимости может происходить в растениях достаточно быстро. Наряду с быстрыми

физиологическими реакциями важное значение в адаптации растений к дефициту воды имеют более медленные реакции, обусловленные изменением скорости роста растений.

Регуляция роста растений при дефиците воды

Дефицит воды и гормоны

Характерная ростовая реакция растений на дефицит воды – торможение роста побега и относительная активация роста корней. В результате происходит снижение соотношения масс побега и корня под влиянием дефицита воды, что помогает растению экономить воду за счет уменьшения транспирирующей поверхности листьев и способствует повышению поглотительной способности корней. Как уже упоминалось выше, изменение роста побега и корня происходят согласованным образом, что указывает на существование некой системной регуляции ростового ответа растений.

Рост и водный обмен тесно взаимосвязаны. Это проявляется не только в зависимости водного баланса от развития корневой системы, но и в обратном влиянии показателей водного обмена на рост растений. Одно из недавно открытых загадочных явлений – влияние уровня гидравлической проводимости на рост корневой системы. У трансгенных растений, у которых накопление аквапоринов подавлялось из-за экспрессии антисмысловых последовательностей (Kaldenhoff, Fischer, 2006), наблюдали бурное развитие корневой системы. Физиологическое значение разрастания корней понятно: оно призвано компенсировать низкую гидравлическую проводимость у дефектных по аквапоринам растений. Совершенно не понятно, каким образом снижение гидравлической проводимости приводит к активации роста корней. Приблизить нас к пониманию этой проблемы поможет выяснение механизма регуляции роста растений при дефиците воды.

Предполагается, что согласованную регуляцию роста побега и корня при дефиците воды может осуществлять АБК (Charin, 1988). Способность АБК ингибировать рост клеток растяжением была обнаружена еще в самом начале изучения данного гормона растений (Wright, Hiron, 1969). Необходимо отметить, что механизм ростингибирующего действия АБК до сих пор остается неясным. Поскольку АБК действует на растяжение клеток как антагонист ауксинов, которые вызывают разрыхление клеточных стенок через активацию транспортных АТФаз плазмолеммы (Hager, 2003), логично предполагать, что АБК подавляет активность мембранных АТФаз и тем самым уменьшает выброс ионов водорода в клеточные стенки, что делает их более жесткими. Однако к условиям солевого стресса было обнаружено активирующее действие АБК на мембранные АТФ-азы (Janicka-Russak, Grazyna-Klobus, 2007). Тем не менее, ростингибирующее действие АБК, выявленное в модельных

экспериментах с отрезками колеоптиля и гипокотыля, позволяло предполагать, что ее накопление, характерное для растений, испытывающих дефицит воды, может способствовать торможению роста побега (Charin, 1988). Но как объяснить преимущественный рост корней на фоне дефицита воды? Эксперименты с экзогенной АБК показали, что этот гормон по-разному влияет на рост побега и корня (Yin et al., 2004). Торможение роста корней под влиянием АБК проявлялось в меньшей степени, чем у побега, что приводило к снижению соотношения массы побега и корня у обработанных этим гормоном растений (тот же самый эффект, что и у растений, испытывающих дефицит воды). На основании такого рода результатов и возникла идея о том, что преимущественный рост корней на фоне дефицита воды связан с накоплением АБК.

Следующий шаг в изучении действия АБК на рост корней при дефиците воды был сделан исследователями под руководством Р. Шарпа. На основании опытов с растениями, обработанными ингибитором синтеза АБК флуридоном, ими был сделан вывод о том, что АБК поддерживает рост корней при дефиците воды (Saab et al., 1990). В этих опытах были подобраны условия, при которых дефицит воды вызывал не просто относительную, но абсолютную активацию роста корней. Ими было также показано, что этот эффект отсутствовал у обработанных флуридоном растений.

Изучение реакции на дефицит воды у нечувствительных к этилену мутантных растений и продукции этилена у дефицитных по АБК мутантов показало, что АБК подавляет синтез этилена, и что это снижение продукции этилена может быть механизмом, обеспечивающим поддержание роста корней при дефиците воды (Sharp, LeNoble, 2002). Способность этилена тормозить рост корней – одно из классических свойств данного гормона, которое было выявлено при изучении процесса прорастания семян у двудольных растений (Pierik et al., 2007). Эти результаты позволили предположить, что АБК поддерживает рост корней, подавляя синтез этилена.

Взаимодействие этилена и АБК в регуляции роста побега и корней при дефиците воды указывает на то, что эта ростовая адаптивная реакция растений является результатом множественной гормональной регуляции. Снижение концентрации цитокининов, обнаруженное при действии на растения ряда неблагоприятных факторов (Hare et al., 1997), также может быть фактором регуляции ростового ответа. Ауксины также могут играть определенную роль в адаптации растений к дефициту воды. На этот счет в литературе крайне мало сведений. Но рострегулирующая функция ауксинов и их антагонистическое с АБК действие на рост растений в модельных опытах с отрезками колеоптилей

и гипокотилей свидетельствует о перспективности изучения роли эндогенных ауксинов в ростовой реакции растений. Тем более что недавно была выявлена способность ауксинов воздействовать на экспрессию генов экспансинов, которые необходимы для растяжения клеточной стенки (Cosgrove et al., 2002; Takahashi et al., 2006).

Суммируя все сказанное в этом разделе о сигналах, обеспечивающих координацию процессов при ответе растений на дефицит воды, можно заметить, что лучше всего в этом плане изучена роль АБК. Изменение притока АБК из подсыхающих верхних слоев почвы приводит к закрытию устьиц в отсутствие гидравлических сигналов, т.е. тогда, когда из нижних слоев почвы в растение поступает достаточное количество воды. В этих условиях приток АБК является опережающим сигналом. Он предупреждает растения о предстоящей засухе и позволяет растению подготовиться к ней. Также есть аргументы в пользу того, что АБК может регулировать приспособление к дефициту воды, обеспечивая преимущественный рост корней. Вместе с тем, существуют данные, которые указывают на необходимость изучения сигнальной функции других гормонов, и, прежде всего, цитокининов при дефиците воды. Изучение взаимодействия разных гормонов позволит получить более ясную картину регуляции ответа растений на внешние воздействия.

Транспорт и перераспределение цитокининов

Важная проблема в изучении механизма регуляции концентрации цитокининов заключается в том, что до сих пор не до конца ясно, где синтезируется основная часть цитокининов, и в какой мере уменьшение их притока из одного органа в другой может восприниматься органом мишенью в качестве сигнала. Предположение о том, что цитокинины могут выступать в роли дистанционного сигнала, базировалось на том, что они были найдены в ксилемном соке различных растений (Kuroha et al., 2002). Цитокинины были обнаружены и во флоэме многих видов растений (Baker, 2000).

Транспорт цитокининов, синтезированных в кончике корня, осуществляется в составе ксилемного сока вместе с другими метаболитами. При этом считалось, что основными транспортными формами цитокининов в ксилемном соке являются зеатин и его рибозид, однако в дальнейшем появились сообщения о наличии в корневом экссудате свободных оснований, риботидов, глюкозидов, уровень которых зависел от индивидуальных растений и видов (Incoll et al., 1990). Анализ экспрессии генов *CYP735A1* и *CYP735A2* показал, что *CYP735A2* преобладающе экспрессируется в корнях и слабо - в

надземных частях (Takei et al., 2004). Эти результаты доказывают, что корни – главное место продукции циткининов, и что они могут играть важную роль в акропетальном сигналинге корень-побег. Измерения содержания цитокининов в ксилемном и флоэмном соке *Arabidopsis* подтверждают эту мысль. Появились данные о том, что с флоэмным соком преимущественно транспортируются цитокинины изопентениладенинового типа (Romanov et al., 2006). В настоящее время биологическое значение компартментации зеатинового и изопентениладенинового типа цитокининов в ксилеме и флоэме пока не ясно. Пролить свет на эту проблему может информация о преимущественном связывании цитокининов рецепторами, локализованными в разных частях растения. Так, известно, что у растений арабидопсиса имеется, по меньшей мере, три рецептора: ANK2, ANK3 и ANK4/CRE1/WOL. Исследования аффинных свойств рецепторов с использованием *Escherichia coli* экспрессирующей системы показали, что ANK3 и ANK4/CRE1/WOL имеют близкий коэффициент связывания с транс-зеатином, а ANK3 рецептор имеет намного ниже сродство к изопентениладенину чем ANK4/CRE1/WOL (Spichal et al., 2004; Romanov et al., 2006). При этом ANK3 экспрессируется преимущественно в побегах, а ANK4/CRE1/WOL – преимущественно в корнях. Поэтому логично предположить, что цитокинины флоэмы могут функционировать как базипетальный или системный сигнал.

Результаты исследований с мутантами в качестве привоя и подвоя также показали, что состав цитокининов ксилемного сока может зависеть от дистанционного сигнала, который передается от побега к корню (Beveridge et al., 1997; Foo et al., 2007). Еще один аргумент в пользу этого предположения, это наличие *rms4* мутанта растений гороха, который характеризовался повышенным ветвлением побега, но имел низкую концентрацию зеатинрибозидов в ксилемном соке (Beveridge et al., 1997).

Предполагается также, что возможен обмен цитокининами между ксилемой и флоэмой (Baker, 2000). Поскольку хорошо установлено, что основным цитокинином ксилемного сока многих растений является зеатинрибозид (Dieleman et al., 1997), трудно объяснить факт преобладания во флоэме некоторых видов растений цитокининов изопентениладенинового типа (Komor et al., 1993). Не исключено, что возможен и очень медленный базипетальный транспорт цитокининов по паренхиме (Jackson, 1993).

Около 10 лет назад не вызывало сомнений, что основная часть цитокининов поступает в побег из корней (Horgan, 1992). Это мнение базировалось на экспериментах, первые из которых были сделаны проф.

О.Н. Кулаевой (1962). В них было показано, что удаление корней приводит к быстрому старению листьев, которое проявляется в распаде хлорофилла, а обработка листьев синтетическими цитокининами задерживает их старение. Эти результаты интерпретировали следующим образом. Было сделано заключение, что цитокинины синтезируются в корнях, и именно поэтому удаление корней приводит к появлению симптомов дефицита гормона в листьях. В принципе такая интерпретация результатов является классической для эндокринологии, где также принято удалять орган, в котором предположительно синтезируется гормон, а затем наблюдать за симптомами и пытаться нивелировать их путем введения гормона извне.

Многочисленные эксперименты показали, что содержание цитокининов в растениях зависит от доступности элементов минерального питания (прежде всего азота и фосфора) и снижается при их дефиците (Kuiper, 1988, Кудоярова и др., 1999).

Было замечено сходство в действии на растения нитрата и цитокинина. Как тот, так и другой стимулировали синтез хлорофилла и ферментов, участвующих в фотосинтезе и метаболизме азота, активировали деление и растяжение клеток листа и т.д. (Franco-Zorrilla et al., 2004; Sakakibara, 2006). Сравнительное изучение генов, индуцируемых нитратом и цитокининами, также обнаружило много совпадений. В результате возникло предположение о том, что цитокинины могут участвовать в нитратном сигналинге. Было показано, что гены, активность которых в листьях растений кукурузы повышается при действии нитратов на корни, не отзываются на них в случае их действия на изолированные листья, но активируются под влиянием цитокининов. На основе этих экспериментов была предложена схема нитратного сигналинга, основанная на том, что нитраты предположительно активируют синтез цитокининов и их освобождение из связанных форм (О-глюкозидов) в корнях растений кукурузы, затем гормоны поступают в листья, где индуцируют экспрессию соответствующих генов «отзывчивых на нитраты» (nitrate response).

Вместе с тем, в литературе постоянно появлялись данные о том, что побег также может быть местом синтеза цитокининов (Chen et al., 1985). Оказалось, что у растений некоторых видов симптомы старения изолированных листьев можно предотвратить, обрабатывая их соединениями азота (Singh et al., 1992). Кульминацией попыток доказать, что побег не нуждается в цитокининах, синтезируемых в корнях, оказались результаты изучения экспрессии *IPT*-генов у растений арабидопсиса (Miyawaki et al., 2004). Была обнаружена экспрессия этих генов не только в корнях, но и листьях, а также других частях побега.

Однако способность органа синтезировать гормон еще не означает, что он полностью автономен и не зависит от поступления гормона извне.

Знание о том, что побег способен синтезировать цитокинины, изменило представление о том, как может то или иное воздействие влиять на содержание цитокининов в растениях.

Оказалось, что в отличие от растений кукурузы, у растений арабидопсиса соединения азота могут индуцировать экспрессию *IPT*-генов в изолированных листьях (Miyawaki et al., 2004).

Для того чтобы определить степень зависимости побега от цитокининов, поступающих в побег из корней, нужно сравнить количество гормона, которое поступает в побег с ксилемным соком, с уровнем его содержания в побеге. Такого рода исследования в случае цитокининов практически не проводились. Для описания поступления гормонов из корней используют термины *delivery* (доставка) или *flow* (приток, поток). Как упоминалось выше, приток цитокининов из корней нужно рассчитывать, как произведение концентрации гормона в ксилемном соке на скорость транспирационного потока (Else et al., 1995, 2006). Существует много способов сбора ксилемного сока. Так, его собирают из «пенька», который остается после удаления побега, из черешка, оставшегося прикрепленным к стеблю после удаления листа, или из самого отделенного листа. Для получения ксилемного экссудата его или выдавливают, прикладывая положительное давление к корням или листу, или отсасывают, создавая вакуум (рис. 1).

Поскольку флоэмные сосуды быстро закупориваются каллозой при повреждении, собранный таким образом раствор содержит только ксилемный сок при условии, что применяемое давление не разрушает клетки. В экспериментах с экзогенными мечеными гормонами было показано изменение спектра цитокининов в ксилемном соке в процессе их транспорта из корней в лист (Zhang et al., 2002). Кроме того, концентрация цитокининов в соке, полученном из листа, выше, чем в соке, поступающем в лист из стебля и корней. По этой причине использование концентрации цитокининов в ксилемном соке для расчета притока гормона из корней может привести к его завышению. При оценке концентрации компонентов в соке из стебля или корней важно, чтобы скорость экссудации соответствовала скорости транспирационного потока интактного растения. В противном случае концентрация веществ в ксилемном соке будет резко отличаться от истинной. Соблюдать это условие довольно трудно. Предлагалось собирать ксилемный сок при разных уровнях давления и, соответственно, скорости потока, подбирая те величины, которые соответствуют транспирационному потоку интактного растения (Jackson, 1993). Однако это резко увеличивает объем работы. Таким

образом, выбор адекватного метода оценки притока цитокининов из корней – сложная и важная задача.

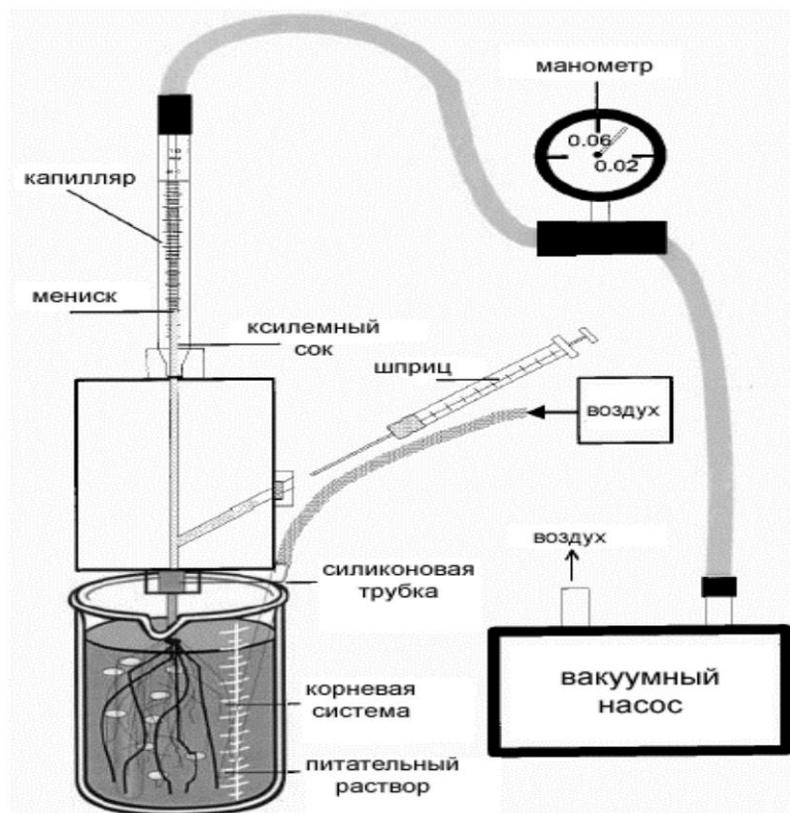


Рис. 1 Схема установки для сбора ксилемного сока под вакуумом

Необходимо отметить ряд проблем в понимании того, как может регулироваться поступление цитокининов из корней и, соответственно, осуществляться их сигнальная функция. В литературе довольно широко распространено мнение о том, что поступление гормонов из корней зависит от скорости транспирационного потока. Очевидно, что именно ксилема является транспортной магистралью, по которой цитокинины попадают в побег. Однако связь между скоростью транспирационного потока и притоком цитокининов из корней не так очевидна, как может показаться. При обсуждении возможной роли цитокининов в качестве

корневых сигналов отмечалось (Jackson, 1993), что в основном исследования в этой области ограничиваются определением концентрации цитокининов в ксилемном соке. При этом не принималась во внимание скорость потока, с которым цитокинины поступают в побег. Как и в случае АБК, который обсуждался выше, истинным корневым сигналом должна быть скорость притока гормонов из корней, т.е. их количество, поступающее в побег за единицу времени. Этот показатель, как уже отмечалось, рассчитывается как произведение концентрации гормона в ксилемном соке на скорость транспирационного потока. Проведение таких расчетов создает иллюзию зависимости притока гормона от его концентрации. На деле количество поступающих в побег цитокининов за единицу времени зависит (по закону сохранения вещества) не от скорости движения воды, а от того, какое количество гормона загружается в ксилему в корнях. Концентрация же цитокининов зависит от того, в каком количестве ксилемного сока разбавляются цитокинины. При неизменном количестве цитокининов, которые загружаются в ксилемные сосуды в корнях, их концентрация в ксилемном соке должна возрастать при снижении скорости транспирационного потока и снижаться при его возрастании. В первом случае происходит концентрирование вещества в меньшем по объему транспирационном потоке, а во втором – его разбавление. Влияние скорости транспирации на приток цитокининов в принципе возможно, но оно должно быть опосредовано через ее влияние на загрузку гормонов.

Разработанный М. Jackson (Jackson, 1993) принцип анализа потоков гормонов из корней противостоит другому довольно распространенному и, по-видимому, ошибочному мнению. Так, N. Holbrook и M. Zwieniecki (Holbrook, Zwieniecki, 2003) пытались объяснить влияние затопления на распределение предшественника этилена между побегом и корнем тем, что затопление снижает гидравлическую проводимость корней и, соответственно, уменьшает скорость транспирационного потока, что, по их мнению, изменяет скорость притока гормонов в побег. В экспериментах с охлаждением корней концентрация цитокининов в ксилемном соке не снижалась, а приток уменьшался (Veselova et al., 2005). Формально эти результаты опять выглядят так, как будто приток цитокининов снижался в результате уменьшения скорости транспирации. На самом деле при данном воздействии причина падения притока цитокининов заключалась не в уменьшении скорости транспирационного потока, а в угнетении синтетической активности корней при низкой температуре (около 6 °С). При этом пропорциональное снижение уровня загрузки цитокининов в корнях и скорости транспирационного потока поддерживало на уровне

контроля концентрацию зеатина и его рибозида в ксилемном соке растений пшеницы. Поскольку цитокинины могут влиять на скорость транспирации через регуляцию устьичной проводимости, скорее можно говорить о том, что приток цитокининов влияет на транспирацию, а не скорость транспирации – на приток цитокининов из корней.

Из приведенных примеров видно, что, хотя расчет притока цитокининов основывается на определении скорости транспирационного потока, это не всегда означает зависимость притока от скорости транспирации. Скорее от скорости транспирации зависит концентрация цитокининов в ксилемном соке. При неизменном количестве цитокининов, экспортируемых из корней, их концентрация возрастает со снижением скорости транспирационного потока и снижается с его увеличением (в результате меньшей и большей степени разведения, соответственно). Результаты, полученные при охлаждении корней, свидетельствуют (Veselova et al., 2005), что приток цитокининов в побег зависит, прежде всего, от способности корней производить цитокинины и экспортировать их в побег. Таким образом, концентрация цитокининов в ксилемном соке зависит от двух факторов: количества экспортируемых корнями цитокининов (прямая зависимость: чем больше приток цитокининов из корней, тем больше их концентрация) и скорости транспирации (обратная зависимость: чем выше скорость транспирации, тем меньше концентрация цитокининов в ксилемном соке).

Вместе с тем, в некоторых случаях было обнаружено, что увеличение транспирации сопровождается возрастанием притока цитокининов из корней (Веселова и др., 2006). Это наблюдалось при повышении температуры воздуха на 3-4 °C в отсутствие ветра. При этом одновременно возрастала концентрация цитокининов в ксилемном соке. Это происходило так быстро (через 5 минут после повышения температуры), что представлялось маловероятным, что его причиной могло быть возрастание синтеза цитокининов в корнях. Скорее в этом случае подходит объяснение W. Hartung с соавторами (Hartung et al., 2002). Они предположили, что гормоны могут скапливаться в корнях, предположительно, в области поясков Каспари за счет низкой проницаемости суберина и лигнина, и что возрастание транспирационного потока может вымывать вещества из корней. Таким образом, увеличение притока цитокининов с увеличением скорости транспирации можно объяснить тем, что высокая скорость транспирационного потока приводит к увеличению загрузки цитокининов в ксилему.

Тем не менее, возрастание транспирационного потока под влиянием повышения температуры не всегда сопровождалось

увеличением притока гормонов из корней. Воздействие небольшого (на несколько °С) повышения температуры в сочетании с ветром приводило к резкому (в 4 раза) возрастанию транспирационного потока (Farhutdinov et al., 1997). При этом содержание цитокининов в побеге не увеличивалось, а снижалось, что свидетельствует об уменьшении притока цитокининов из корней. Одновременно в корнях происходило накопление гормона. Каким же образом цитокинины могли задерживаться в корнях при возрастании скорости потока ксилемного сока из корней, вызванного повышением температуры в сочетании с ветром? При данном воздействии в корнях происходило превращение зеатина и его рибозида в их N-глюкозиды. Хотя гликозиды присутствуют в ксилемном соке (Kuroha et al., 2002), превращение зеатина в его глюкозиды и их накопление в вакуолях могло быть причиной снижения экспорта цитокининов из корней. По всей видимости, растения обладают механизмом, способным противостоять механическому «вымыванию» цитокининов из корней. Глюкозилирование цитокининов снижает их выход из клеток и загрузку в ксилему и может быть тем механизмом, который регулирует их отток в побег.

Некоторые исследователи подвергали сомнению регуляторную роль гормонов при изменении внешних условий на основании того, что приток гормонов из корней является пассивным следствием изменения скорости транспирации под влиянием внешних условий (освещенности, температуры и ветра) (Canny, 1985). Однако анализ данных литературы свидетельствуют о том, что количество цитокининов, которое получит побег из корней, зависит, прежде всего, от способности корней продуцировать цитокинины и загружать их в ксилему. Изменение притока цитокининов из корней определяется не только внешними условиями, но и характером реакции на них самого растения. Для более ясного понимания сигнальной функции цитокининов требуется дальнейшее изучение механизма регуляции транспорта цитокининов.

Как упоминалось выше, обнаруженная способность листьев синтезировать цитокинины (Chen et al., 1985; Miyawaki et al., 2004) позволила ряду авторов предположить, что побег не зависит от поступления этих гормонов из корней (Faiss et al., 1997). Для того чтобы проверить, действительно ли это так, важно проследить, как влияет изменение притока цитокининов из корней на содержание гормонов в побеге.

При повышении температуры воздуха без ветра содержание цитокининов в побеге возрастало через 30 мин в 2 раза (Веселова и др., 2006). При этом в такой же мере возрастал их приток из корней. Такая четкая пропорциональность позволяет предполагать, что прирост уровня цитокининов в побеге связан с увеличением их экспорта из корней. Тем

не менее, возможно и другое объяснение. Поскольку воздействию подвергался побег, можно было думать, что под влиянием температуры воздуха возрастал синтез цитокининов в побеге, откуда они поступали в корни по флоэме, а затем уже – в ксилему. В результате такой рециркуляции цитокининов мог возрастать их уровень в ксилемном соке. Из литературы известно, что цитокинины могут транспортироваться по флоэме (Vaker, 2000). Оценивать флоэмный транспорт цитокининов так же, как и других веществ, довольно сложно, поскольку повреждение флоэмных сосудов приводит к их быстрой закупорке. Тем не менее, внимательный анализ результатов определения потока цитокининов по ксилеме при повышении температуры воздуха исключает флоэмный транспорт цитокининов из побега как источник повышенного уровня гормона в ксилемном соке (Веселова и др., 2006). Дело в том, что для сбора пасоки отрезали побеги. Через 5 мин после повышения температуры воздуха ксилемный сок собирали из изолированных корней, куда уже не могли поступать цитокинины из побега. И, тем не менее, даже после 5-минутной экспозиции интактных растений при повышенной температуре воздуха приток цитокининов из корней возрастал. За это время необходимое количество цитокининов не могло успеть транспортироваться из побега в корень по флоэме. Результаты этих опытов указывают на то, что возрастание притока цитокининов из корней происходило не за счет рециркуляции цитокининов, поступающих из побега, а за счет собственных корневых цитокининов. Еще одним свидетельством о том, что источником повышения уровня цитокининов в побеге, скорее всего, были корни, является анализ динамики содержания гормонов. В течение 15 минут после воздействия их содержание в корнях падало, а поток цитокининов в побег возрастал. При этом в наибольшей степени снижалось содержание в корнях рибозидов цитокининов, которые считаются транспортными формами гормона. Как было упомянуто выше, предполагалось (Hartung et al., 2002), что увеличение скорости транспирационного потока может вымывать гормоны из корней.

Роль корней в обеспечении побега цитокининами также прослеживается в экспериментах с повышением температуры питательной среды (Митриченко, 1999). Данное воздействие повышало содержание цитокининов как в побегах, так и в корнях, что легко объяснить прямым активирующим влиянием температуры на синтез цитокининов в корнях. На возможную активацию синтеза цитокининов при повышении температуры питательного раствора указывает общее повышение содержания цитокининов во всем побеге растений при данном воздействии. Представляет интерес то, что через час содержание цитокининов в побеге снижалось на фоне высокого содержания

гормонов в корнях. Это могло быть следствием как снижения их притока из корней, так и активации распада цитокининов в побеге.

Возможная роль окисления цитокининов в регуляции их концентрации явно проявилась в экспериментах с охлаждением зоны корней молодых растений пшеницы (Veselova et al., 2005). В этих опытах наблюдали очень быструю гормональную реакцию. Ее высокая скорость могла быть следствием как интенсивности самого воздействия (охлаждение питательного раствора за несколько минут путем добавления кусочков льда в питательный раствор), так и более высокой скорости обмена гормонов у молодых растений пшеницы. Наблюдения проводились в динамике, что позволило установить последовательность отдельных событий при данном воздействии. Уже через 15 мин после начала охлаждения корней содержание цитокининов в побеге уменьшилось в 3 раза, а через 30 минут их было уже в 4 раза меньше по сравнению с исходным уровнем. При этом приток цитокининов из корней уменьшился в меньшей степени: за 15 мин – лишь на 30 %, а за 30 мин - в 2 раза. Таким образом, охлаждение корней приводило к более значительному уменьшению уровня гормона в побеге, чем его притока из корней. Можно было предполагать, что охлаждение корней активировало распад гормона в самом побеге. Это предположение подтвердили результаты определения *in vitro* активности цитокининоксидазы. Активность фермента, выделенного из побега растений с охлажденными корнями, была выше, чем в контроле. Следовательно, активация фермента могла привести к ускорению распада цитокининов и, в сочетании с уменьшением притока гормона из корней, - вызвать резкое падение уровня гормона в побеге.

Что могло быть сигналом для активации цитокининоксидазы в побеге при охлаждении корней? Как упоминалось выше, высокая скорость распространения характерна не только для электрических, но и гидравлических сигналов (Malone, 1993). Охлаждение корней приводило к снижению относительного содержания воды (ОСВ) в побеге. Это происходило потому, что при охлаждении снижалась гидравлическая проводимость корней более чем в два раза и, соответственно, уменьшался приток воды. Данные литературы указывают на то, что засуха увеличивает экспрессию генов цитокининоксидаз (Brugiere et al., 2003) и активность кодируемого ими фермента. Следовательно, активность цитокининоксидазы в побегах растений могла возрасти благодаря снижению ОСВ при охлаждении корней. Падение водного потенциала приводит к снижению тургора, что воспринимается механорецепторами (Xiong, Zhu, 2002). Показано, что падение тургора может активировать синтез АБК (Pierce, Raschke, 1980). При дефиците воды изменяется также осмотический потенциал, что воспринимается

осмосенсорами (Luan, 2002). Сравнение осмосенсоров дрожжей и рецепторов цитокининов из растений арабидопсиса, показало сходство их структурной организации и высокий уровень гомологии доменов. Рецепторы цитокининов оказались способными выполнять функцию осмосенсоров при их экспрессии в клетках дрожжей (Reiser et al., 2003). Хотя еще не удалось доказать, что рецепторы цитокининов выполняют функцию осмосенсоров у растений, такое предположение не лишено оснований. Кроме того, показано, что взаимодействие цитокининов с рецепторами приводит к повышению уровня экспрессии ряда генов и в том числе тех из них, которые кодируют цитокининоксидазу (Kiba et al., 2005, 2011). Таким образом, вполне можно предполагать, что дегидратация может восприниматься рецепторной системой, активирующей цитокининоксидазы. Активация цитокининоксидазы под влиянием небольшого дефицита воды может усиливать гидравлический сигнал благодаря активации распада цитокининов и снижению содержания гормонов.

Таким образом, при разнообразных внешних воздействиях наблюдается быстрое изменение как общего содержания цитокининов в растениях, так и их распределения между побегом и корнем, а также между разными частями растений. При многих неблагоприятных воздействиях происходило снижение содержания цитокининов. Это может осуществляться как благодаря регуляции транспорта цитокининов из места их синтеза в другие органы, так и за счет изменения характера метаболизма этих гормонов в самом органе-мишени. Нельзя не отметить, что эти данные немногочисленны, зачастую противоречивы, поэтому дальнейшее изучение метаболизма и транспорта цитокининов в изменяющихся условиях внешней среды остается актуальным.

Регуляция роста растений при дефиците питания

Дефицит минерального питания и гормоны

В естественных условиях обитания растения часто испытывают недостаток элементов минерального питания, и приспособление к их дефициту становится условием выживания растений. Одним из важных механизмов адаптации растений к недостатку минеральных веществ является относительная активация роста корней, что обеспечивает выживание растений при дефиците ионов в почве. Большое внимание при этом уделялось гормональной регуляции ростового ответа растений (Charin, 1990; Кудоярова и др., 1999; Sharp, LeNoble, 2002). Было показано, что недостаток в почве, как ионов, так и воды приводит к снижению содержания цитокининов и накоплению АБК в растениях (Кефели и др., 1989; Жолкевич, Пустовойтова, 1993). Известно, что цитокинины активируют рост побега и тормозят рост корней в длину (Блохин, 1986; Веck, 1996). Это дало основание предполагать, что снижение содержания цитокининов в растении при дефиците воды и ионов в почве может способствовать относительной активации роста корней. Данные литературы позволяют также предполагать, что накопление АБК может способствовать преимущественному росту корней (Charin, 1990; Teplova et al., 1998).

Рядом исследователей было показано, что накопление цитокининов тесно связано с минеральным статусом растения, и что эти гормоны могут выступать сигналом о доступности азота и других минеральных веществ (Кудоярова, Усманов, 1989; Takei et al., 2001). Метаболизм и транспорт цитокининов может изменяться в зависимости от статуса азотного питания.

Недостаток минеральных веществ в корнеобитаемой среде приводит к снижению содержания цитокининов в тканях растений (Salama, Wareing, 1979; Sakakibara et al., 1998). Так, разбавление питательного раствора в 50 раз уже через сутки приводило к значительному уменьшению концентрации этих гормонов в побегах и корнях (Kuiper et al., 1988). В растениях снижалось содержание как свободного зеатина, так и его рибозида. Уменьшение содержания цитокининов в наибольшей степени наблюдали при недостатке азота (Kuiper et al., 1988; Groot et al., 2010), фосфора (Kuiper et al., 1988; Groot et al., 2010), кальция (Kuiper et al., 1988). Наиболее выраженным эффект был в случае дефицита азота. Вместе с этим, недостаток минеральных веществ в питательной среде приводил к повышению содержания АБК в побегах и корнях (Кудоярова и др., 1993; Palmer et al., 1996). Однако в некоторых исследованиях значительного увеличения АБК в тканях в

ответ на недостаток азота не наблюдалось, но было зарегистрировано повышение содержания этого гормона в ксилемном соке (Brewitz et al., 1995).

Так как корни, как и предполагали, являются главным местом синтеза цитокининов в растениях (Incoll et al., 1990), вовлечение этих гормонов при корневом стрессе способствует распространению сигнала, и поток цитокининов из стрессированных корней действительно менялся, хотя не во всех экспериментах (Hare et al., 1997). Способность цитокининов индуцировать экспрессию нескольких генов в ответ на нитратное воздействие, предполагает, что трансдукция сигнала о содержании азота опосредована цитокининами, синтезируемыми в корнях (Sakakibara et al., 2007). Однако в арабидопсисе активация экспрессии *IPT*-генов, отвечающих за синтез цитокининов в растениях, происходит при действии нитратов непосредственно на побег (Miyawaki et al., 2004).

Роль цитокининов в регуляции соотношения массы побег/корень при дефиците минерального питания

Дефицит ионов так же, как и дефицит воды сопровождается относительной активацией роста корней и торможением роста побега (Данилова, 1965; Kuiper, Staal, 1987). Адаптивное значение этой реакции очевидно: она обеспечивает экономию ограниченных ресурсов за счет снижения скорости роста побега и их перераспределение в корни, необходимое для поддержания их роста и формирование поглощающей поверхности. Ингибирование роста листьев, снижающее транспирационные потери, также может иметь адаптивное значение при дефиците ионов, поскольку по некоторым данным недостаток элементов минерального питания может сопровождаться снижением тургора из-за дефицита воды (Radin, Boyer, 1982). Причиной этого эффекта могло быть снижение гидравлической проводимости растений, которую наблюдали при дефиците нитратов и фосфатов (Radin, 1981; Radin, Eidenbock, 1984). Показано также, что снижение гидравлической проводимости клеток корней при удалении из среды нитрат-ионов вызвано прекращением транспорта воды через водные каналы (аквапорины) (Clarcson et al., 2000) и может быть связано с закислением у поверхности корня (Ктитрова, Скобелева, 2008). Эти результаты дают основание предполагать, что ростовая реакция растений на дефицит ионов могла быть обусловлена гидравлическими сигналами. Однако проверке этого предположения не уделялось достаточно внимания до начала нашей работы.

Более широко в литературе обсуждается значение цитокининов в реакции растений на дефицит минерального питания (Goring, Mardanov 1988; Kuiper et al., 1988, Chapin, 1990). Как уже упоминалось, участие цитокининов в нитратном сигналинге связывают с повышением содержания этих гормонов в растениях под влиянием возрастания уровня нитратов в среде (Sakakibara et al., 2007). Была также обнаружена и обратная зависимость: их содержание в растениях падало параллельно с доступностью ионов (Kuiper et al., 1988).

До сих пор остается загадкой механизм изменения концентрации цитокининов в растениях при изменении уровня минерального питания. Есть основания предполагать, что он может быть неодинаковым у дву- и однодольных растений. Так, для растений кукурузы было показано, что под влиянием нитратов синтез цитокининов активируется в корнях, что является тем сигналом, который влияет на функционирование побега (Taniguchi et al., 1998). Сигнальную функцию корневых цитокининов подтвердили эксперименты с изолированными листьями, где цитокинины, но не нитраты индуцировали те гены, активность которых менялась при действии нитратов на целые растения. Вместе с тем, у растений арабидопсиса было показано повышение экспрессии *IPT*-гена при обработке нитратами изолированных листьев, что указывает на роль цитокининов, продуцируемых в листьях, в реакции растений на нитраты (Miyawaki et al., 2004). Еще менее понятен механизм генерации цитокининового сигнала при дефиците ионов. В некоторых экспериментах была показана зависимость реакции на дефицит ионов от поступления цитокининов из корней (Кулаева, 1962). В ряде опытов не было обнаружено изменения концентрации цитокининов в ксилеме при недостатке элементов минерального питания (Walch-Liu et al., 2005). Таким образом, механизм изменения содержания цитокининов под влиянием уровня минерального питания остается мало изученным.

Почему именно цитокинины привлекли к себе внимание при изучении реакции растений на дефицит элементов минерального питания? Дело в том, что их действие на растения прямо противоположно влиянию дефицита азота и других ионов: обработка растений экзогенными цитокининами стимулирует рост побега, но подавляет рост корней (Beek, 1996). Это давало основание предполагать, что снижение содержания в растениях цитокининов способствует торможению роста побега и активации роста корней, что как раз характерно для растений, испытывающих недостаток элементов минерального питания.

Подавление роста корней у растений наблюдали не только при обработке растений экзогенными цитокининами, но и при индукции *ipt*-

гена, контролирующего синтез цитокининов в растения (Kuderova et al., 2008). Дефицит цитокининов у трансгенных растений, наоборот приводит к относительной активации роста корней (Werner et al., 2003, 2010).

Ингибирующее действие цитокининов на рост какого бы то ни было органа, в принципе, должно вызывать удивление, поскольку цитокинины необходимы для деления клеток (Miller et al., 1956; Hartig, Beck, 2006). То, что они нужны для роста не только побега, но и корней, подтвердили наблюдения за мутантными растениями, у которых не функционировали нормально несколько известных цитокининовых рецепторов (Higuchi et al., 2004). Участие цитокининов в регуляции роста корней было показано с помощью синхронизированной культуры, что именно цитокинины необходимы для перехода клеток из одной фазы клеточного цикла в другую, после чего их концентрация должна снижаться (Redig et al., 1996). Почему же экзогенные цитокинины тормозят рост корней? Важно заметить, что неконтролируемая экспрессия *ipt*-гена цитокининов может привести к подавлению роста не только корней, но и побега (McKenzie et al., 1998). Такого рода результаты указывают на то, что причиной ростигибирующего действия цитокининов может быть не повышение их содержания у обработанных экзогенным гормоном растений (или при индукции *ipt*-гена), а нарушение процесса тонкой регуляции их концентрации самим растением. Ростигибирующее действие цитокининов может быть также следствием активации синтеза этилена под влиянием цитокининов (Cary et al., 1995). Эти результаты указывают на необходимость изучения взаимодействия разных групп гормонов для того чтобы понять механизм их действия на растения. Важную роль для регуляции адаптивных реакций может играть взаимодействие цитокининов и АБК. Одновременное снижение первого из этих гормонов и накопление второго – характерная особенность растений при многих стрессах (Nare et al., 1997). Накопление АБК происходит не только при дефиците воды, но и элементов минерального питания (Charpin et al., 1988). Нами уже обсуждалось значение накопления АБК для поддержания роста корней при дефиците воды (Saab et al., 1990). Тот же механизм может функционировать и при недостатке ионов, хотя этому вопросу уделялось меньше внимания. Частое совпадение накопления АБК со снижением содержания цитокининов указывает на возможную причинно-следственную связь между этими событиями. Сопоставление действия засухи и экзогенной АБК на экспрессию генов цитокиноксидазы позволило предположить, что накопление АБК при засухе может снижать содержание цитокининов в растениях через активацию цитокиноксидазы (Brugiere et al., 2003).

Регуляция ветвления корней

Ветвление корней – одна из наиболее важных адаптивных реакций, оптимизирующих процесс поглощения ионов и воды. Оно ярко проявляется при неравномерном распределении элементов минерального питания в почве: неоднократно наблюдали стимуляцию ветвления корней в очаге с повышенным содержанием ионов (Hodge, 2004; Walch-Liu et al., 2006). Механизм влияния концентрации ионов на ветвление корней остается загадкой. Но попытки разобраться в этой проблеме позволили выявить ряд фактов, которые указывают на существование обмена сигналами на уровне целого растения. Так, было показано, что локальное действие ионов отличается от действия ионов на целое растение: повышение концентрации нитратов в очаге стимулирует ветвление в нем корней, а общее повышение концентрации нитратов во всей среде корнеобитания подавляет удлинение боковых корней (Forde, 2002). На основании этих результатов возникла гипотеза о системном действии нитратов, предполагающая сигналинг на уровне целого растения.

Какие сигналы, передаваемые из органа в орган, могут обеспечивать регуляцию ветвления корней? Прежде всего, речь может идти об ауксинах. Их участие в регуляции ветвления не вызывает сомнений (Blakesley et al., 1991; Casimiro et al., 2001). Хотя по последним данным ауксины могут синтезироваться в самих корнях (Ljung et al., 2005), тем не менее, ряд исследований подтверждают участие ауксинов, поступающих из побега, в регуляции ветвления корня. Базипетальный транспорт ауксинов от клетки к клетке известен давно. Показано также, что ауксины могут транспортироваться в корни по флоэмным сосудам, разгружаясь в их терминалиях (Baker, 2000). Получены экспериментальные данные о том, что появление новых листьев сопровождается импульсами притока ауксинов в корни и закладкой новых корней (Bhalergao et al., 2002). Эти результаты позволяют объяснить обнаруженную зависимость ветвления от уровня освещенности (Salisbury et al., 2007). Это еще один яркий пример передачи сигналов из одной части растения в другую. Детальное изучение закладки примордиев боковых корней и последующей стимуляции их удлинения показало, что первый процесс скорее зависит от транспорта ауксинов из кончика корня, а второй – от их притока из побега (Marchant et al., 2000). Вместе с тем, утверждение, что ауксины, синтезируемые в корнях, обеспечивают закладку примордиев, а стимул для удлинения сформированных примордиев приходит из побега, представляется упрощенным. Источником накопления ауксинов в кончике корней могут также быть ауксины, поступившие из побега.

Было показано, что распределение ауксинов в корнях и их накопление в определенных сайтах зависит от пространственного расположения переносчиков ауксинов (Casson, Lindsey, 2003). Тем не менее, количество экспериментальных работ, в которых изучалось изменение уровня и распределения ауксинов в корнях в связи с изменением их ветвления, чуть ли не уступает количеству обзоров на эту тему. Большинство исследований базируется на использовании косвенных подходов, а не анализе уровня гормонов в растениях. Много допущений было сделано при анализе реакции растений с нарушением синтеза гормонов или гормонального сигналинга. Так, отсутствие ветвления корней в ответ на локальное повышение нитратов у ауксиновых мутантов до недавнего времени было единственным доказательством роли ауксинов в этой реакции (Forde, 2002). Только недавно появились данные о корреляции изменений уровня ауксинов в корнях с их ветвлением при локальном и тотальном воздействии ионов на корни (Walch-Liu et al., 2006; Иванов, 2009). Все это свидетельствует о необходимости дальнейших исследований роли ауксинов, синтезируемых в побеге и транспортируемых в корни, в качестве дальних сигналов, обеспечивающих взаимодействие побега и корня.

Сложности в интерпретации роли цитокининов в регуляции роста корней уже упоминались выше. Все сказанное в полной мере относится к действию цитокининов на ветвление. Мнение о том, что цитокинины подавляют ветвление корней широко распространено (Площинская и др., 2002). Вместе с тем, отмеченная необходимость цитокининов для регуляции перехода клеток корня от одной стадии клеточного цикла к другой (Hartig, Beck, 2006), ставит процесс формирования примордиев боковых корней в зависимость от цитокининов. Известно, что в корнях цитокинины распределены неравномерно (Brovko et al., 2007). Не исключено, что эта неравномерность в распределении цитокининов отражает их необходимость на определенных стадиях формирования боковых корней. Получение ответа на этот вопрос зависит от результатов дальнейшего изучения механизмов, определяющих регуляцию уровня цитокининов в разных частях корня.

Еще один гормон, роль которого в регуляции ветвления представляется достаточно важной, - это абсцизовая кислота. Некоторые данные литературы указывают на то, что она может выступать в качестве антагониста ауксинов в регуляции ветвления (Hooker, Thorpe 1998). Опять же эти выводы опираются на результаты опытов с мутантными растениями. На этот раз речь идет о мутантах с нарушением синтеза или чувствительности к АБК. У таких растений отсутствовало подавление удлинения боковых корней на фоне тотально высокой концентрации

нитратов, что указывало на участие АБК в ингибировании удлинения боковых корней (Signora et al., 2001). Несмотря на то, что время от времени появляются как экспериментальные работы, так и обзоры (Zhang et al., 2007; Fukaki, Tasaka, 2009; Kiba et al., 2011), посвященные роли гормонов и даже их взаимодействию в регуляции роста корней при разных условиях, очевиден явный дефицит данных в этой области исследований.

Растения способны координировать рост надземных органов и корня в изменяющихся условиях окружающей среды, что очень важно для формирования ассимилирующей и поглощающей поверхностей. По данным литературы, та или иная ростовая реакция растения может достигаться за счет различных механизмов в зависимости от характера внешнего воздействия и физиологического состояния растения. Важную роль в поддержании роста играют процессы, обеспечивающие восстановление баланса между поглощением и потерей воды. Вопрос о том, каким образом осуществляется выбор одного из альтернативных механизмов (увеличение гидравлической проводимости, обеспечивающей большой приток воды из корней, или снижение устьичной проводимости) не имеет однозначного ответа. В этой связи очень важно исследовать природу механизмов, задействованных в передаче сигналов по растению.

Исследованию гормональных сигналов в координации процессов в целом растении уделялось не мало внимания. И сегодня известно много примеров, доказывающих важную роль дальнего транспорта гормонов в регуляции процессов, протекающих в разных частях растения, но при этом остается очень много вопросов, связанных часто с противоречивостью экспериментальных данных. Особый интерес в этой связи представляют цитокинины. В одних экспериментальных системах показана их паракринная функция, в других – получены доказательства их системного действия. До настоящего времени недостаточно внимания было уделено роли поступающих из корней цитокининов в регуляции устьичной проводимости, хотя в качестве претендентов на роль корневых сигналов цитокинины рассматривались практически с момента их открытия. Не сняты также противоречия, связанные с их воздействием на рост корней. В этой связи, очевидно, важно изучать их взаимодействие с ИУК, АБК и нитратами.

Несмотря на признание абсцизовой кислоты в качестве корневого сигнала о неблагоприятных изменениях в корнеобитаемой среде (засуха, дефицит ионов и т. д.), все еще остается много вопросов о

том, как формируется этот сигнал и как он трансформируется в зависимости от внешних и внутренних факторов растения. Важно понять, какие механизмы задействованы в перераспределении этого гормона в растении, от которого зависит и гидравлическая проводимость корня, и состояние устьиц, а также ингибирование или поддержание роста в условиях стресса.

Влияние гидравлических и трофических сигналов на протекающие в растении процессы также было показано. Но редко их регуляторная роль обсуждается во взаимодействии с другими сигнальными системами. Чаще дискутируется приоритетность гормональных и гидравлических сигналов.

Имеется ряд работ, посвященных изучению нитрат-иона в качестве системного сигнала. Получены аргументы в пользу того, что корневой нитратный сигнал влияет на многие процессы, происходящие в побеге, а также показана и обратная связь – поступающие из побегов нитраты влияют на метаболические процессы в корнях. Некоторый успех, достигнут в изучении роли цитокининов в корневом нитратном сигналинге. Но не всегда эту связь можно обнаружить. И все еще остается много вопросов, связанных с ролью цитокининов в ответной реакции растения на дефицит питания.

Таким образом, анализ данных литературы свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения механизмов, которые обеспечивают передачу сигналов по растению, координацию процессов, происходящих в разных органах, и реакцию растений как единого организма на изменение условий их обитания. Наибольший интерес могут представлять исследования в следующих направлениях: изучение относительной роли процессов синтеза, транспорта и дальнейшего метаболизма гормонов в процессе формирования и передачи гормональных сигналов, а также взаимодействия разных гормонов друг с другом и с гидравлическими и субстратными сигналами.

2. ГОРМОНАЛЬНЫЙ БАЛАНС И ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ ПРИ РАЗНЫХ УРОВНЯХ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Роль гормональной системы в формировании ростового ответа при разных концентрациях элементов минерального питания в среде

Сложный характер реакции растений на изменение условия минерального питания сочетается с четкой согласованностью процессов, протекающих в разных органах, что делает возможным предположение об участии в процессе адаптации регулирующего, интегрирующего механизма. Целью данного этапа исследований являлось изучение функциональной роли фитогормонов в процессах адаптации растений к условиям минерального питания, а также поиск конкретных механизмов гормональной регуляции в системе минерального питания.

Изучение влияния градиента минерального питания на фитогормональный статус и ростовые показатели проростков ячменя сорта Майя проводили на водных растворах следующих концентраций питательной среды Хогланда-Арнона (Х-А): 1%, 10%, 100%, 500%.

Через 7 суток после размещения растений на среде с различными концентрациями элементов минерального питания (ЭМП) проростки различались по длине корней и побегов (рис. 2). При дефиците (1% концентрация питательной среды) и на избытке (500 % концентрация питательной среды) ЭМП наблюдалось подавление роста надземной части. Максимальный рост корней в длину происходил при дефиците питания. Степень активации роста корней на фоне дефицита питания по сравнению с условным оптимумом питания (100% среда Х-А) составила 60 %. Показатель корневого индекса при дефиците питания (отношение массы корней к массе надземной части) составил 1,22. Снижение длины надземной части по сравнению с оптимумом питания составило на дефиците ЭМП – 20%, а на избытке (500 %) соответственно – 12 %. Кроме того на средах с избытком ЭМП наблюдалось снижение роста корней в длину. В процентном выражении это выглядело следующим образом, на 500 % концентрации – на 20 %. Таким образом, дефицит минерального питания приводил к торможению роста побега и относительной активации роста корней, что является хорошо известной реакцией растений на недостаток минеральных веществ в окружающей среде (Kuiper et al., 1988; Рахманкулова и др., 2001).

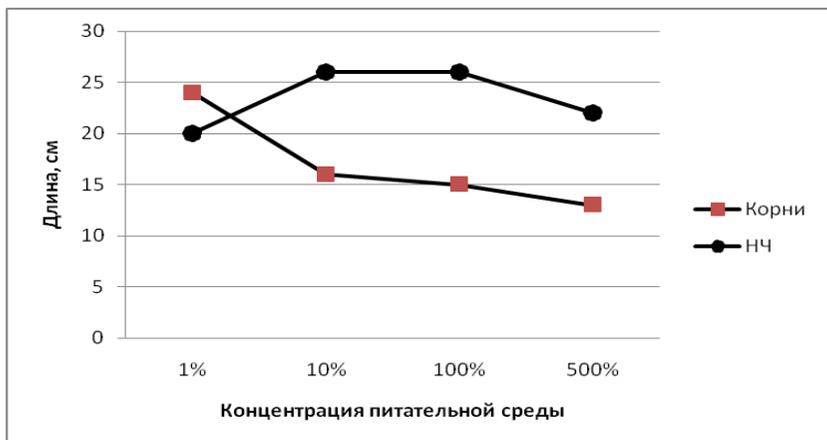


Рис. 2. Длина надземной части (НЧ) и корней у растений ячменя через 7 суток роста на разных концентрациях питательной среды (Хогланда-Арнона)

Было интересным проанализировать, связаны ли указанные различия с гормональным ответом растений. В литературе обсуждается участие гормонов в регуляции ростового ответа на дефицит минерального питания (Palmer et al., 1996).

При анализе эндогенного содержания фитогормонов был обнаружен различный гормональный статус на 7 сутки пребывания на различных уровнях ЭМП. Так было установлено синхронное накопление содержания цитокининов в надземной части и корнях проростков по мере увеличения концентрации ЭМП в питательном растворе (рис 3). Причем накопление цитокининов шло по мере снижения длины корневой системы. Вероятно, это связано с участием цитокининов в торможении роста корневой системы (Веселов и др., 2007). Принимая по внимание роль цитокининов в адаптации к минеральному питанию (Черкозьянова и др. 2005), в нашем случае удалось показать, что гормоны цитокининовой природы могут играть определенную роль в адаптационном ответе ячменя на изменение уровня минерального питания.

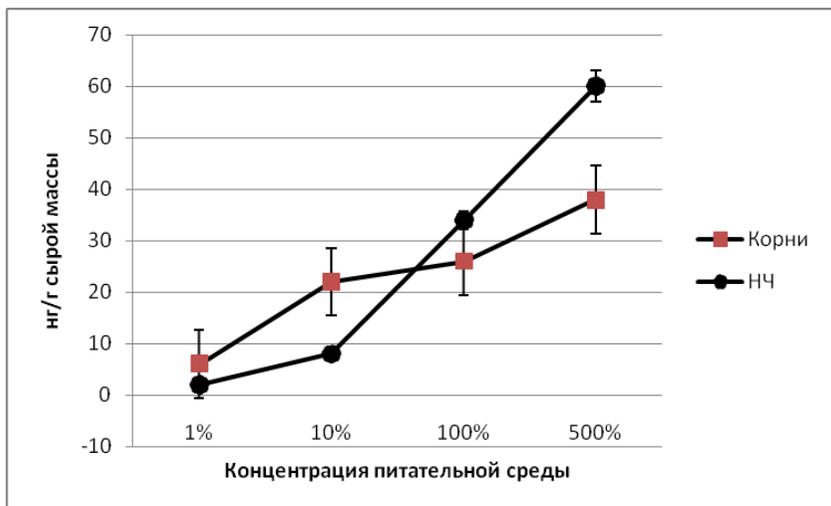


Рис. 3. Уровень содержания цитокининов у растений ячменя в надземной части (НЧ) и корнях через 7 суток роста на разных концентрациях питательной среды (Хогланда-Арнона)

Определение содержания АБК показало следующую картину - как дефицит, так и избыток ЭМП, вызвал накопление гормона в корнях (рис. 4), однако уровень АБК на дефиците питания по сравнению со 100% средой был выше на 260 %, в то время как на 500% среде X-A – на 184 %. В надземной части растения было установлено, что по мере возрастания концентрации ЭМП в среде, соответственно увеличивалось содержание АБК в них. Известно, что АБК накапливается в растениях при действии неблагоприятных факторов (например, засолении), а уровень ее накопления пропорционален степени повреждения (Веселов и др., 2007). В нашем случае мотивация накопления могла быть связана с одной стороны с дефицитом ЭМП (Черкозьянова и др. 2005), а в других условиях стимулом служил избыток солей (Kefu et al., 1991).

Ситуация с содержанием ИУК выглядела следующим образом – максимальный уровень содержания в побегах и корнях на дефиците ЭМП и минимальная концентрация в тканях на засолении (рис. 5). Поскольку известно, что ауксины необходимы для роста корней в длину (Веселов и др., 2007), то параллельное снижение длины корней и уровня содержания ИУК, можно рассматривать как свидетельство участия ауксинов в ростовом ответе на изменение содержания ЭМП в среде.

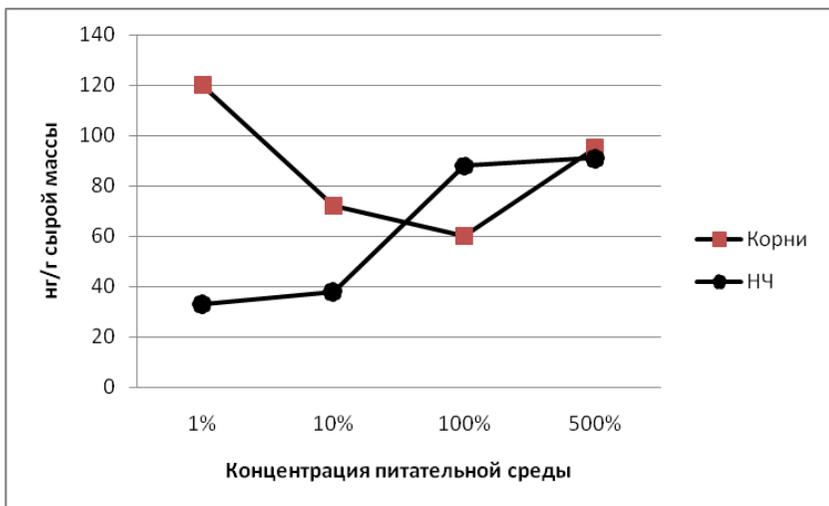


Рис. 4. Уровень содержания АБК у растений ячменя в надземной части (НЧ) и корнях через 7 суток роста на разных концентрациях питательной среды (Хогланда-Арнона)

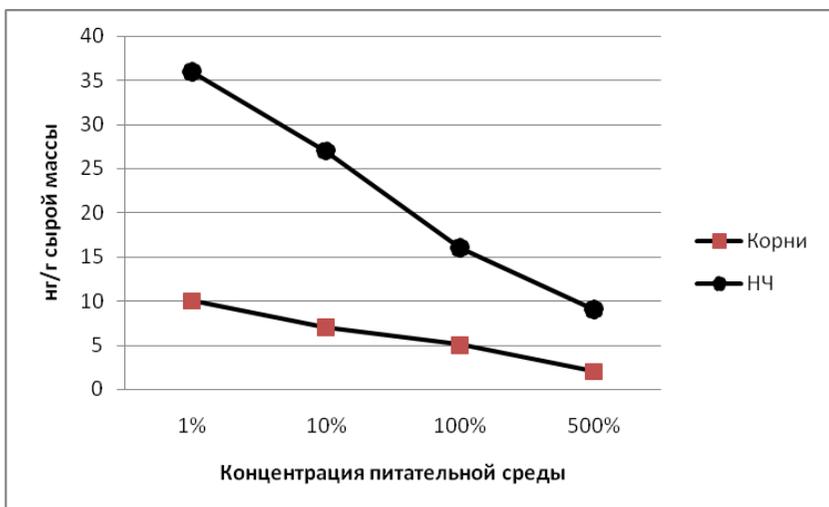


Рис. 5. Уровень содержания ИУК у растений ячменя в надземной части (НЧ) и корнях через 7 суток роста на разных концентрациях питательной среды (Хогланда-Арнона)

Обнаруженные корреляции между морфологическим ответом и гормональной реакцией растений на изменение уровня минерального питания свидетельствуют о перспективности оценки концентрации фитогормонов как диагностического показателя, который может быть использован для подбора оптимального фона минерального питания.

Роль субстратных, гидравлических и гормональных сигналов в регуляции ответа растений пшеницы при дефиците минерального питания

Влияние азотной подкормки на содержание цитокининов в листьях пшеницы

Изоляция листьев ускоряет их старение, которое проявляется в нарушении структуры и функции фотосинтетического аппарата. Снижение содержания хлорофилла является одним из показателей старения листьев (Nooden et al., 1997). Быстрое старение срезанных листьев может замедляться экзогенными цитокининами (Кулаева, 1962). Это происходит благодаря активации антиоксидантной системы (Liu, Huang, 2002), синтеза каратиноидов (Chernyad'ev, 2000) и поддержанию структуры хлоропластов (Zubo et al., 2008). В литературе также описаны факты ускорения старения листьев при обработках высокими концентрациями цитокининов (Carimi et al., 2004) и зависимость этого процесса от света (Vickova et al., 2006). Нас интересовала обработка изолированных листьев пшеницы растворами азотсодержащих солей, поскольку такая обработка, по данным литературы, замедляет потерю хлорофилла и естественным путем повышает содержание цитокининов в листьях (Singh et al., 1992).

До недавнего времени считали, что листья многих видов зависят от доставки цитокининов из корней. Изоляция листьев от источника цитокининов может быть одной из причин их старения (Кулаева, 1973; Nooden et al., 1990). Обнаружено, что в интактном растении действие нитратов на индукцию ряда генов опосредовано цитокининами (Sakakibara et al, 1998; Takei et al., 2001), синтез которых под влиянием нитратов активируется в корнях растений кукурузы, а обработка растений экзогенными цитокининами изменяет экспрессию ряда генов, регулирующих метаболизм азота (Brenner et al., 2005). Вместе с тем, показано, что экспрессия генов, кодирующих изопентенилтрансферазы, не только осуществляется в побеге интактного растения, но и может изменяться в зависимости от условий (Tanaka et al., 2006). Поэтому наши исследования были направлены на изучение возможных механизмов и источников повышения содержания цитокининов в листьях. Принимая во внимание, что такими механизмами могут быть как замедление распада гормона, так и высвобождение из запасных форм или, возможно, синтез *de novo*, нами была изучена динамика различных производных зеатина в срезанных листьях проростков пшеницы, которые обрабатывали водой или раствором NH_4NO_3 . По нашим данным срезанные листья уже через 5 дней имели более низкий уровень

хлорофилла по сравнению с интактными растениями, в то время как нитрат аммония замедлял снижение его содержания (рис. 6).

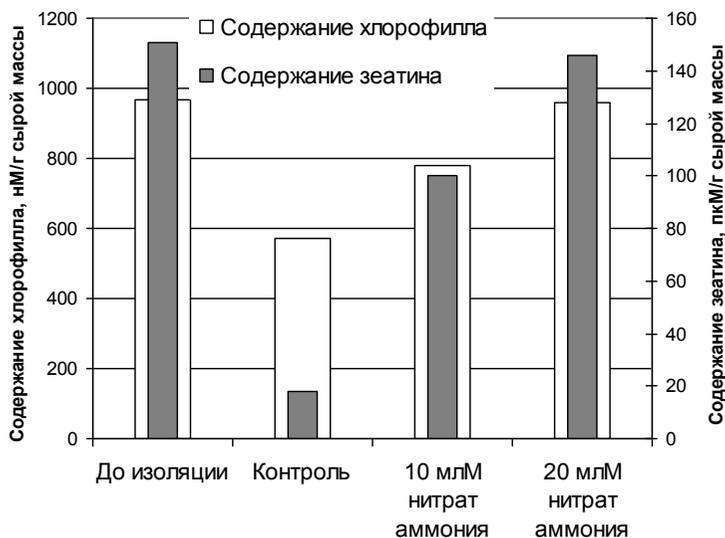


Рис. 6. Содержание хлорофилла *a* и *b* и зеатина в листьях пшеницы до изоляции и через пять дней после изоляции. После изоляции листья четыре раза в день смачивали водой (контроль) или растворами нитрата аммония (10 и 20 мМ)

Обработанные нитратом аммония срезанные листья содержали больше зеатина по сравнению с листьями, обработанными водой. В качестве индикатора старения листьев очень часто используют скорость распада в них хлорофилла. В то же время из литературных источников хорошо известны факты влияния цитокининов на накопление фотосинтетических пигментов и белков тилакоидных мембран хлоропластов, а также способность экзогенных цитокининов замедлять старение листьев (Кулаева, 1962, 1973). Обнаружено также, что нитраты способны повышать уровень цитокининов в растениях (Singh et al., 1992; Takei et al., 2001). Изучая концентрацию эндогенных цитокининов и хлорофилла в изолированных листьях растений пшеницы, мы также обнаружили корреляцию между содержанием зеатина и хлорофилла. Изолированные листья, которые подвергались обработке раствором нитрата аммония, имели более высокое содержание и зеатина, и хлорофилла по сравнению с листьями, обрабатываемыми водой (рис. 6).

Можно было предполагать, что обнаруженное в наших экспериментах замедление распада хлорофилла в изолированных листьях, вызванное обработкой раствором нитрата аммония, могло

поддерживаться или высоким уровнем цитокининов в этих листьях, или прямо зависеть от поступления в лист нитрата. Как уже упоминалось выше, в растениях *Arabidopsis* обнаружен ряд генов, экспрессия которых регулируется и цитокинином, и нитратом, а в экспериментах с дефицитными по азоту растениями кукурузы было показано, что влияние нитратов на экспрессию генов опосредованно цитокининами (Sakakibara et al., 1998; Takei et al., 2001). Исходя из этих данных, мы можем предположить, что и в наших опытах с изолированными листьями, которые мы обрабатывали нитратом аммония, уменьшение скорости распада хлорофилла было связано с высоким уровнем цитокининов.

Динамика содержания гормонов в изолированных листьях представлена на рис. 7. Сразу после изоляции листа содержание зеатина в нем резко снижалось и после временного повышения на третьи сутки в дальнейшем опускалось до очень низкого уровня (рис. 7а). Содержание этого гормона в листьях, которые были обработаны раствором нитрата аммония, снижалось в течение первых двух дней после изоляции листа, а затем увеличивалось и оставалось высоким до конца эксперимента. При этом уменьшение содержания нуклеотида зеатина (ЗН) (рис. 7б) через день после изоляции листа проявлялось в большей мере по сравнению с зеатином (З) и его рибозидом (ЗР) (рис. 7а и 7в) в обработанных нитратом аммония листьях, в то время как в контрольных содержание всех изученных нами производных зеатина резко снижалось к концу первых суток изоляции листьев. Повышение уровня свободных производных зеатина, обусловленное обработкой азотсодержащей солью, могло быть следствием замедления их распада. Изоляция листа приводила к многократному снижению содержания производных зеатина после временного небольшого повышения (рис. 7). Обработка листьев раствором нитрата аммония вызывала увеличение концентрации ЦК в этих листьях на протяжении трех последующих дней эксперимента. Эти результаты говорят о том, что в изолированном листе не только происходит распад цитокининов, но при определенных условиях они также могут в нем накапливаться даже после прекращения притока гормона из корней (Singh et al., 1992).

Из рисунка 7 видно, что снижение содержания зеатиннуклеотида через день после изоляции листа более выражено по сравнению с зеатином и зеатинрибозидом. Эти результаты дают основание предполагать, что в течение первого дня после изоляции листа уровень З и ЗР в определенной степени мог поддерживаться за счет высвобождения их из нуклеотидов.

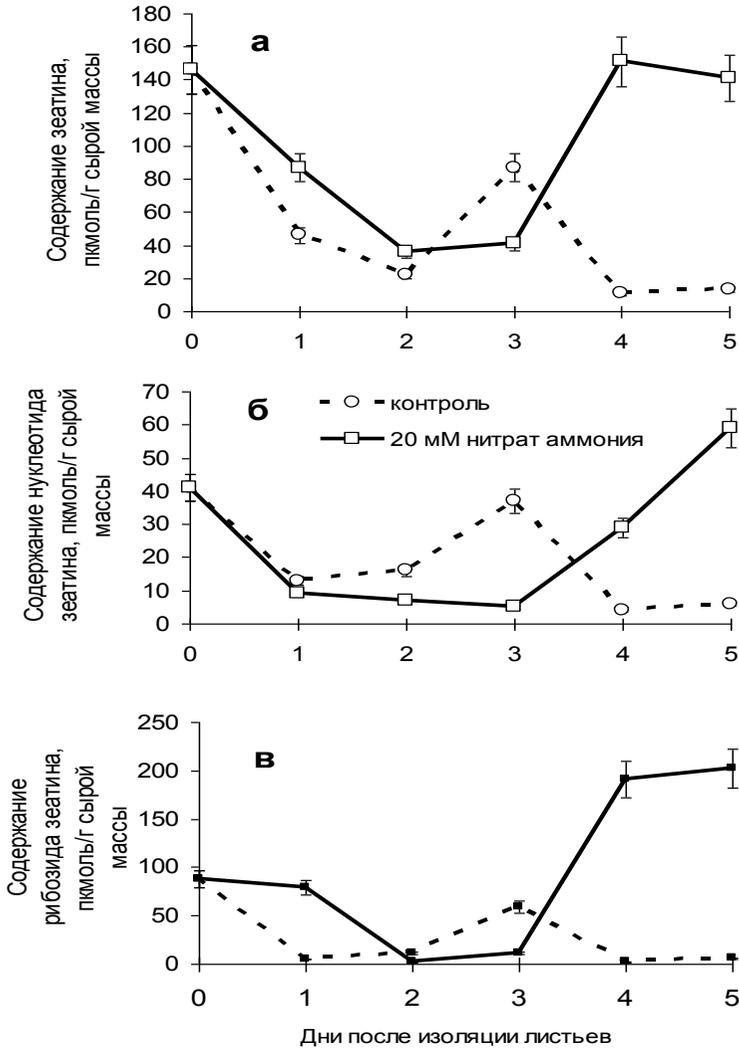


Рис. 7. Динамика содержания зеатина (а), нуклеотида зеатина (б) и рибозида зеатина (в) в изолированных листьях пшеницы. После изоляции листья четыре раза в день смачивали водой (контроль) или 20 мМ раствором нитрата аммония

Однако ко второму дню уровень ЗН был уже слишком низким, чтобы оставаться источником поддержания содержания зеатина. Как

известно из литературы, листья растений могут накапливать О-глюкозиды (Nishiyama et al., 2011; Kudoyarova et al., 2014). Эти соединения рассматривают в качестве запасной формы цитокининов (Latham, Palni, 1983). Наблюдаемое нами первоначальное снижение содержания свободных цитокининов (З, ЗР, ЗН) совпадало с накоплением О-глюкозилированных цитокининов в изолированных листьях, обработанных водой, в то время как временное повышение их концентрации на трети суки сопровождалось резким снижением концентрации О-глюкозидов (рис. 8). Следовательно, эти результаты позволяют предполагать, что поддержание содержания цитокининов в изолированных листьях после обработки их водой в какой-то степени могло быть результатом высвобождения их из О-глюкозилированных цитокининов. Но обработка нитратом аммония приводила сначала к падению содержания всех цитокининов, а в конечном итоге - к повышению содержания как З и ЗР, так и О-глюкозидов (рис. 8б). Поэтому О-глюкозиды в данном случае не могли выступать в качестве источника свободных форм гормона. Каков же источник накопления производных зеатина в срезанных листьях, которые получали подкормку солями азота?

В последнее время обнаружен широкий спектр цитокининов в хлоропластах табака и пшеницы (Benkova et al., 1999). Накоплены данные о роли цитокининов в поддержании структуры и функции хлоропластов, в том числе и на молекулярном уровне (Kusnetsov et al., 1994, 1999), в регуляции антиоксидантных систем листьев в процессе их старения (Vickova et al., 2006). Однако вопрос о происхождении цитокининов в листьях и органеллах не имеет однозначного ответа. Не ясно также, насколько лист зависит от поставки цитокининов из корня. Вместе с тем, в литературе уже имеются данные о том, что ткани побега могут синтезировать эти гормоны (Chen et al., 1985; Singh et al., 1992; Tanaka et al., 2006). Также было показано, что нитраты стимулируют экспрессию генов, ответственных за синтез цитокининов у растений арабидопсиса (Miyawaki et al., 2004). Поэтому мы предположили, что изолированные листья пшеницы при обработке их раствором азотсодержащей соли способны синтезировать цитокинины. Для получения аргументов в пользу этого предположения проанализировали динамику содержания изопентениладенозина (рис. 9) и ЗН (рис. 8б).

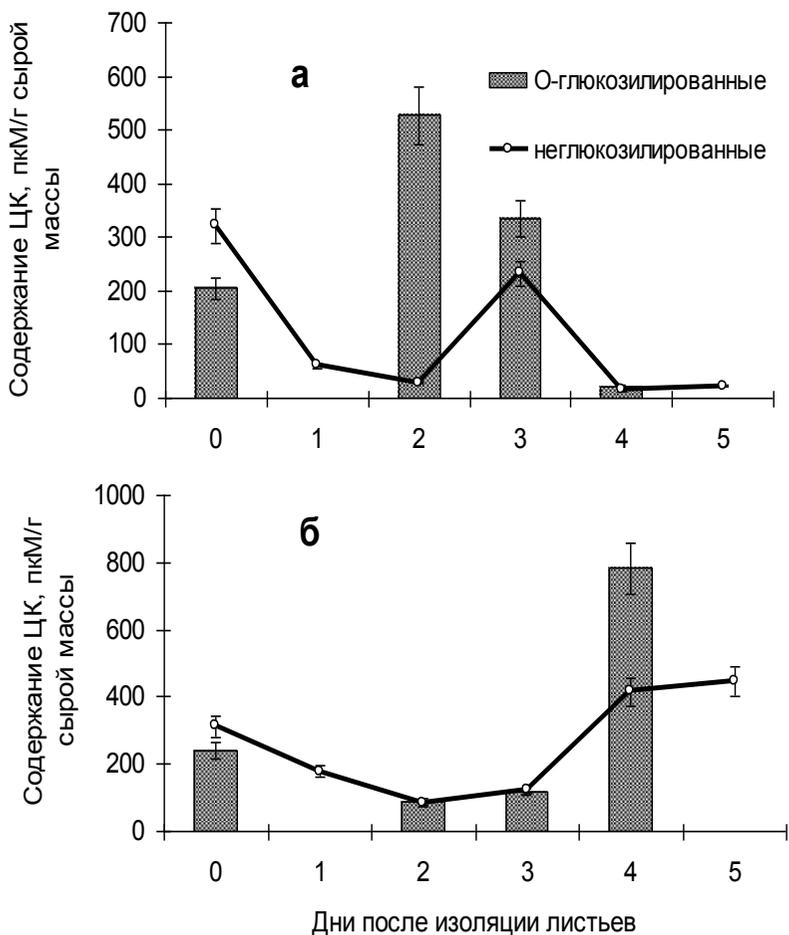


Рис. 8. Содержание негликозилированных (зеатин, зеатинрибозид, зеатиннуклеотид) и гликозилированных (О-гликозиды зеатина, его рибозида и нуклеотида) цитокининов в изолированных листьях пшеницы. После изоляции листья четыре раза в день смачивали водой (а) или 20 мМ раствором нитрата аммония (б)

Основным путем синтеза *транс*-зеатина в высших растениях считается *транс*-гидроксилирование цитокининов

изопентениладенинового типа монооксигеназами (Hwang, Sakakibara, 2006). Но здесь уместно вспомнить, что в литературе есть аргументы в пользу существования альтернативного пути синтеза *транс*-зеатина в растениях арабидопсиса, при котором производные зеатина образуются непосредственно из аденина путем присоединения гидроксированного радикала (Astot et al., 2000). В нашей работе мы не можем оценить относительный вклад этих путей в предполагаемый нами синтез цитокининов в изолированных листьях.

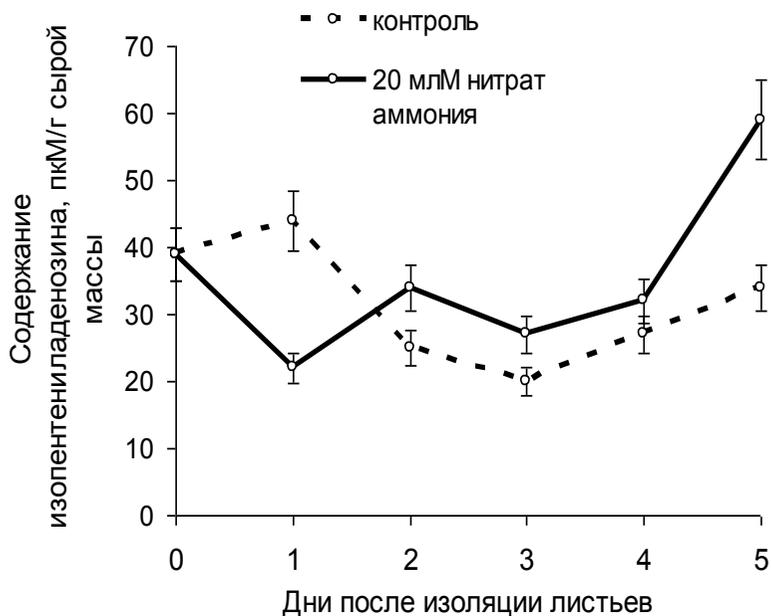


Рис. 9. Содержание изопентениладенозина в изолированных листьях пшеницы. После изоляции листья четыре раза в день смачивали водой (контроль) или 20 мМ раствором нитрата аммония

Из рисунка 9 видно, что содержание изопентениладенозина повышалось в изолированных листьях, обрабатываемых нитратом аммония, к концу эксперимента. На рисунках 7 и 9 хорошо заметно, что уровень содержания изопентениладенозина был значительно ниже, чем зеатина на протяжении всего эксперимента, а ход кривой концентрации изопентениладенозина не повторял динамику зеатина. Это можно объяснить, опираясь на данные литературы (McGow, 1995) о том, что изопентениладенин и изопентениладенозин обычно не накапливаются в растении, а быстро гидроксилируются с образованием производных

зеатина. Нуклеотид зеатина, который наряду с изопентениладенозином является одним из первых продуктов в цепочке синтеза цитокининов, также как и изопентениладенозин заметно накапливается в изолированных листьях пшеницы после их обработки раствором нитрата аммония только на пятый день изоляции листьев в тот самый момент, когда содержание З и ЗР уже не увеличивается (остаётся на уровне четвертого дня). Очевидно, что накопление З и ЗР к четвертому дню могло идти за счет более быстрого превращения ЗН, накопление которого в это время было выражено слабее. Интересно то, что содержание ЗН снижалось в несколько раз через сутки после изоляции листьев на фоне обработки их раствором азотсодержащей соли при сохранении содержания ЗР и двукратном снижении содержания зеатина. Таким образом, из полученных нами данных видно, что гидролиз запасных форм цитокининов мог способствовать поддержанию уровня активных форм в изолированных листьях, лишенных притока цитокининов из корней. Но этот процесс сам по себе не мог обеспечить повышения уровня цитокининов в изолированных листьях при их обработке содержащими азот солями. Таким образом, нами получены аргументы в пользу того, что в изолированных листьях пшеницы при обработке их растворами азотсодержащей соли могут синтезироваться цитокинины.

Полученные нами результаты исследований подтверждают следующие предположения:

Цитокинины участвуют в замедлении старения изолированных листьев при обработке их раствором нитрата аммония. Временное накопление производных зеатина в изолированных листьях пшеницы, подвергавшихся обработке водой, может происходить за счет высвобождения их из О-глюкозилированных форм. При обработке изолированных листьев пшеницы раствором нитрата аммония они могут продуцировать цитокинины *de novo*

Наши результаты не позволяют ответить на вопрос о том, в какой степени побег зависим от поставки цитокининов из корней в интактном растении. Но данные, несомненно, свидетельствуют в пользу того, что в экстремальной для растения ситуации необходимый уровень цитокининов может поддерживаться за счет связанных форм довольно продолжительное время (в течение нескольких дней). Синтез цитокининов в листе также возможен при определенных условиях. Совершенно очевидно, что одним из условий является уровень обеспеченности растения минеральными солями. Следовательно, изучение дистанционного сигналинга корень-побег у растений совершенно невозможно без учета субстратных сигналов. Тем более, что в последнее время уже было показано как взаимодействие корневого

нитратного сигналинга с цитокининовым, так и влияние азотного питания на синтез данного гормона.

Реакция растений на дефицит ионов в питательном растворе

Недостаток элементов минерального питания и воды в почве приводит к замедлению роста побега, в то время как рост корня у растений ингибируется в меньшей степени. Эта ростовая реакция растения обеспечивает относительное увеличение площади поверхности, которая адсорбирует ионы (Chapin, 1990). Она признана как важнейшая для адаптации к дефициту воды и ионов. За последние десятилетия были сделаны серьезные шаги в изучении механизмов перераспределения биомассы в пользу корня (Wilson, 1988; Chapin, 1990; Frensch, 1997; Werner et al., 2010; Yamaguchi et al., 2010). Наиболее активно развивалось направление по изучению участия АБК в регуляции соотношения корень/побег (Chapin, 1990; Saab et al., 1990) в условиях засухи (например, LeNoble et al., 2004). Роли АБК в ростовой реакции корня на дефицит ионов уделялось значительно меньше внимания (Chapin, 1990). При этом все же накоплен определенный опыт разрозненных фактов и в этой области. Показано, что при дефиците фосфора у бобов гормон преимущественно накапливался в побегах (Jeschke, Hartung, 2000), дефицит азота и калия вызывал накопление АБК в тканях корней кукурузы (Schraut et al., 2005). В работах чаще обсуждается роль АБК в регуляции роста побега, а не корня (Dodd et al., 2002). Наряду с этим существует целый ряд вопросов, связанных с АБК-сигналингом при дефиците ионов. Прежде всего, это распознавание сигнала, который вызывает накопление АБК в растениях при дефиците минеральных веществ. Является ли этим сигналом снижение содержания минеральных солей, цитокининов, изменение рН-кислельного раствора или водный дефицит (Dodd et al., 2002; Wilkinson et al., 2007, 2010), который часто развивается при недостатке минерального питания? Сегодня также нет однозначного ответа на вопрос о месте синтеза АБК в растении в этих условиях (Hartung et al., 2002).

Хорошо известно, что при засухе АБК, синтезированная в корнях растений, может служить в качестве поступающего в побег сигнала и вызывать закрытие устьиц и торможение роста листа (Zhang, Davies, 1989). При дефиците питания в некоторых случаях также наблюдали повышение концентрации АБК в ксилемном соке бобовых растений, испытывающих недостаток азота и фосфора (Jeschke et al., 1997; Dodd et al., 2002). В то же время АБК может синтезироваться в побегах и транспортироваться в корни по флоэме (Jiang, Hartung, 2008) и снова оказаться в ксилемном соке, рециркулируя в растении. Поэтому в

случае дефицита минеральных веществ в почве источник накопления АБК в растении определить достаточно сложно. Анализируя представленные факты, мы включили в наши задачи наряду с анализом динамики показателей роста и транспорта ионов оценку ксилемного и флоэмного транспорта гормонов у растений пшеницы при дефиците минеральных солей в питательном растворе.

В предварительных экспериментах нами была подобрана концентрация питательного раствора, которая обеспечивала максимальное накопление сырой массы 7-дневных проростков пшеницы. В результате 10%-ный раствор Хогланда-Арнона использовали во всех последующих экспериментах в качестве оптимального для выращивания растений пшеницы данного возраста (Кудоярова и др., 1993). Дефицит минеральных веществ создавали десятикратным разбавлением 10%-го питательного раствора. Благодаря ежедневной одновременной замене питательной среды в контроле и в опыте (трижды в день через равные промежутки времени) контрольные растения снабжали необходимым количеством питательных веществ в течение всего эксперимента, а опытные растения находились в условиях постоянного дефицита.

Дефицит минерального питания уже через сутки снижал линейную скорость роста побега семидневных растений пшеницы (данные не показаны). К концу вторых суток проявлялось достоверное ингибирование накопления сырой массы побега, в то время как масса корня оставалась на уровне контрольных растений (табл. 1). Снижение скорости роста побега, в то время как рост корня поддерживался, приводило к снижению соотношения массы побег/корень.

Таблица 1.
Сырая масса побега и корня растений пшеницы и их соотношение через 2 суток после разбавления питательного раствора X-A от 10 до 1%; n=10. *- обозначены достоверные различия между показателями контроля (10% X-A) и опыта (1% X-A), t-тест, p<0,05

Питательный раствор	Масса побега, мг	Масса корня, мг	Побег/корень
10 % X-A	225±5	132±5	1,70±0,04
1 % X-A	202*±6	131±6	1,50*±0,08

Подобная ростовая реакция была обнаружена у растений томатов и у многих других видов (Chapin, 1990; Peug et al., 2013).

Относительная активация роста корневой системы – давно и хорошо известная реакция растений на недостаток минеральных веществ в среде (Kuiper et al., 1988; Sattelmacher et al., 1993; Frensch, 1997; Рахманкулова и др., 2001), которая воспроизводилась в наших экспериментах.

По данным литературы, дефицит питания приводит к снижению скорости транспирации, устьичной и гидравлической проводимости (Chapin et al., 1988; Carvajal et al., 1996). Однако в наших экспериментах разбавление питательного раствора не приводило к ожидаемому нами снижению устьичной проводимости и транспирации, по меньшей мере, в течение первых двух суток наблюдения (табл. 2). Возможным объяснением этого необычного поведения устьиц может быть способ выращивания растений. Растения инкубировали в течение всего эксперимента на гидропонической среде, что могло повлиять на степень суберинизации формирующихся в корне поясков Каспари (Steudle, 2000). Проницаемость поясков Каспари влияет на гидравлическое сопротивление корня и в конечном итоге на водный обмен растения.

Таблица 2.

Транспирация и устьичная проводимость растений пшеницы через 2 суток после разбавления питательного раствора X-A от 10 до 1%; n = 10

Показатели	10 % X-A	1 % X-A
Транспирация, моль м ⁻² с ⁻¹	2,5±1	2,3 ±1
Устьичная проводимость, ммоль м ⁻² с ⁻¹	86±4	95±5

В экспериментах с удалением корней у растений пшеницы мы наблюдали корреляцию между устьичной проводимостью и скоростью фотосинтеза в течение нескольких часов после воздействия. Замена 10%-ного раствора X-A на 1%-ный не вызывала быстрых (несколько часов) изменений скорости роста листа. Это могло свидетельствовать в пользу того, что у растений на разбавленной среде первое время не было проблем с поступлением воды в растущие клетки и не было быстрых гидравлических сигналов. Продолжительное время мы не наблюдали и изменений устьичной проводимости (табл. 2), поэтому логично было ожидать поддержания скорости ассимиляции углекислого газа на уровне контроля. Но оказалось, что через сутки скорость фотосинтеза снижалась примерно на 30% по сравнению с контролем (рис. 10), оставаясь на этом уровне и в последующие вторые сутки эксперимента. Полученные нами данные о том, что десятикратное уменьшение содержания ионов в питательном растворе не вызывало изменения размеров устьичной щели, но приводило к снижению уровня ассимиляции углекислого газа, позволили предположить, что нарушения

могли произойти в функционировании самого фотосинтезирующего аппарата.

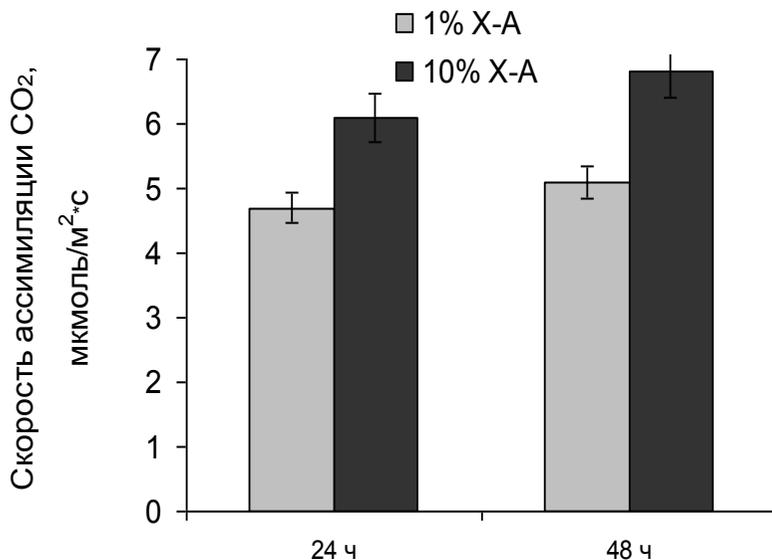


Рис. 10. Скорость ассимиляции углекислого газа растений пшеницы через 1 и 2 суток после разбавления питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1%; n = 20

По данным литературы, уменьшение концентрации азота в питательной среде могло повлиять на активность ферментов фотосинтеза, поскольку азот входит в состав и белков, и пигментов фотосинтезирующего аппарата (Paul, Driscoll, 1997). В литературе есть данные о существовании корреляции между концентрацией азота в листе и скоростью фотосинтеза (Reich et al., 1995; Niinemets, Tenhunen, 1997; Reich et al., 1997; Garnier et al., 1999), а также о взаимосвязи между содержанием азота и углерода в регуляции фотосинтеза (Paul, Driscoll, 1997; Martin et al., 2002; Paul, Pellny, 2003). Уменьшение концентрации нитрат-ионов в питательном растворе или частичная их замена на восстановленные азотные соединения (ионы аммония, мочевины и др.) может приводить к снижению содержания азота в растении (Gashaw, Mugwira, 1981; van der Boon et al., 1990; Günes et al., 1996; Santamaria, Elia, 1997).

Ранее предполагали, что в условиях, в которых питание становится лимитирующим фактором, ионы и вода, прежде всего, попадают в орган, ближе к нему расположенный, что обеспечивает его преимущественный

рост (Gordon, Intyre, 2001). В некоторых работах было обнаружено, что при дефиците питательных веществ возрастает активность нитратредуктазы в корнях, где и происходит активное восстановление нитрат-ионов (Lips, 1997; Stitt et al., 2002). Однако эксперименты с трансформированными растениями табака с пониженной экспрессией нитратредуктазы показали, что снижение соотношения побег/корень связано с содержанием нитратов в побегах, а не корнях. У таких растений не происходило относительной активации роста корней за счет оттока ассимилятов в корни. Авторы объясняют это накоплением нитратов в побеге в результате пониженной активности нитратредуктазы (Scheible et al., 1997; Stitt, Feil, 1999). Поэтому нам необходимо было определить содержание азота в зоне роста листа после переноса растений на разбавленный питательный раствор. Определение содержания азота в растущих тканях побега в процентах от сухого вещества показало, что его содержание через сутки после переноса растений на разбавленный питательный раствор изменялось незначительно и недостоверно (контроль - $8,0 \pm 0,2\%$ и дефицит - $7,6 \pm 0,2\%$, $n=5$).

Таблица 3.
Концентрация нитрат- сульфат- и хлорид-ионов (мМ) в ксилемном экссудате растений пшеницы при разбавлении питательного раствора Хогланда Арнона с 10 до 1% (дефицит питания) и после удаления четырех из пяти первичных корней (удаление корней); $n=9$

Время , ч	0,5			3,5			24		
	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	Cl	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	Cl	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	Cl
Контроль	6,7 ± 0,3	0,3 ± 0,1	2,8 ± 0,3	6,8 ± 0,3	1,1 ± 0,1	0,8 ± 0,1	7,3 ± 0,3	1,2 ± 0,2	0,8 ± 0,1
Дефицит питания	-	-	-	3,2 ± 0,3	1,0 ± 0,2	0,7 ± 0,1	1,6 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Удаление корней	2,8 ± 0,2	1,1 ± 0,1	3,5 ± 0,3	-	-	-	2,2 ± 0,2	1,8 ± 0,2	0,9 ± 0,1

Следовательно попытка объяснить снижение скорости ассимиляции углекислого газа в течение первых суток нарушением содержания азота в зоне роста также не нашла экспериментального

подтверждения. Обычно симптомы нитратного дефицита развиваются при длительном голодании растений и истощении их запасного пула в корне (Харитонашвили и др., 1993). Сведений о регуляции оттока нитратов из корней в побеги до сих пор мало и пока не ясно, какие механизмы контролируют загрузку ксилемы (Walch-Liu et al., 2005). Поэтому далее нам необходимо было определить, как изменилось содержание ионов в ксилемном экссудате после десятикратного разбавления питательного раствора. Измерения показали, что уже через 3,5 ч концентрация нитрат-ионов была в два раза ниже у растений, которые росли на разбавленном питательном растворе (табл. 3). Это снижение можно было рассматривать в качестве субстратного сигнала, который мог привести к уменьшению скорости фотосинтеза и торможению роста побега. Однако в других опытах, в которых мы редуцировали корень проростков пшеницы такого же возраста, содержание нитратов снижалось в 2,5 раза уже через 0,5 ч после удаления четырех из пяти корней, но снижения скорости фотосинтеза не происходило (рис. 10). Это может говорить о том, что снижение скорости ассимиляции углекислого газа и торможение роста побега в течение первых суток после разбавления питательного раствора было обусловлено не только поступлением ионов из корня. Очевидно, что мы должны изучить также роль гидравлических и гормональных сигналов. Однако отрицать влияние субстратного сигналинга также было бы не справедливо, учитывая следующие данные наших экспериментов (табл. 3). Через сутки после уменьшения размеров корня концентрация нитрат-ионов в ксилемном соке оставалась практически такой же, как и через 0,5 ч после удаления корней, хотя стала еще сильнее отличаться от уровня интактного контроля. Динамика этих показателей при дефиците питания была иной, концентрация нитратов в ксилеме у растений с дефицитной среды питания к концу первых суток снижалась вдвое по сравнению с уровнем первых 3,5 ч эксперимента и, соответственно, в еще большей степени отличалась от контрольных растений. Возможно, что не только абсолютные значения, но и сама динамика содержания нитрата в ксилеме могла повлиять, как на водный обмен, так и на гормональный баланс растения.

Влияние дефицита минеральных веществ на водный обмен растений

Неоднократно было показано, что недостаток минеральных веществ в среде приводит к снижению гидравлической проводимости корней (Radin, Boyer, 1982; Radin, Eidenbock, 1984; Chapin et al., 1988; Radin, Matthews, 1989; Carvajal et al., 1996 и др.). Согласно гипотезе Кларксона дефицит ионов в среде вызывает изменения в мембранах корней, при этом снижается их способность проводить воду (Clarkson et

al., 2000). Кроме того, у трансгенных растений с пониженным уровнем гидравлической проводимости была зарегистрирована резкая активация роста корневой системы (Kjellbom et al, 1999). Это позволило Кларксону с соавторами (Clarkson et al, 2000) выдвинуть предположение о том, что стимуляция роста корней при дефиците питания является компенсаторной реакцией на снижение их гидравлической проводимости.

Для оценки водной проницаемости мембран, которая характеризует их способность проводить воду, мы провели измерение осмотической водной проводимости корней. Для оценки осмотической водной проводимости корней нами были измерены скорость потока ксилемного сока и осмотическое давление питательной среды (табл. 4) и ксилемного экссудата (табл. 5). Поток воды и ионов (V) снижался уже через сутки после разбавления питательного раствора (табл. 5).

Таблица 4.
Осмотическое давление питательного раствора (π_0), скорость потока ксилемного сока (V) и гидравлическая проводимость корня (L_p) растений пшеницы при разбавлении питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1 % (t – время после разбавления); $n = 9$

t , ч	раствор X-A, %	π_0 , МПа	V , г/ч растение	L_p , г/ч/МПа/растение
24	10	$0,030 \pm 0,002$	$0,013 \pm 0,002$	0,215
	1	$0,010 \pm 0,001$	$0,006 \pm 0,002$	0,320
48	10	$0,030 \pm 0,002$	$0,010 \pm 0,002$	0,120
	1	$0,010 \pm 0,001$	$0,005 \pm 0,002$	0,075

При этом осмотическое давление ксилемного сока (π_x) у опытных растений снижалось (табл. 5). Иными словами, в нем снижалась концентрация осмотически активных веществ, что вполне предсказуемо после переноса растения на разбавленную питательную среду.

Таблица 5.
Осмотическое давление ксилемного сока (π_x) растений пшеницы при разбавлении питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1 %; $n = 9$

Время, ч	π_x , МПа	
	10 %	1 %
24	$0,090 \pm 0,003$	$0,030 \pm 0,002$
48	$0,110 \pm 0,002$	$0,070 \pm 0,003$

Движущей силой осмотического потока воды из корня является градиент осмотического давления между питательной средой и ксилемным соком. В контроле он составил 0,06 МПа, а у растений, которые испытывали дефицит минерального питания – 0,02 МПа (табл. 4 и 5). Расчет гидравлической проводимости показал, что через сутки после разбавления питательной среды снижения гидравлической проводимости еще не происходило. Снижение этого показателя происходило только на вторые сутки дефицита минеральных веществ в питательном растворе (табл. 4). Поскольку достоверное снижение сырой массы побега и гидравлической проводимости корней регистрировалось в одно и то же время - через двое суток (табл. 1 и 4) после разбавления питательной среды, относительная активация роста корней может быть следствием уменьшения их гидравлической проводимости, поскольку по некоторым данным гидравлическая изоляция корней может быть причиной относительной активации их роста (Frensch, 1997). Тем не менее, это не могло быть причиной снижения уровня фотосинтеза, которое мы наблюдали уже через сутки дефицита. Очевидно, что в наших экспериментах снижение гидравлической проводимости корней не было первой реакцией растений на дефицит питания, что находится в некотором противоречии не только с гипотезой Кларксона, но и с результатами некоторых других исследователей.

Из литературы уже известно, что у растений ячменя и томата, испытывавших дефицит азота, снижение гидравлической проводимости предвещало изменения устьичной проводимости (Chapin et al., 1988). Другие исследования показали, что у растений ячменя в ответ на исключение из среды серы гидравлическая проводимость корней в течение 4 дней уменьшалась примерно на 80% по сравнению с контрольными растениями (Karmoker et al., 1991). Этот эффект предшествовал снижению скорости транспирации и фотоассимиляции (net assimilation) (Gilbert et al., 1997). Кроме того, существуют данные о том, что гидравлическая проводимость корней может изменяться в соответствии с изменением скорости транспирации (Mees, Weatherley, 1957; Passioura, 1988; Steudle, 2000; Фархутдинов и др., 2003; Тимергалина и др., 2007; Kudoyarova et al., 2011). Координация устьичной и гидравлической проводимости была обнаружена и в других работах (Фархутдинов и др. 2003). Многими исследователями было показано, что недостаток минеральных веществ приводит к снижению устьичной проводимости, при этом устьица могут закрываться как частично, так и полностью (Wallace, Frohlich, 1965). Такая реакция растений была впоследствии неоднократно описана (Clarkson, Scattergood, 1982; Chapin et al., 1988; Carvajal et al., 1996). Большой вклад в понимание влияния азотного и фосфорного питания на устьичную

проводимость и растяжение листа внесли Radin с сотрудниками (Radin, Askerson, 1981; Radin, Eidenbrock, 1984). Их эксперименты с растениями хлопка показали, что при дефиците азота или фосфора в питательной среде у растений тормозится растяжение листа, уменьшаются скорость транспирации и гидравлическая проводимость растений, но водный потенциал листьев остается неизменным.

Противоречивость данных литературы, а также, обнаруженное нами (хотя и не быстрое – только к концу вторых суток) снижение способности корней проростков пшеницы проводить воду при недостатке питательных ионов даже в условиях гидропоники, побудило нас к более подробному изучению таких показателей водного обмена как водный потенциал и содержание воды. Тем более, что сохранение высокой устьичной проводимости на фоне снижения гидравлической проводимости должно было привести к дисбалансу между поглощением и испарением воды за счет транспирации и в конечном итоге - к развитию дефицита воды в побеге, по меньшей мере, к концу вторых суток дефицита питания. Для проверки этого предположения мы определяли относительное содержание воды (ОСВ). ОСВ – показатель близкий к водному потенциалу листа, который характеризует способность не растущих листьев (дифференцированных) поглощать воду до их полного насыщения. Ясно, что эта способность зависит от степени насыщения клеток листа водой, т.е. от их водного потенциала. Таким образом, относительное содержание воды является показателем, тесно связанным с водным потенциалом (Jones, 1992). ОСВ также позволяет судить о дефиците воды в листе, который равен $(100 - \text{ОСВ}) \%$.

В наших экспериментах относительное содержание воды у опытных растений было на уровне контрольных в течение всего эксперимента (табл. 6).

Таблица 6.
Относительное содержание воды (ОСВ) в листьях проростков пшеницы при разбавлении питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1 % (t – время после разбавления); n = 9

t, ч	ОСВ, %	
	10 %	1 %
24	90,8 ± 0,2	90,0 ± 0,1
48	89,4 ± 0,3	90,3 ± 0,2

Результаты говорят в пользу того, что водный потенциал побега не снижался на протяжении всего времени наблюдения. Обратим наше

внимание на то, что водный потенциал обусловлен осмотическим потенциалом и тургором. И примем во внимание, обнаруженное нами снижение осмотического потенциала ксилемного экссудата, и достаточно быстрое снижение скорости накопления ассимилятов. Как быстро это могло повлиять на осмотическое давление тканей листа? Как видно из таблицы 6, на фоне дефицита питания осмотическое давление клеточного сока тканей листа снижалось уже к концу первых суток. Это должно было привести к возрастанию водного потенциала листа и ОСВ. Однако в наших экспериментах этого не наблюдалось, и ОСВ в растениях, которые росли на разбавленном питательном растворе, было не выше, чем ОСВ в растениях, получавших оптимальное минеральное питание. Поскольку, как уже было отмечено, водный потенциал определяется как осмотическим потенциалом, так и тургором клеток, логично предположить, что на фоне дефицита питания снижался тургор клеток. Получить ответ на этот вопрос было очень важно для данной работы, поскольку изменение тургора клетки может повлиять на многие происходящие в ней процессы.

При помощи камеры давления нам удалось измерить водный потенциал листа растений пшеницы через сутки после их произрастания на разбавленном питательном растворе. Тургор листа вычисляли как разность между водным и осмотическим потенциалами. Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7.

Показатели водных отношений (МПа) листьев и корней растений пшеницы, которые постоянно росли на 10% растворе X-A (контроль) и через сутки после переноса на 1% X-A. Отбор проб осуществлялся одновременно; n=5. *- статистически достоверно отличающиеся значения от контроля (10% X-A); t-тест, p<0,05

Концентрация X-A	Водный потенциал листа	Осмотический потенциал листа	Тургор листа	Осмотический потенциал корня
10% X-A	-0,65±0,04	-1,24±0,06	0,59±0,03	-0,46±0,03
1% X-A	-0,61±0,05	-1,05±0,05	0,44±0,03*	-0,42±0,04

Как видно из приведенных в таблице данных, тургор клеток листа у растений с дефицитной питательной среды падал к концу первых суток. Это можно было объяснить снижением осмотического давления тканей листа вследствие уменьшения притока ионов с ксилемным экссудатом. Но наиболее вероятно, что это было результатом уменьшения потока фотоассимилятов (вследствие обнаруженного нами снижения уровня фотосинтеза), которые, по данным литературы, в

большей мере, чем ионы поддерживают осмотическое давление клеток (Studer, Schmidhalter, 2007).

Измерение оводненности тканей растений показало, что через сутки после разведения питательного раствора содержание воды в побегах и корнях оставалось на уровне растений, которые росли на оптимальной для роста питательной среде (рис. 11).

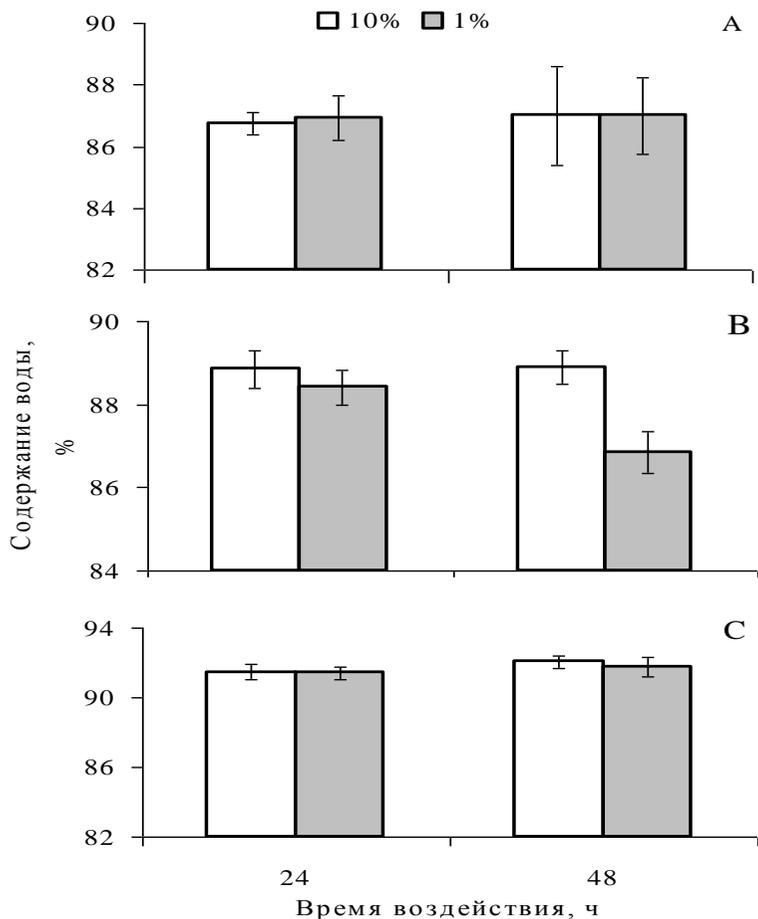


Рис. 11. Содержание воды в дифференцированной части полностью сформированного первого листа (А), в растущей части побега (В) и в корне (С) растений пшеницы при разбавлении питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1 %; n = 9

Только на вторые сутки наблюдали снижение оводненности тканей в основании листа (растущая часть), где содержание воды было достоверно меньше, чем в контроле ($n=9$, вероятность различий выше 0,95). Уменьшение содержания воды в растущей зоне, вероятно, является следствием падения проницаемости мембран для воды.

Таким образом, недостаток минеральных веществ в питательной среде в течение двух суток приводил к снижению гидравлической проводимости корней и связанному с ним дефициту воды в растущей части побега. Устьичная проводимость, транспирация и относительное содержание воды у опытных растений не изменялись.

Представляет интерес то, что даже на вторые сутки, когда гидравлическая проводимость уже снижалась, это не приводило к существенному снижению оводненности тканей растений, и лишь в зоне роста листа было небольшое, но достоверное снижение содержания воды. Такой же эффект снижения содержания воды в растущих клетках, в то время как оводненность дифференцированных тканей листа не изменялась, мы наблюдали и в экспериментах с удалением корней. Объяснить, каким образом при нарушении гидравлической проводимости поддерживалась оводненность тканей побега при дефиците питания, также как и при удалении корней, представляется возможным с точки зрения композитной теории транспорта воды (Steudle, 2000) В транспирирующем растении значительная часть воды движется по апопласту. Вероятно, с этим потоком связана способность растений обеспечивать побег необходимым количеством воды, несмотря на снижение водной проницаемости мембран. Еще раз обратимся к результатам Р.Н. Мейчик и И.П. Ермакова (Meuchik, Yermakov, 1999) о том, что разбавление питательного раствора сказывается на физико-химических свойствах клеточных стенок. В частности, ими обнаружено, что при этом увеличивается коэффициент набухания клеточных стенок. Следовательно, дефицит питания мог привести к увеличению объема апопласта. Поскольку в корнях молодых растений сопротивление потоку воды по апопласту значительно ниже, чем при транспорте ее от клетки к клетке, увеличение объема апопласта должно значительно увеличивать суммарную гидравлическую проводимость. Это и может быть причиной обнаруженной в наших экспериментах способности растений пшеницы поддерживать необходимый приток воды из корней, несмотря на снижение водной проницаемости мембран. Эти же знания позволяют объяснить, почему именно в зоне роста листа снижение содержания воды было наиболее существенным. Как известно (Tang, Boyer, 2002; Fricke et al., 2004), поток воды к растущим клеткам листа преодолевает большое количество мембран мелких клеток в области обкладки сосудистых пучков. Кроме того, в отличие от транспирационного потока, поток воды, поддерживающий

рост, движется за счет осмотического градиента и по определению должен идти через мембраны клеток. Поэтому уровень оводненности растущих клеток листа в большей степени зависит от проницаемости мембран для воды. Также как и в опытах с редукцией корневой системы растений пшеницы в опытах с дефицитом питания невозможно было измерить отдельно гидравлическую проводимость листа, но при измерении гидравлической проводимости корня часть основания листа оставалось не отделенным от корней и вносило свой вклад. Очевидно что, снижение гидравлической проводимости, которое мы обнаружили, неизбежно вносило свой вклад в ингибирование роста листа. Однако ее снижение происходило недостаточно быстро (только к концу вторых суток роста растений при дефиците питания) для того, чтобы быть причиной обнаруженного в наших опытах опережающего снижения скорости роста побега.

Таким образом, несмотря на уменьшение проницаемости мембран для воды, апопластный путь обеспечивал достаточный приток воды в побег, который в результате не испытывал ее дефицита при снижении обеспеченности растений элементами минерального питания. Падение тургора, которое могло быть причиной ингибирования роста побега, было связано не с уменьшением притока воды, а со снижением концентрации осмотически активных веществ в клетках. Это, в свою очередь, могло быть следствием как уменьшения притока ионов из корней, так и ассимилятов из дифференцированной части листа. Последнее предположение основано на обнаруженном нами ингибировании фотосинтеза.

Таким образом, к концу первых суток с момента разбавления питательного раствора прямой регуляторной роли гидравлических сигналов (уменьшения гидравлической проводимости, дефицита воды) выявить не удалось. Но если рассматривать тургор клеток как один из показателей водного обмена, то можно отметить, что такой сигнал генерировался в побеге как следствие дефицита ионов и фотоассимилятов. Если первоначально могла идти речь о субстратном уровне регуляции протекающих в побеге процессов, то в последующие вторые сутки трудно будет определить приоритетность какого-то типа сигналов, и речь может идти, по меньшей мере, о взаимодействии субстратных и гидравлических сигналов. Тем более, что снижение скорости фотосинтеза в первые сутки роста растений при дефиците питания трудно объяснить прямым влиянием снижения содержания минеральных солей в ксилемном экссудате. Таким образом, если недостаток осмотически активных компонентов в клетках побега мог объяснить торможение его роста, оставался нераскрытым механизм относительной активации роста корней при дефиците питания, поскольку в клетках корней осмотическое давление через сутки после переноса растений на дефицит питания практи-

чески не отличалось от контроля (табл. 7), а через двое суток наблюдалась лишь тенденция к его снижению (данные не приведены). Но на данном этапе исследований уже было очевидным, что в растении запустился механизм усиления притока ассимилятов из побега в корень, о котором свидетельствует обнаруженное нами снижение соотношения сухой массы побег/корень через 2 суток (табл. 8).

Таблица 8.

Соотношение побег/корень сухой массы одного растения пшеницы при разбавлении питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1% (t – время после разбавления раствора X-A); n = 50

t, ч	Побег/корень	
	10 %	1 %
24	2,28±0,06	2,29±0,05
48	2,7±0,05	2,3±0,07

Перераспределение ассимилятов могло быть причиной преимущественного роста корней, которое проявлялось в увеличении скорости их удлинения у растений дефицитной по питанию среды и поддержании накопления биомассы на уровне, не ниже того, который был зарегистрирован у растений, выращенных на оптимальной питательной среде.

Далее необходимо было выяснить, каким образом осуществляется изменение распределения ассимилятов между побегом и корнем у растений под влиянием дефицита минерального питания. Как неоднократно отмечалось выше, эта ростовая реакция имеет большое значение в адаптации растений к условиям обитания, т.к. она направлена на поиск питания в зоне корней, а также приводит к увеличению площади поглощающей поверхности корня. Поскольку запуск этой адаптивной реакции не удалось связать напрямую с нарушением водного обмена, необходимо было продолжить поиск возможных регуляторных механизмов. Роль гормонов как регуляторов многих процессов у растений хорошо известна (Leopold, Nooden, 1984). Поэтому далее нами было изучено влияние дефицита минерального питания на содержание гормонов в растениях.

Взаимодействие субстратных и гидравлических сигналов в индукции накопления АБК в побеге

Типичная ростовая реакция растений на дефицит питания характеризуется снижением соотношения масс побег/корень, как было описано выше. Но подобное перераспределение массы в пользу корней не всегда

можно объяснить доступностью ресурсов, так как этому чаще всего не предшествуют изменения содержания макроэлементов в побеге (Kuiper et al., 1988; Forde, 2002). Это позволяет предположить, что растения имеют централизованную гормональную систему регуляции роста корня и побега в условиях недостатка питания (Chapin, 1990). Хорошо известно, что дефицит питания вызывает снижение содержания цитокининов (Kuiper et al., 1988; Кудоярова, Усманов, 1991; Forde, 2002; Rahaya et al., 2005) в то время как содержание АБК повышается (Chapin, 1990). АБК предположительно вызывает ингибирование роста побега и способствует перераспределению ассимилятов в корень, поддерживая его рост (Chapin, 1990; Beck, 1996; Munns, Cramer, 1996). Большинство доказательств вовлечения гормонов в регуляцию роста растений при дефиците питания отрывочны. В последние годы предпринято несколько попыток проследить гормональный баланс у мутантов с измененным гормональным статусом в условиях полного отсутствия элементов минерального питания в среде или при исключении из среды одного из ионов (Chapin, 1990; Dodd et al., 2004; Rahaya et al., 2005). Предполагается, что изменение концентрации гормонов играет важную роль в регуляции адаптивных реакций, направленных на приспособление растений к изменению уровня минерального питания. Однако механизмы изменения гормонального баланса при этом воздействии не до конца ясны.

При нашем способе моделирования дефицита питания путем десятикратного разбавления 10%-ного раствора X-A мы не обнаружили накопления АБК в корнях и ксилемном экссудате, но в побеге содержание гормона повышалось в несколько раз уже через сутки (табл. 9). Накопление АБК в побеге во многих случаях приводило к уменьшению устьичной проводимости и снижению скорости транспирации растений (Mansfield, 1990).

Таблица 9.

Содержание АБК в листьях и корнях (пмоль/г сырой массы) и содержание в ксилемном соке (пмоль/г) растений пшеницы, которые постоянно росли на 10% растворе X-A, и через сутки после переноса на 1% X-A. Отбор проб осуществлялся одновременно для обоих вариантов. n=5; *- статистически достоверно отличающиеся значения от контроля (10% X-A); t-тест, p<0,05

Пробы	Содержание АБК	
	10% X-A	1% X-A
Лист	87±11	178±19*
Корень	45±4	38±4
Ксилемный экссудат	4,5±0,4	5,7±0,6

В наших опытах мы обнаружили, что устьичная проводимость растений при разбавлении питательного раствора оставалась на уровне контроля. Это противоречило хорошо известной способности АБК закрывать устьица. В то же время из литературы известно, что в большинстве случаев не общее содержание АБК в побеге имеет отношение к регуляции устьичной проводимости, а АБК ксилемного сока (Zhang, Davies, 1989; Hartung et al., 2002), в котором нами не было обнаружено существенного изменения содержания этого гормона. Очевидно, что отсутствие реакции устьиц на разбавление питательного раствора в наших экспериментах было обусловлено неизменным содержанием АБК в ксилемном соке.

Известно, что накопление АБК в листьях в результате засухи или экзогенная обработка растений этим гормоном приводят к снижению фотосинтетического фосфорилирования и интенсивности фотосинтеза (Porova et al., 1996; Liu et al., 2004). По данным литературы, скорость ассимиляции углекислого газа снижалась при существенном накоплении гормона (в 1-6 раз), скорость же роста снижалась в случае падения скорости фотосинтеза на 40% и более в процессе формирования плода у бобов. В наших опытах содержание АБК в листьях растений пшеницы через сутки дефицита ионов увеличивалось более чем в 2 раза. Поэтому мы предположили, что накопление АБК в побеге у растений пшеницы при разбавлении питательного раствора могло быть причиной обнаруженного нами снижения уровня фотосинтеза. А это в свою очередь могло повлиять на соотношение побег/корень через торможение роста побега.

Попробуем доказать причастность накопившейся в побеге АБК к регуляции перераспределения массы в пользу корня путем применения ингибитора синтеза АБК. Добавление в питательную среду флуридона предотвращает синтез АБК в растениях и, если ростовая реакция растения на дефицит питания связана с накоплением АБК в побеге, то обработка должна ее изменить. Мы также измеряли устьичную проводимость и скорость фотосинтеза для того, чтобы убедиться в том, что воздействие самого флуридона на эти показатели минимально.

Из таблицы 10 видно, что добавление в разбавленную питательную среду ингибитора синтеза АБК почти не изменяло показатели уровня фотосинтеза и устьичной проводимости по сравнению с растениями, подвергавшимися воздействию только дефицита питания. И хотя масса побега и корня была меньше, чем у растений на обоих уровнях питания, добавление флуридона в дефицитную питательную среду приводило к восстановлению соотношения масс побег/корень до уровня растений с оптимальной питательной среды (табл. 10). Таким образом, мы видим, что регуляция

соотношения масс побег/корень при дефиците питания осуществляется с участием АБК, которая накапливается в побеге.

Таблица 10.

Сырая масса побегов и корней, а также их соотношение, скорость ассимиляции углекислого газа и устьичная проводимость растений пшеницы через два дня после разбавления питательного раствора с 10%-го до 1%-го X-A и добавления флуридона (конечная концентрация 5 мг/л). Достоверные различия значений для разных способов выращивания растений с вероятностью более 95% по критерию Стьюдента (n=20) обозначены *

Обработка	10% X-A	1% X-A	1% X-A + флуридон
Масса побега, мг	225±5	202±6*	193±7*
Масса корня, мг	132±5	131±6	111±4
Побег/корень	1,7	1,5*	1,7
Ассимиляция CO ₂ , мкмоль/(м ² с)	11±1	6±1*	5±1*
Устьичная проводимость, ммоль/(м ² с)	86±4	95±5	79±4

Попытки изучения механизмов регуляции роста абсцизовой кислотой предпринимались неоднократно. Хотя многие воспринимают это соединение только как ингибитор роста, данные на этот счет неоднозначны. Так, рост АБК-дефицитного мутанта ингибировался независимо от его водного статуса из-за повышенной продукции этилена (Sharp, 2002), предполагая необходимость АБК для поддержания роста путем подавления продукции этилена. Учитывая то, что дефицит питания вызывает в растениях накопление абсцизовой кислоты, которое сопровождается снижением содержания цитокининов (Chapin, 1990), а экзогенная АБК повышает уровень экспрессии гена цитокиноксидазы (Brugiere et al., 2003), можно предположить, что рострегулирующая функция накопившейся в побеге АБК осуществляется также и через изменение уровня цитокининов. Каким образом это может осуществляться - рассмотрим несколько позже. А пока уместно ответить на вопрос об источнике накопления АБК в побеге при дефиците питания.

Исходя из представленных данных, мы не можем связать первоначальное накопление АБК в побеге с доставкой ее из корней. Доставка гормона в побег после переноса растений на дефицитную питательную среду оставалась неизменной исходя из наших данных об отсутствии существенных изменений содержания АБК в ксилемном соке

и стабильной скорости транспирации. Как мы уже предполагали, это могло быть результатом синтеза гормона в побеге в ответ на обнаруженное нами падение тургора листа (Pierce, Raschke, 1980) при дефиците питания. Локальное повышение содержания гормона независимо от его концентрации в ксилеме и от доставки находится в противоречии с данными из других работ (Dodd et al., 2004), ставя под сомнение роль дальнего АБК - сигналинга при дефиците питания. Однако измерение концентрации связанных форм АБК показало, что рост растений при дефиците питания в течение суток приводит к повышению содержания в ксилемном экссудате конъюгатов АБК. Концентрация конъюгированной формы АБК в экссудате растений, росших на оптимальной питательной среде, была 64 ± 8 нМ, а у растений, росших на разбавленном растворе, - 136 ± 8 нМ. Принимая во внимание незначительные изменения транспирации у растений разных уровней питания, доставка конъюгатов АБК также возрастала через сутки после разбавления питательного раствора. Подобные изменения содержания связанных форм АБК в ксилемном экссудате уже были обнаружены у бобов при недостатке в среде фосфора (Jeschke et al., 1997). Это было аргументом для предположения о том, что экспорт из корней связанной АБК может выступать в качестве сигнала из корня в побег (Sauter et al., 2002) и может также вносить вклад в повышение концентрации АБК в побеге. Возможно, что в наших опытах отсутствие накопления свободной АБК в корнях в ответ на дефицит питания связано с активным транспортом гормона в побег в конъюгированной форме. Таким образом, результаты наших исследований говорят в пользу того, что накопление АБК в побеге вследствие роста растений в течение суток на разбавленном питательном растворе может быть результатом синтеза гормона в самом побеге и гидролиза транспортируемых из корней конъюгатов АБК.

Итак, мы видим, что десятикратное разбавление 10%-го Х-А вызывает у растений пшеницы снижение содержания ионов и повышение концентрации связанной АБК в ксилемном экссудате. Эти изменения можно рассматривать в качестве корневого сигнала, который мог индуцировать изменения, происходящие в побеге. Увеличение доставки связанной АБК на фоне постоянно снижающейся доставки элементов питания могло привести к довольно быстрому накоплению этого гормона в листьях, который в свою очередь мог индуцировать снижение скорости ассимиляции углекислого газа напрямую или через влияние на другие гормоны, например, цитокинины. Снижение потока ассимилятов не могло не сказаться на обеспеченности тканей осмотическими веществами и привело к падению тургора клеток листа. Падение тургора может запускать механизм синтеза АБК уже в самом

побега. И таким образом корневой гормональный сигнал, подкрепленный субстратным и гидравлическим, мог усиливаться уже в самом побеге. Очевидно, что для растения в условиях недостатка элементов питания распространение этих сигналов связано с регуляцией ростового ответа – торможением роста побега и относительной активацией роста корней.

Флоэмный транспорт АБК и регуляция роста корней

Разбавление оптимального для роста питательного раствора в наших опытах ингибировало рост побега, в результате чего соотношение масс побег/корень снижалось. К концу первых суток произрастания на разбавленном растворе у растений наблюдали активацию роста корня в длину (табл. 11).

Что касается гормонального баланса, то нами было показано, что через день после разбавления раствора в побеге накапливалась АБК и снижалось содержание ЦК. В корнях также наблюдали снижение содержания цитокининов, но содержание АБК практически оставалось неизменным. Ксилемные потоки этих гормонов в этот период времени также не изменялись по сравнению с растениями оптимального питательного раствора.

Таблица 11.
Скорость роста корней в длину у растений пшеницы на 10%-ном и 1%-ном растворах Хогланда-Арнона через 1 сутки после начала эксперимента. *- Различия по скорости роста между растениями с разных питательных растворов с вероятностью более 95% и ** - с вероятностью более 99% по критерию Стьюдента; n=50

Время после разбавления раствора X-A, ч	Скорость роста, мм/сутки	
	10%	1%
24	19,4±0,7	22,3±1,2*
48	9,6±1,6	16,1±2,2**

Применение ингибитора синтеза АБК подтвердило наше предположение о том, что при дефиците питания перераспределение АБК регулирует перераспределение ассимилятов в пользу корня. Позитивная роль АБК в поддержании роста корня при стрессе была показана и другими авторами (Saab et al., 1990; Sharp et al., 2004). Однако на сегодняшний день большой поток информации свидетельствует в пользу того, что формирование архитектуры корня в

большей мере находится под контролем ауксинов и цитокининов и зависит от их взаимодействия, что согласуется с нашими данными по регуляции роста корней после их редукции. Поэтому выращивание растений на разбавленном питательном растворе также представляет интерес с точки зрения роли гормонов в процессах регуляции роста корня на уровне инициации примордиев и роста боковых корней.

Из рисунка 12 видно, что разбавление питательного раствора Хогланда-Арнона в 10 раз привело к достоверному снижению числа примордиев боковых корней на главном корне растений дефицитной питательной среды (1%-ный раствор X-A) по сравнению с контролем (10% раствор X-A). К этому моменту еще не было никаких видимых различий по числу образовавшихся боковых корней. Поэтому мы можем полагать, что и в этих экспериментах, как и в экспериментах с удалением части корней, появившиеся боковые корни были сформированы из уже имеющихся до начала эксперимента примордиев боковых корней на материнском корне.

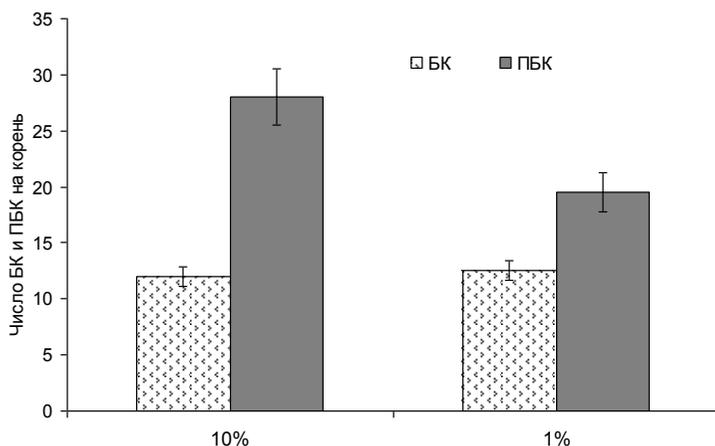


Рис. 12. Число боковых корней (БК) и примордиев боковых корней (ПБК) на главном корне растений пшеницы через 48 ч после разбавления питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1 %; n=15

Таким образом, и контрольные, и дефицитные по питанию растения не отличались по скорости появления боковых корней на поверхности материнского главного корня, не отличалась также и их суммарная длина (57 ± 8 и 61 ± 9 мм соответственно). Совершенно очевидно, что в данной серии экспериментов дефицит минерального

питания приводил к нарушению инициации боковых корней, так как уменьшалось число примордиев боковых корней на главном корне (рис. 12). Со временем это может привести к уменьшению числа боковых корней и плотности ветвления. Известно, что в регуляции роста и инициации боковых корней, прежде всего, причастны ауксины и цитокинины, поэтому в данной части работы важно было проанализировать не только их содержание в органе, но и транспорт из побега. Эксперименты показали, что перенос проростков на среду с низким содержанием питательных веществ не вызывал больших изменений в содержании ИУК в корне и не оказывал существенного влияния на их транспорт по флоэме даже через сутки после начала эксперимента (табл. 12). В этих экспериментах такой результат не может показаться неожиданным, поскольку именно с ИУК связывают инициацию примордиев и формирование апикальной меристемы растущего примордия (Casson, Lindsey, 2003), а скорость транспорта ауксинов из побега - с активацией роста примордиев и формированием боковых корней из зрелых примордиев боковых корней.

Таблица 12.

Содержание ИУК в корне и скорость транспорта (скорость вытекания из изолированного побега в раствор с ЭДТА) из побега у растений пшеницы через 24 ч после разбавления питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1 %; n = 9

Концентрация питательного раствора X-A, %	Содержание ИУК в корне, сырой массы	Содержание ИУК в апексе корня (3-4мм), сырой массы	Скорость транспорта ИУК из побега, пг/(растение*ч)
10	12±2	44±4	170±11
1	9±1	36±5	190±19

В то же время содержание ауксина на г сырой массы целого корня имело тенденцию к снижению, а различие могло проявиться в большей мере в зоне закладки примордиев боковых корней. Однако мы видим, что и в кончике корня 3-4 мм длиной, где в зоне растяжения осуществляются первые деления инициальных клеток примордия (Демченко и др., 2001; Демченко, Демченко, 2001), в условиях дефицита питания концентрация ауксина изменяется незначительно по сравнению

с контролем. Необходимо было выяснить, с чем связано подавление инициации боковых корней?

В предыдущем разделе мы подробно обсуждали роль цитокининов в формировании примордиев боковых корней. Общепринятое мнение о том, что цитокинины тормозят рост корней в последних работах дополнено сведениями о том, что цитокинины проявляют ингибирующий эффект на стадии индукции примордия.

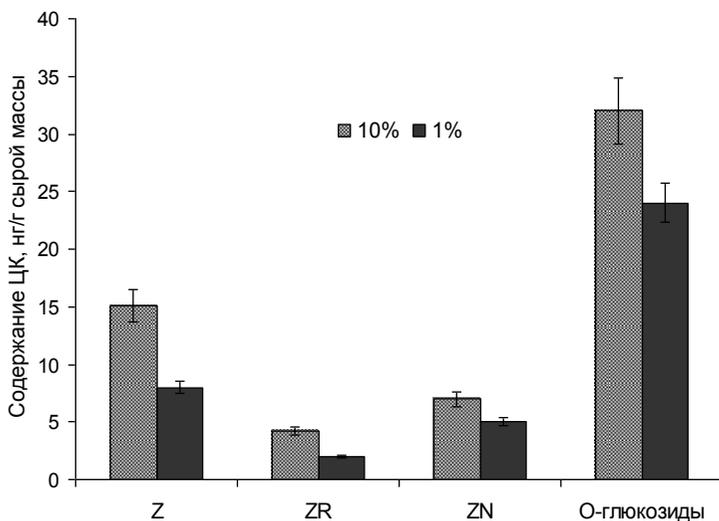


Рис. 13. Содержание ЦК (Z-зеатин, ZR-зеатинрибозид, ZN-зеатиннуклеотид, O-глюкозиды) в главном корне растений пшеницы через 24 ч после разбавления питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1 %; n = 9

На рис. 13 представлены результаты измерения содержания производных зеатина в главном корне контрольных растений пшеницы (10% X-A) и растений, которые в течение суток росли на разбавленном питательном растворе X-A. Мы обнаружили снижение содержания гормона у растений с дефицитной питательной среды на 30-40% по сравнению с контрольными растениями. Это вполне соответствует данным литературы о том, что дефицит питания (в основном недостаток азотсодержащих ионов и фосфора) приводит к снижению содержания цитокининов в растениях (Salama, Wareing, 1979; Sakakibara et al., 1998). Анализ динамики содержания разных форм цитокининов также показал ожидаемые изменения. В наибольшей степени было выражено снижение активных форм цитокининов (зеатин, зеатинрибозид), но фактически не

было достоверных различий между контрольными и опытными корнями по содержанию запасных форм цитокининов - О-глюкозидов. Однако с этими изменениями гормонального баланса трудно связать наблюдаемую нами (рис. 13) ростовую реакцию корня. Учитывая наш вывод из предыдущего раздела о том, что рост боковых корней является, по меньшей мере, результатом взаимодействия ауксинов и цитокининов, изменениями в содержании этих гормонов, которые нам удалось обнаружить при дефиците питания, мы могли бы объяснить активацию инициации примордиев, но никак не торможение этого процесса.

С другой стороны наши данные по изучению транспорта цитокининов в корень из побега по флоэме подтверждают положение о том, что цитокинины необходимы для роста уже сформированного примордия (Debi et al., 2005) (таб. 13). Мы также видим доказательства того, что именно транспортируемые из побега цитокинины могут иметь существенное значение для роста боковых корней. Несмотря на то, что в течение первых суток флоэмный транспорт цитокининов не был стабильным, мы не наблюдали снижения поступления гормона из побега в корень в этот период времени. И это сопровождалось как неизменным количеством боковых корней, так и их одинаковой суммарной длиной.

Итак, проанализировав суточную динамику содержания в корнях и транспорта ауксинов и цитокининов из побега, взаимодействие которых наиболее часто изучают в связи с регуляцией процессов корнеобразования, нам так и не удалось выяснить, что же могло быть сигналом для торможения инициации боковых корней растений пшеницы при дефиците минерального питания.

Таблица 13.
Скорость транспорта цитокининов из побега (скорость вытекания из изолированного побега в раствор с ЭДТА, пг / (растение ч)) у растений пшеницы через 4,5 и 24 ч после разбавления питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1 %; n = 9

Время воздействия, ч	X-A, %	Z	ZR	ZN	Сумма
4,5	10	134 ± 13	132 ± 31	133 ± 39	399
	1	180 ± 35	225 ± 41	174 ± 41	579
24	10	201 ± 41	194 ± 36	198 ± 39	593
	1	174 ± 19	172 ± 48	208 ± 27	554

По литературным данным, АБК влияет на рост растений. И если в более ранних работах ее рассматривали в связи с подавлением роста или старением, то в настоящее время появились работы, которые свидетельствуют в пользу того, что этот гормон необходим для

поддержания роста и побега, и корня в условиях стресса (Пустовойтова и др, 1997; Sharp et al., 2004; Шакирова, 2001; Архипова, Анохина, 2009). По данным авторов (Deak, Malamy, 2005), ингибирование роста боковых корней при осмотическом стрессе является результатом взаимодействия стимулирующего ИУК и ингибирующего АБК сигналингов.

Используя ингибитор синтеза АБК, мы уже показали, что именно АБК способствовала поддержанию массы корня в условиях дефицита питания. Но нами было обнаружено некоторое противоречие между флоэмным транспортом АБК и ее содержанием в целом корне растений, которые сутки произрастали на разбавленной питательной среде X-A (таб. 14).

Таблица 14.

Содержание и скорость транспорта (скорость вытекания из изолированного побега в раствор с ЭДТА) АБК из побега у растений пшеницы через 24 ч после разбавления питательного раствора Хогланда-Арнона с 10 до 1 %; n = 9

Концентрация питательного раствора, %	Содержание АБК в корне, сырой массы	Содержание АБК в апексе корня (3-4мм), сырой массы	Скорость транспорта АБК из побега, пг/(растение ч)
10	12±1	26±3	260±29
1	10±1	40±4	440±35

Оно заключается в том, что содержание гормона почти не изменялось в главном корне растений через сутки после разбавления питательного раствора X-A с 10 до 1 %, а транспорт АБК по флоэме в корень увеличивался. Это противоречие было снято после определения содержания гормона в кончике корня, которое показало концентрирование АБК в растущей части корня (табл. 14). Такое же перераспределение АБК было обнаружено в корнях кукурузы при водном стрессе (Sharp, 2002), что способствовало поддержанию роста корня в длину в условиях дефицита воды и ограниченного поступления ассимилятов и других веществ из побега в корень. В то же время накопление АБК в кончиках корней кукурузы в отсутствие дефицита воды приводило к снижению скорости удлинения корня. Это говорит о том, что изменение условий окружающей среды может модифицировать ростовую реакцию корня в ответ на накопление данного гормона. В наших экспериментах разбавление питательного раствора также, с одной стороны, могло быть причиной относительной активации роста корней,

а с другой стороны, могло подавлять инициацию примордиев боковых корней. Наше последнее предположение находит подтверждение в недавних публикациях, касающихся роли АБК в формировании боковых корней (Smet et al., 2003). Показано также, что АБК играет важную регуляторную роль в ветвлении корня растений *Arabidopsis* в ответ на действие нитратов (Signora et al., 2001). Накопление АБК в апикальной части корней могло быть важным звеном регуляторных событий, приводящих к включению разнонаправленных механизмов, обеспечивающих с одной стороны поддержание роста корня в длину, а с другой - подавление инициации примордиев боковых корней в ответ на снижение содержания минеральных солей в питательном растворе.

Таким образом, обнаруженной ростовой реакции предшествовало изменение гормонального баланса корня, которое удалось зарегистрировать к концу первых суток. А поскольку ростовая реакция корня наиболее ярко проявлялась к концу вторых суток, то мы можем констатировать, что генерируемые гормональные сигналы в самом корне, а также изменение транспорта гормонов из побега предшествовали ростовой реакции корня и выполняли регуляторную функцию.

Формирование корневой системы находится под контролем, по меньшей мере, нескольких гормонов. В нашей работе нам удалось показать роль ауксинов, цитокининов и АБК при разных воздействиях на растения пшеницы. Нами были получены убедительные аргументы в пользу того, что именно динамика гормонального баланса является важным звеном в формировании архитектуры корневой системы растения. При этом в конкретных условиях окружающей среды регуляторная роль того или иного гормона может проявляться наиболее ярко. Так, в случае экспериментов с удалением корней было обнаружено увеличение содержания ауксинов и цитокининов, а ростовая реакция характеризовалась активацией роста боковых корней и инициацией примордиев боковых корней. Дефицит минерального питания вызывал более сложную картину в динамике изученных гормонов. Содержание одних гормонов оставалось почти неизменным (ауксины), в то время как содержание других снижалось (цитокинины). Перераспределение АБК в область закладки боковых корней могло способствовать подавлению процесса инициации примордиев боковых корней, обеспечивая поддержание роста корня в длину в условиях недостатка питательных элементов в среде.

Механизмы регуляции содержания ЦК в побеге

До настоящего времени остается неясным вопрос о том, чем обусловлены гормональные изменения в побеге при дефиците питания – изменением экспорта гормонов из корней или локальными изменениями в побеге (Jackson, 1993; Davies et al., 2005). Известно, что все классические гормоны могут синтезироваться как в корнях, так и в побегах. Хотя корни считаются основным местом синтеза цитокининов в растениях (Jackson, 1993; Aloni et al., 2005), а дефицит питания (чаще всего нитратный) вызывает снижение содержания цитокининов в ксилемном экссудате и их доставки в побег (Takei et al., 2001; Rahayu et al., 2005), внесенный в питательный раствор нитрат может напрямую регулировать экспрессию *ipt*-генов, ответственных за синтез цитокининов (Miyawaki et al., 2004; Takei et al., 2004). В начале данного раздела мы также представили данные, подтверждающие связь между содержанием цитокининов в листьях и экзогенным нитратом, а также показали возможность синтеза цитокининов в изолированных листьях. В других работах было показано, что разные генотипы гороха демонстрировали сходный ростовой ответ побега на дефицит питания независимо от разной концентрации цитокининов в ксилемном соке (Dodd et al., 2003). Перечисленные факты поставили под сомнение значение корневого сигналинга цитокининов и их значимость в регуляции локальных процессов. В то же время рост томатов в условиях дефицита питания в гидропонической среде приводил к резкому снижению концентрации цитокининов и их доставки, которое коррелировало со скоростью роста листьев (Rahayu et al., 2005). Это говорило в пользу того, что дефицит питания может угнетать способность корней к продукции цитокининов, а побег зависит от поставки ЦК из корней. Еще одна проблема заключалась в том, что в наших экспериментах с засухой в области части корней растений томата (PRD – растения) цитокининовый статус побега невозможно было связать ни с концентрацией цитокининов в ксилемном соке, ни с их доставкой в побег. Поэтому далее в наших исследованиях мы попытались связать ростовую реакцию растений на дефицит питания, которая наиболее четко проявлялась через два дня после воздействия, не только с изменением содержания и транспорта АБК или цитокининов, но также сочли необходимым проанализировать их взаимовлияние.

Как изменялся цитокининовый статус у растений пшеницы при дефиците ионов в результате разбавления оптимального питательного раствора? При десятикратном разбавлении раствора 10%-го Хогланда-Арнона мы не обнаружили существенного изменения содержания цитокининов в ксилемном экссудате через сутки после переноса растений на разбавленную питательную среду (табл. 15). По нашим данным, поток

цитокининов из корней также оставался неизменным, т.к. не изменялась транспирация при данном воздействии. Эти результаты согласуются с данными экспериментов, которые показывают отсутствие корреляции между доставкой цитокининов из корней и ростовым ответом растений при дефиците азота (Dodd, Beveridge, 2006). Несмотря на сохранение на уровне контроля доставки цитокининов, их концентрация в побегах и корнях через сутки произрастания растений пшеницы на 1%-ном растворе X-A уменьшалась примерно вдвое (табл. 15). Мы также обнаружили снижение содержания цитокининов в листьях на фоне неизменного притока цитокининов из корней. Нами было высказано предположение о том, что частичная корневая засуха и дефицит питания могли привести к изменению метаболизма цитокининов в самом побеге. Каким образом это может осуществляться в условиях дефицита минеральных солей в питательном растворе? Для ответа на вопрос необходимо было исследовать механизмы формирования гормонального статуса побега в условиях дефицита ионов в питательном растворе.

Таблица 15.

Содержание гормонов (нг/г сырой массы) в побегах и корнях, а также в ксилемном соке (нг/г ксилемного сока) выращиваемых на 10%-ном растворе X-A растений пшеницы и через 1 сутки после переноса на 10%-ный раствор X-A, содержащий АБК (конечная концентрация 3 мг/л), 1%-ный раствор X-A и 1%-ный раствор X-A, содержащий флуридон (Ф) (конечная концентрация 5 мг/л). Достоверно отличающиеся значения обозначены разными буквами; t-тест, $P \geq 0,95$

Обработка	ЦК (Z+ZR+ZN)			АБК		
	Побег	Корень	Ксилема	Побег	Корень	Ксилема
10 % X-A	86±8 ^a	39±5 ^a	52±5 ^a	20±4 ^a	14±2 ^b	88±9 ^b
10 % X-A +АБК	60±8 ^b	26±3 ^b	48±3 ^a	62±8 ^b	47±9 ^c	130±8 ^c
1 % X-A	55±7 ^b	19±4 ^b	50±6 ^a	51±7 ^b	11±1 ^{ab}	100±11 ^b
1 % X-A +Ф	74±8 ^a	30±4 ^{ab}	54±4 ^a	30±6 ^a	8±1 ^a	59±6 ^a

Способность побегов к синтезу цитокининов была показана на арабидопсисе (Miyawaki et al., 2004), при этом экспрессия *ipt*-гена повышалась после нитратной обработки. Результаты наших экспериментов с опрыскиванием изолированных листьев пшеницы растворами азотсодержащих солей дали аргументы в пользу способности листьев синтезировать цитокинины в условиях полного прекращения их притока из корней. Но особый интерес в связи с регуляцией содержания

цитокининов в побегах при дефиците минеральных солей представляют наши данные о том, что даже без экзогенных нитратов изолированные листья в течение первых двух суток после отделения от побега могут поддерживать довольно высокий уровень несвязанных цитокининов. В настоящее время вклад синтезируемых в листьях цитокининов в цитокининовый статус побега при различных внешних воздействиях все еще требует серьезного изучения. И, по мнению некоторых авторов, необходимо исследование потоков гормонов в модельных экспериментах (Jiang, Hartung, 2008), которые могли бы дать более подробную информацию.

Исходя из вышесказанного, снижение концентрации цитокининов в побеге на фоне их стабильного транспорта из корней в условиях дефицита питания может быть следствием снижения скорости их синтеза или активации деградации в побеге.

Как уже упоминалось выше, влияние процесса деградации цитокининов на их содержание в целом растении было изучено у трансгенных растений, сверхпродуцирующих цитокиноксидазу в отсутствие стресса (Werner et al., 2003) и при дефиците воды (Werner et al., 2010). Было показано также, что активность ЦКО увеличивается в побегах при различных внешних стрессовых воздействиях. Например, при охлаждении корней быстро повышалась активность фермента на фоне снижения относительного содержания воды в листьях (Veselova et al., 2005). В наших экспериментах дефицит питания через сутки еще не вызывал снижения водного потенциала, но приводил к падению тургора тканей листа. И это также могло повлиять на активность фермента. Но, по данным литературы, в экспериментах с исключением нитрата из среды поддержания тургора за счет создания давления на корни было недостаточно для сохранения скорости роста листа (Dodd et al., 2003). Очевидно, что в случае наших экспериментов с дефицитом питания, прежде всего, следует обсудить сигналы негидравлической природы, а именно накопление АБК в побеге.

Опираясь на известный факт о том, что экзогенная АБК активирует экспрессию генов цитокиноксидазы (Brugiere et al., 2003), мы предположили наличие прямой связи между содержанием АБК и активностью ЦКО в побеге растений пшеницы в условиях дефицита питания. Для того чтобы проверить эту гипотезу, мы должны были проанализировать ростовой ответ растений, содержание ЦК и АБК в ксилемном экссудате, в побегах и корнях, а также активность ЦКО не только при двух уровнях минерального питания, но также применяя ингибитор синтеза АБК флуридон (Spollen et al., 2000) и экзогенную обработку растений абсцизовой кислотой. АБК вводили в оптимальную питательную среду (10% X-A) для стимуляции накопления гормона в

растении. И, напротив, флуридон мог предотвратить накопление АБК в побеге растений, росших на разбавленном питательном растворе.

Таблица 16.

Сырая масса побега и корня (мг) и соотношение масс побег/корень на 10%-ном растворе X-A и через 2 суток после переноса растений на 10%-ный раствор X-A, содержащий АБК (конечная концентрация 3 мг/л), 1%-ный и 1%-ный раствор X-A, содержащий флуридон (Ф) (конечная концентрация 5 мг/л). Достоверно отличающиеся значения обозначены разными буквами; t-тест, $P \geq 0,95$, $n=10$

Воздействие	Побег	Корень	Побег/корень
10% X-A	152±9	82±4	1,86±0,04 ^a
10% X-A+АБК	128±6	75±3	1,71±0,08 ^{ab}
1% X-A	127±4	87±5	1,49±0,08 ^b
1% X-A+Ф	127±6	72±5	1,78±0,06 ^a

В таблице 16 представлены результаты измерения сырой массы побегов и корней при воздействии флуридона - ингибитора синтеза АБК (Spollen et al., 2000). Мы добавляли его в 1%-ный раствор X-A для предотвращения накопления АБК в побеге, которое мы обнаружили через сутки после переноса растений с 10%-го X-A. Из таблицы видно, что нарушение синтеза гормона сохраняло соотношение масс побег/корень близким к таковому у растений на оптимальной питательной среде. Однако следует отметить, что присутствие флуридона в определенной мере подавляло рост как побега, так и корня. Добавление АБК в 10%-ный раствор X-A (оптимальный для роста уровень питания) через двое суток также приводило к подавлению роста побега и корня, но в большей степени подавлялся рост побега. Наши данные еще раз подтверждают данные литературы о том, что в стрессовых условиях АБК может поддерживать рост корня.

Из таблицы 15 видно, что обработка флуридоном действительно приводила к снижению содержания АБК и в корнях, и в побегах растений на фоне дефицита питания (1% раствор X-A), при этом содержание цитокининов было выше как в корнях, так и в побегах по сравнению с растениями, которые росли на разбавленной питательной среде без флуридона. Следует обратить внимание на то, что флуридон действительно способствовал предотвращению накопления АБК и повышению уровня цитокининов в растении, но при этом содержание

АБК все еще оставалось выше, а цитокининов - ниже, чем в растениях оптимального варианта питательного раствора (10% раствор X-A). Таким образом, мы видим связь между содержанием АБК и цитокининов и соотношением масс побег/корень (таблицы 15 и 16).

Совершенно иная картина была характерна для растений, которые росли на оптимальной питательной среде (10% X-A) с добавлением в питательный раствор АБК. Через сутки после внесения гормона в питательный раствор АБК накапливалась, как в корнях, так и в побегах, а содержание в них цитокининов снижалось (табл. 15). При этом накопление АБК было более выраженным, чем при дефиците питания и было характерно и для побега, и для корня. Соответственно, соотношение масс побег/корень (табл. 16) хотя и имело тенденцию уменьшения по сравнению с соотношением масс побег/корень для растений с оптимального питательного раствора (10% раствор X-A), но достоверного различия между ними в наших опытах не было обнаружено. Тем не менее, и в данной серии экспериментов четко прослеживалась связь между содержанием в побеге абсцизовой кислоты и цитокининов. Возможная причастность АБК к контролю содержания цитокининов делает актуальной проблему изучения влияния этого гормона на активность цитокининоксидазы при введении в питательные растворы флуридона и АБК. Тем более что, по данным литературы, экзогенная АБК может влиять на активность цитокининоксидазы и на экспрессию генов, кодирующих этот фермент.

Изучив активность ЦКО при разных уровнях питания и разных обработках, мы обнаружили различия в активности цитокининоксидазы (рис. 14) через сутки после десятикратного разбавления питательного раствора X-A одновременно со снижением содержания цитокининов и увеличением содержания АБК в побеге.

Добавление АБК в 10%-ный питательный раствор X-A приводит к активации цитокининоксидазы, также как и десятикратное разбавление самого питательного раствора (дефицит питания) по сравнению с активностью фермента растений на оптимальном питательном растворе (10% X-A), и совпадает со снижением содержания цитокининов в побегах. Введение в разбавленный питательный раствор (1%-ный X-A) флуридона для предотвращения накопления АБК, которое было характерно для растений с этим типом питания, привело к снижению активности цитокининоксидазы по сравнению с растениями с дефицитной питательной среды. Тем не менее, активность фермента была выше, чем у растений, получавших оптимальное питание (10% X-A), что также было пропорционально содержанию цитокининов и АБК в побеге.

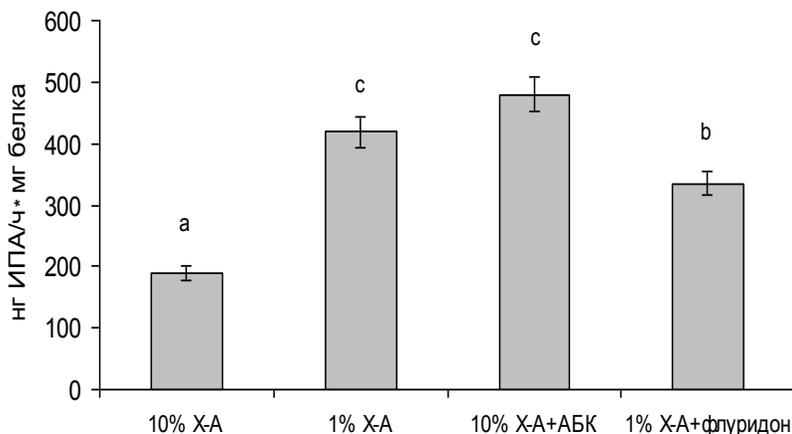


Рис. 14. Активность цитоканинооксидазы в побегах выращиваемых на 10%-ном растворе X-A растений пшеницы и через день после переноса на 10%-ный X-A, содержащий АБК (конечная концентрация 3 мг/л); 1%-ный X-A и 1%-ный X-A, содержащий флуридон (конечная концентрация 5 мг/л); достоверно отличающиеся значения обозначены разными буквами; t-тест, $P \geq 0,95$

Для того чтобы разобраться, важен ли транскрипционный уровень в регуляции активности цитоканинооксидазы, мы оценивали экспрессию гена ЦКО пшеницы методом ОТ-ПЦР. Анализ показал, что через сутки после перенесения растений пшеницы на 1% среду X-A под влиянием дефицита ионов в питательном растворе содержание транскрипта гена ЦКО в побеге возрастало примерно на 70% (рис. 15). Нами обнаружена корреляция между уровнем транскрипта гена и активностью кодируемого им фермента (рис. 14, рис. 15), что свидетельствует о том, что транскрипционный уровень играет в данном случае важную роль в регуляции активности ЦКО. При этом следует подчеркнуть, что изменение активности фермента соответствовало тем колебаниям в содержании цитоканинов, которые были выявлены как при дефиците минерального питания, так и частичной редукции корневой системы.

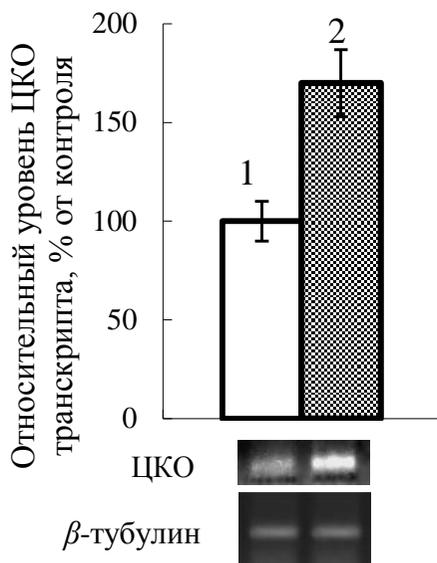


Рис. 15. Относительный уровень транскрипта гена цитокининоксидазы в побегах растений пшеницы, которые росли в течение 24 ч на 10% и 1%-ном питательном растворе X-A. Метод ОТ-ПЦР. Выравнивание количества РНК в образцах, взятых в реакцию, проводили путем сравнения в них экспрессии гена β -тубулина. 1 – контроль (10% раствор X-A); 2 – дефицит минерального питания (1% раствор X-A)

Это позволяет полагать, что распад цитокининов, связанный с активностью ЦКО, вносит свой вклад в обнаруженные нами изменения в содержании цитокининов при разных воздействиях: активация ЦКО под влиянием дефицита питания способствовала снижению содержания цитокининов, а снижение активности фермента – поддержанию уровня цитокининов в побегах растений при частичном удалении корней.

Таким образом, накапливающаяся в побегах абсцизовая кислота при разбавлении 10%-го питательного раствора X-A до 1%-го, может индуцировать разрушение цитокининов через активацию цитокининоксидазы. А регуляция активности цитокининоксидазы может быть одним из механизмов перераспределения биомассы в пользу корней.

Нельзя не отметить, что в наших экспериментах с дефицитом ионов в питательном растворе снижение содержания цитокининов в побегах было менее выраженным и более медленным, чем при удалении

части корней. Не исключено, что наблюдаемый при этом в течение суток после воздействия неизменный приток гормона из корней мог предотвратить резкое падение уровня цитокининов в побеге на фоне активации разрушающего их фермента. В то же время быстрое повышение содержания гормона в побеге после резкого снижения их доставки из корней вследствие редукции корневой системы наблюдали на фоне сниженной активности фермента.

Таким образом, сочетание изученных нами регуляторных механизмов на уровне транспорта и распада может обеспечивать регуляцию содержания цитокининов в разных частях растения.

3. РОЛЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В АДАПТАЦИИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ К РАЗНЫМ ФОРМАМ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ

В предыдущей главе обсуждались результаты влияния градиента минерального питания на гормональную систему растения. Настоящая глава посвящена исследованию возможной роли фитогормонов в процессах адаптации к различным формам азотного питания. Этот переход вызван следующими соображениями.

Во-первых, изучение одного из основных макроэлементов - азота, позволяет сконцентрировать внимание на однофакторном воздействии на фитогормональный статус. Во-вторых, уход от сверхоптимальных концентраций позволил избежать ингибирующего действия неорганических анионов, воздействие которых на гормональный баланс приведено в предыдущей главе настоящей работы. В-третьих, в литературе широко рассматриваются многие аспекты физиологического состояния, посвященные сравнительному исследованию влияния аммонийного и нитратного азота на растение. Это позволяет приблизиться к пониманию более тонких механизмов системы адаптации растения. Предполагалось, что выяснение взаимосвязи минерального питания и эндогенного гормонального статуса позволит установить некоторые механизмы первичной адаптационной стратегии растений.

В почве существуют две основные формы азота: нитратная и аммонийная. Нитратный и аммонийный азот физиологически равноценны для растения (Прянишников, 1945; Семенов и др. 1990). Физиологические механизмы процессов поглощения и усвоения азота нитратов и аммония существенно различаются. У большинства видов поглощение NO_3 происходит путем активного энергозависимого процесса, в то время как поглощение аммония может осуществляться несколькими способами (от активного переноса до диффузии) (Семенов, Соколов, 1983). Поглощенный аммоний практически весь ассимилируется в корнях (Lewis et al., 1982), а нитраты в зависимости от вида растения восстанавливаются в корнях и (или) в листьях (Srivastava, 1980; Ключикова, Алехина, 1983; Ширшова и др. 1986; Wang et al., 2012). Эти процессы и другие особенности приводят к формированию определенного морфофизиологического ответа корня. Нитратный азот способствует увеличению адсорбирующей поверхности и катионообменной емкости корней (Донцов, 1976; Сарсенбаев, Добрунов, 1980).

Однако, аммонийный азот поглощается более интенсивно, нежели нитратный (Hendricks, Taylorson, 1974). Торможение роста корней

по данным литературы коррелирует с накоплением в тканях корня ионов аммония, степень торможения роста корней находится в прямой зависимости от содержания NH_4 в корнях (Данилова, 1965). Данные о влиянии формы азота на содержание гормонов весьма немногочисленны (Ангелова и др., 1985; Зозикова, Ковачева, 1986; Кудоярова и др., 1990; Kudoyarova et al., 1997; Krouk et al., 2011).

Характеристикой демонстрирующей реакцию корневой системы на изменение условий питания является, также корневой индекс (отношение массы корней к массе надземной части). Так, вышеописанные изменения в сырой массе побега и корня сказались на корневом индексе (таблица 17). Корневой индекс возрос у растений нитратного варианта в период 5-7 суток роста на питательной среде, что говорит о доминирующем росте корня на данной форме питания.

Таблица 17

Изменение значений корневого индекса в период эксперимента при росте проростков пшеницы на аммонийной и нитратной форме питания

Источник азота	Сутки на питательной среде				
	1	2	3	5	7
NH_4^+	1,44	1,58	2,2	2,23	2,24
NO_3^-	1,4	1,51	1,8	2,02	1,55

Одним из адаптивных эффектов морфофизиологического ответа растений на нитратный фон минерального питания является формирование более развитой корневой системы по сравнению с аммонийным вариантом (Данилова, 1965). Поскольку известно, что рост контролируется гормональной системой растения, представлялось интересным изучение возможной роли фитогормонов в этом процессе.

Как видно из рисунка 16, достоверные различия по длине корней между растениями, выросшими на нитратном и аммонийном фонах питания, наблюдались в период с 5 по 7 сутки роста на питательной среде. Достоверной разницы по длине надземной части нами не было обнаружено. Эти данные противоречат результатам ряда исследователей, свидетельствующих об ингибирующем действии "аммиачного отравления" на растение (Осмоловская, Кренгауз, 1975). По нашему мнению, это, вероятно, связано с тем, что мы поддерживали рН на постоянном нейтральном уровне, что позволяло также оптимизировать условия поглощения аммонийных ионов (Ширшова и др. 1986; Егорова, Воробьев 1989).

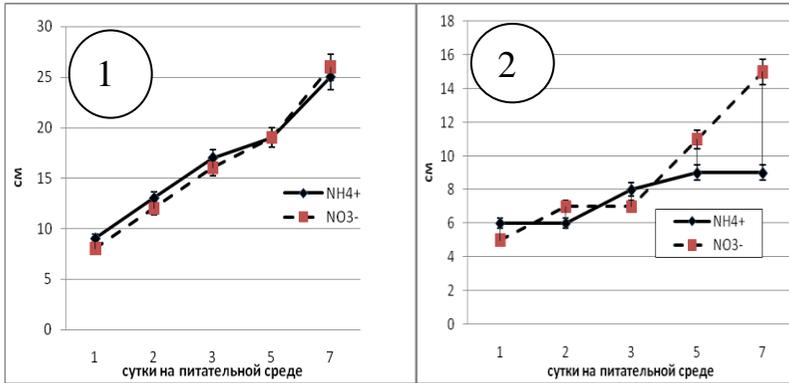


Рис. 16. Влияние аммонийной и нитратной формы азота на длину надземной части (1) и корней (2) растений пшеницы. На графике представлены средние значения ($n=5$) и их ошибки.

Сходная картина была получена нами по результатам измерений сырой массы проростков (рис. 17). Увеличение сырой биомассы корня шло параллельно с активацией роста корней в длину, т.е. разница по массе корней между нитратным и аммонийным вариантом проявлялась на седьмые сутки роста на питательной среде. Кроме того, наблюдалось незначительное превосходство у растений нитратного варианта по сырой массе надземной части после семи суток роста на питательной среде.

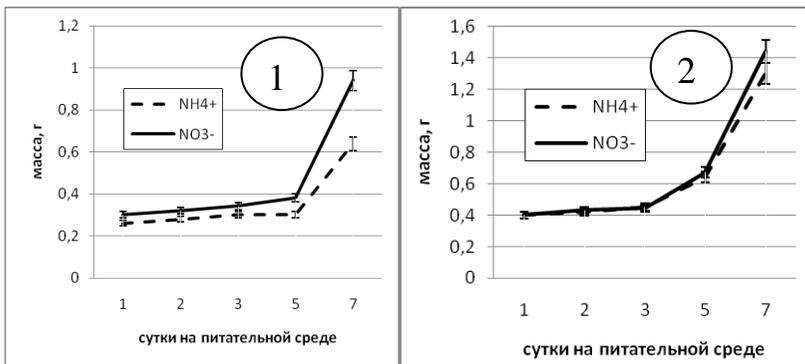


Рис. 17. Влияние аммонийной и нитратной формы азота на массу надземной части (1) и корней (2) растений пшеницы. На графике представлены средние значения ($n=5$) и их ошибки.

Приведенные результаты хорошо согласуются с литературными данными, свидетельствующими о стимуляции накопления биомассы растениями на нитратном фоне питания (Calain et al., 1980; Chaillan et al., 1986; Усманов 1986; Rahayu et al., 2005). Значения массы сухого вещества во многом повторяли динамику накопления сырой биомассы при росте на различных формах азотного питания.

Свидетельством того, что "аммонийные" растения не проявляли признаков угнетения послужили результаты, полученные при определении хлорофильного индекса, суммарной площади листьев и чистой продуктивности фотосинтеза. Площадь листовой пластинки была большей у "нитратных" растений примерно в полтора раза на седьмые сутки, однако, "аммонийные" растения имели более высокий хлорофильный индекс примерно на 44% (таблица 18). Так как оба этих показателя имеют непосредственное значение для фотосинтеза, представлялось интересным определение продуктивности фотосинтеза. Определение чистой продуктивности фотосинтеза, как показателя работы листьев по накоплению биомассы за семь суток роста на разных питательных средах, показало довольно близкие друг к другу значения, характеризующие работу фотосинтезирующего аппарата у растений нитратного и аммонийного вариантов (таблица 18). Вероятно, вышесказанное можно рассматривать как подтверждение равноценности обеих форм азотного питания, что соответствует данным литературы (Соколов и др., 1990).

Таблица 18

Изменение площади листовой поверхности, хлорофильного индекса и чистой продуктивности фотосинтеза (ЧПФ) у проростков пшеницы при росте на аммонийном и нитратном варианте питания

Параметры	Источник азота	Сутки на питательной среде			
		1	3	5	7
S листовой пластинки, см ²	NH ₄ ⁺	1,354	3,734	4,657	6,73
	NO ₃ ⁻	1,403	5,051	5,821	9,98
Хл _{а+в} , мг/г сырой массы	NH ₄ ⁺	13,4	9,61	5,5	1,87
	NO ₃ ⁻	12,28	7,29	3,72	1,17
ЧПФ, г/см ²	NH ₄ ⁺				0,0169
	NO ₃ ⁻				0,0163

Ввиду того, что корень первым вступает в непосредственный контакт с элементами минерального питания, поэтому начинаем

обсуждение результатов с первоначальной гормональной реакцией корней на воздействие разных форм азотного питания.

Как видно из рисунка 18, гормональный баланс в корнях растений складывался следующим образом. Наблюдалось возрастание уровня содержания АБК в корнях у "нитратных" растений на протяжении пяти суток, т.е. до начала активизации роста корней, а затем - резкое снижение содержания к седьмым суткам. Из литературы известно, что обработка растений АБК вызывает подавление активности нитратредуктазы (АНР) в корнях и накопление нитратов в корнях. (Palmer, 1985; Lu et al., 1992). Поскольку в данной серии опытов не определялась АНР, с определенной осторожностью, можно допустить предположение о том, что ингибирующее действие АБК на нитратредуктазу необходимо как сдерживающий фактор субстратной активации фермента, а накопление нитратов в корнях, в свою очередь, как определенный этап онтогенеза проростка.

У "аммонийных" растений динамика содержания АБК была обратной - максимальное содержание приходится на первые сутки, а затем происходило снижение уровня гормона вплоть до конца исследуемых сроков роста на питательной среде. Принимая во внимание, что ассимиляция аммония происходит практически полностью в корнях (Lewis et al, 1982; Marschner et al., 1997; Wang et al., 2012), а для поддержания оптимальной активности ферментов метаболизма аммония, как известно из литературы, необходим достаточно высокий уровень корневого дыхания (Shi Zheng - Qiang et al., 1990), можно предположить, что высокий уровень АБК в корнях мог способствовать активации в них дыхания. Это согласуется с литературными данными говорящими об увеличении уровня дыхания в корнях обработанных АБК растений (Markhart, 1982).

Прослеживается также изменение уровня содержания ИУК в корнях (рис. 19) подобно динамике содержания АБК. Накопление ИУК у "нитратных" растений, также шло до пятых суток роста на среде, а затем на седьмые сутки наблюдалось резкое снижение концентрации ИУК в корнях. При обсуждении этих данных необходимо выделить следующие моменты:

Во-первых, у растений нитратного варианта в период 2-5 суток роста на питательной среде визуально наблюдали более интенсивное образование боковых корней. По сравнению с аммонийным вариантом, этот процесс шел на фоне все повышающейся концентрации ИУК, что соответствует классическим представлениям о роли ИУК в корнеобразовании (Тоггеу, 1976).

Во-вторых, известна аттрагирующая способность гормонов ауксиновой природы в растениях (Полевой, 1986).

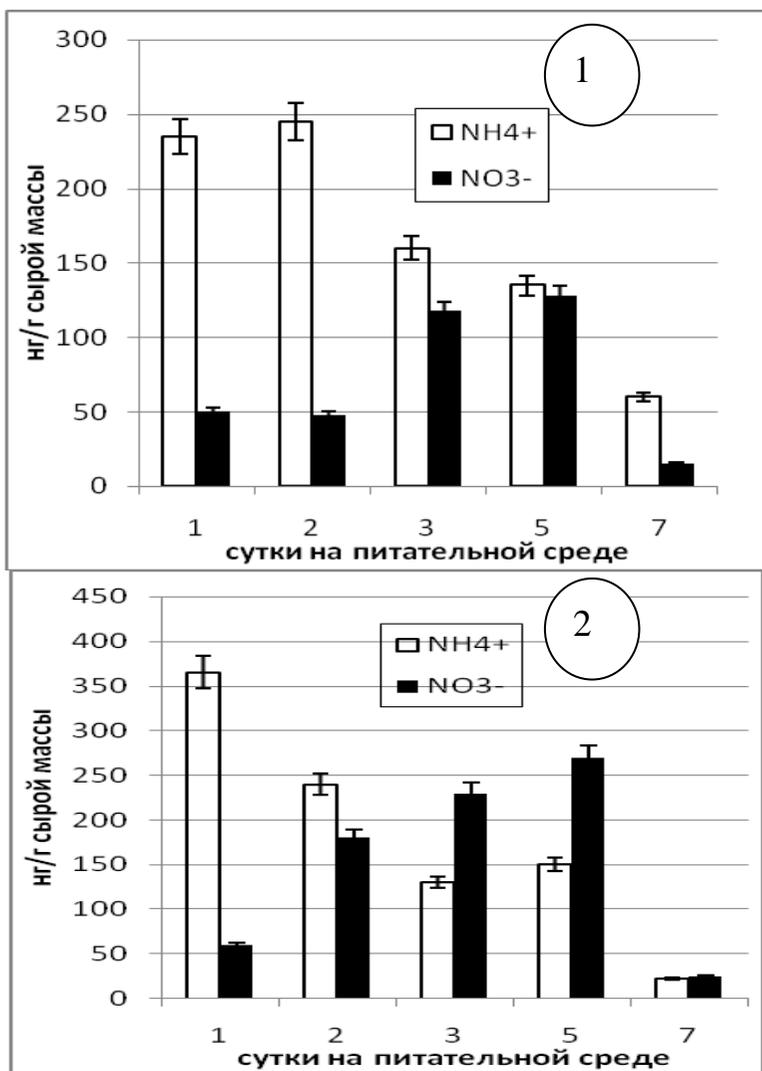


Рис. 18. Влияние аммонийной и нитратной формы азота на уровень содержания АБК в надземной части (1) и корнях (2) растений пшеницы. На графике представлены средние значения (n=5) и их ошибки.

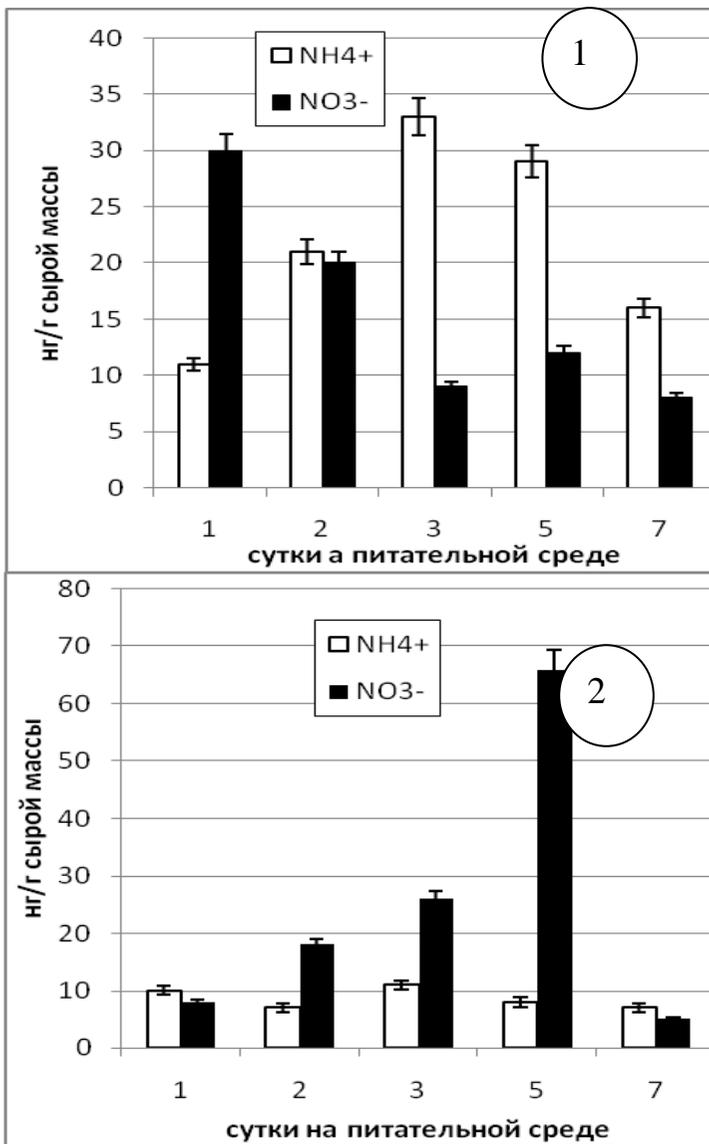


Рис. 19. Влияние аммонийной и нитратной формы азота на уровень содержания ИУК в надземной части (1) и корнях (2) растений пшеницы. На графике представлены средние значения (n=5) и их ошибки.

Накопление ИУК в корнях, как известно из литературы, может вызвать дополнительное поступление в корень углеводов и аминокислот из надземной части (Булатова, Анисимов, 1976; Казарян, Хачатрян, 1986), что вероятно может способствовать активному росту корня и усилению поглощения NO_3 (Жолобак, 1985; Walch-Liu et al., 2006). Близость характера динамики содержания ИУК и АБК в корнях нитратного варианта позволяет сделать предположение также об участии АБК в выше описанных процессах, что соответствует данным литературы о влиянии АБК на поглощение ионов (Karmoker, 1979).

И, наконец, вновь возвращаясь к динамике АБК в корнях можно предположить следующее. С одной стороны, известно предположение Р.С. Рейнеке, Д.М. Бандурского о том, что ростактивирующее действие ИУК связано с его инактивацией (Reineke, Bandyrski, 1987). С другой стороны, известен факт о том, что АБК может активировать регуляцию распада ИУК (Evans, 1984; Salopek-Sondi et al., 2013). Исходя из этого, можно предположить, что в нашем случае АБК также принимает участие в активации роста корней нитратного варианта, возможно через регуляцию метаболизма ИУК.

На фоне "аммонийного" питания наблюдали слабый гормональный ответ по содержанию ИУК в корнях (рис. 19), т.е. содержание ИУК в корнях на протяжении исследуемого периода изменялось в меньшей степени по сравнению с растениями нитратного варианта. Как известно ИУК принимает участие в регуляции роста корней в длину (Pilet, 1979; Silva, Davies, 2007), исходя из этого, можно сделать предположение, что относительно слабый рост в длину корней "аммонийных" растений связан в какой-то степени с низкой гормональной активностью ауксинов в корнях.

Определение содержания цитокининов показало следующую картину (рис. 20) - резкое увеличение уровня содержания цитокининов шло параллельно с активацией роста корней у "нитратных" растений.

Известны данные о том, что между ростом корня, числом вновь образующихся корневых меристем и синтезом цитокининов существует тесная взаимосвязь (Forsyth, Van Staden, 1981; Vysotskaya et al., 2001). В нашем случае активации роста корней произошла на седьмые сутки роста на питательной среде при возможном участии ауксинов и АБК (отмечалось резкое снижение концентрации данных гормонов см. рис. 18 и 19). На этом основании можно предполагать, что накопление цитокининов в корнях в какой-то степени является следствием активации роста корней.

Тенденцию к снижению имеет динамика содержания цитокининов в корнях у "аммонийных" растений, что вероятно, как и в

случае с другими гормонами, связано с отсутствием ростового ответа (рис. 20).

Переходя к обсуждению результатов оценки гормонального статуса надземной части проростка необходимо отметить, что первичная реакция корней оказывает свое влияние на формирование физиологического ответа побега. В литературе существует ряд экспериментальных данных, полученных при работе с экзогенными гормонами, однако использовать их при обсуждении результатов, полученных при анализе эндогенного гормонального статуса, необходимо более осторожно, т.к. на уровне целого растительного организма действие эндогенных гормонов носит более сложный характер (Karmoker, 1985).

На рисунке 19 показана динамика содержания ИУК в надземной части проростков пшеницы. У "нитратных" растений происходило постепенное снижение концентрации ИУК в надземной части по мере накопления ауксинов в корнях. Это может быть связано с участием ИУК в активации транспорта ассимилятов из надземной части в корень (Ткачук и др., 1991).

При обсуждении данных по надземной части обращает на себя внимание схожесть динамик содержания АБК и цитокининов в надземной части "аммонийных" растений. Однако связать их какими-либо из изучаемых нами параметрами нам не удалось. Судя по литературным данным, существует определенный интерес к рассмотрению взаимодействия АБК и цитокининов в растительном организме (El-Antably Named, 1976; Vysltskaya et al., 2009). Как правило, им отводится роль антогонистов (Мункоев, 1981; Blackman, Davies, 1983; Saha et al., 1983), хотя все чаще в последнее время говорится о том, что АБК не только ингибирует многие физиологические процессы, но и принимает участие, например, в регуляции поглощения ионов и транспорта ассимилятов и нужна для роста растений (Karmoker, Van Steveninck, 1979; Казарян, Геворкян, 1986; Makela et al., 2003).

С какой-то долей уверенности можно сказать, что АБК участвует в регуляции процессов транспорта у "нитратных" растений. Судя по данным литературы, АБК участвует в регуляции оттока сахаров из листьев (Karmoker, Van Steveninck, 1979; Conde et al., 2006). В нашем случае накопление АБК в надземной части в период 1-5 суток, вероятно, стимулирует эвакуацию из листьев сахаров необходимых для обеспечения активации роста корней (рис. 18).

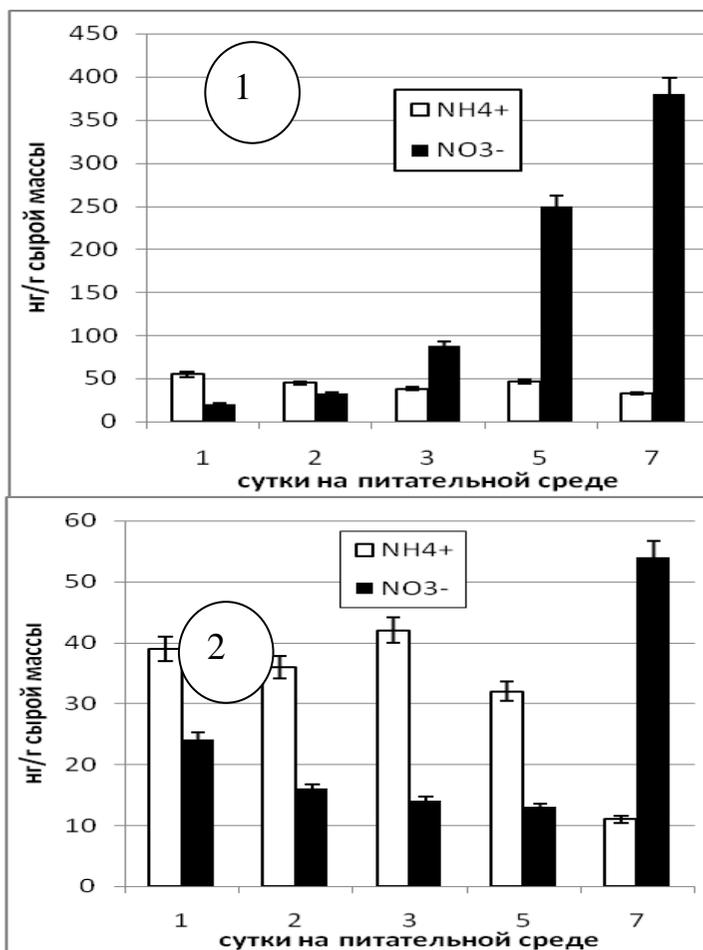


Рис. 20. Влияние аммонийной и нитратной формы азота на уровень содержания цитокининов в надземной части (1) и корнях (2) растений пшеницы. На графике представлены средние значения ($n=5$) и их ошибки.

В начале медленно, а затем довольно резко возрастающий уровень содержания цитокининов в надземной части (рис. 20), вероятно, связан с участием цитокининов в процессах метаболизма нитратов. По данным литературы (Кузнецов и др., 1986) совместное действие цитокининов и NO_3^- носит аддитивный характер, однако, гормональная регуляция связана с определенной стадией развития, тогда как

субстратная индукция не зависит от стадии развития (Кузнецов и др.,1986). Цитокинины принимают участие в синтезе *de novo* нитратредуктазы, в то время как нитрат-ион выступает как активатор и стабилизатор имеющегося уровня АНР (Hirschberg et al., 1972; Кулаева и др.,1976; Кузнецов и др.,1977). Более высокий уровень содержания цитокининов у "нитратных" растений может обеспечивать более высокую интенсивность фотосинтеза, а также активацию роста листьев (Чернядьев и др., 1987; Чернядьев., 1990; Казарян, Михаелян, 1991; Forde et al., 2002; Sakakibara et al., 2006), а это в свою очередь приводит к накоплению большей биомассы, что характерно при "нитратном" виде питания (Соколов и др., 1990).

Таким образом, нам удалось показать роль ауксинов и АБК в ростовом ответе корней на различные формы азотного питания. Предлагается также к обсуждению роль цитокининов при нитратном питании, в регуляции роста листьев и ауксинов.

Однако, хотя растения, выросшие на двух формах азота достоверно различались по длине корней, отличия в росте надземной части были не столь выражены. Несмотря на то, что корни "аммонийных" растений были развиты в меньшей степени, обеспеченность надземной части азотом была достаточной. Отсюда очевидно, что адаптация растений к минеральному питанию может происходить не только за счет ростовой реакции корней, но и за счет изменения, например, скорости поглощения ионов. Проведенные опыты также показали недостаточность таких показателей, как "рост в длину" и накопление массы в определении функциональной роли фитогормонов, т.к. они являются комплексными параметрами, отражающими совокупный характер изменений, происходящих в растении. Исходя из сказанного представлялось интересным и логичным проведение опытов по изучению роли гормонов в процессах поглощения, интенсивности водного обмена и других физиологических процессах. Это позволило бы, по нашему мнению, выявить более тонкие механизмы адаптации растений к минеральному питанию.

4. РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНОГО ОБМЕНА ПРИ ВОЗРАСТАНИИ ДЕФИЦИТА ВОДЫ В РАСТЕНИИ

Растения часто испытывают дефицит воды не только в условиях засухи, но и засоления (Munns, 1993), токсичного действия ионов (Barcelo et al, 1996), охлаждения почвы и т.д. (Wilkinson et al., 2001). В принципе на земле нет таких условий, где растения не сталкивались бы с проблемой регуляции водного обмена в условиях дефицита воды. Дефицит воды в воздухе отсутствует лишь в условиях его насыщения парами воды, но в таких условиях почти неизбежно затопление, снижающее способность корней поглощать воду (Else et al., 1995), вызывая «танталовы муки» у растений (мифический герой Тантал страдал от жажды, хотя был окружен водой). При влажности воздуха, обычной для условий континентального климата, растения за час испаряют столько воды, сколько весят сами (Tardieu, 2005). Вместе с тем, дефицит воды в окружающей среде еще не означает возрастания ее дефицита в самом растении. Многие растения способны сохранить нормальную оводненность тканей в условиях ее дефицита в воздушной среде, для чего они должны поглощать столько же воды, сколько ее испаряют. Таким образом, большую часть их жизни растения функционируют как труба, через которую несется чудовищный поток воды. Скорость этого потока меняется во много раз при изменении температуры воздуха, зависящего от уровня освещенности. Испарение воды возрастает в результате снижения влажности воздуха, а также при увеличении скорости ветра, сдувающего пары воды из неподвижного слоя вокруг листьев и т.д. На фоне многократного изменения скорости притока и испарения воды, ее содержание в растениях колеблется в гораздо меньших пределах, что свидетельствует об удивительной способности растений строго контролировать поддержание баланса между притоком и испарением воды. Крайне важно понять, как растение может регулировать оба эти процесса.

Анализируя ростовую реакцию растений на изменение внешних условий, мы отмечали, что быстрое прекращение роста является следствием снижения оводненности тканей листа, о чем может свидетельствовать относительное содержание воды в листьях (ОСВ). Было интересно проследить, как меняется оводненность листьев при действии различных абиотических факторов вызывающих водный

дефицит.



Рис. 21. Динамика относительного содержания воды (ОСВ) у листьев 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139 при различных воздействиях: засолении (100 мМ NaCl), охлаждении питательного раствора до 4 градусов, повышении температуры воздуха на 4 градуса. На графике представлены средние значения ($n=5$) и их ошибки.

Как видно из рисунка 21, при повышении температуры воздуха, снижении температуры питательного раствора и обоих видов осмотического стресса (на гистограмме представлено только засоление, но результаты экспериментов с действием ПЭГ были очень похожи), т.е. при всех испытанных воздействиях, вслед за снижением оводненности листа происходило ее повышение, о чем свидетельствуют данные по ОСВ. Возрастание оводненности сопровождалось возобновлением роста во всех случаях, кроме охлаждения питательного раствора. Данные по локальному холодовому воздействию указывают на то, что оводненность тканей не является единственным фактором, определяющим изменение скорости роста. Как указывалось в предыдущем разделе, низкая температура в области зоны роста, расположенной у однодольных растений в основании побега, т.е. в непосредственной близости к охлажденному питательному раствору, очевидно, ингибировала те биохимические процессы, которые были необходимы для

восстановления роста. Об этом свидетельствовало снижение коэффициента растяжения листа, которое было зарегистрировано при локальном охлаждении питательного раствора.

Тем не менее, во всех остальных случаях повышение оводненности тканей сопровождалось возобновлением роста, что указывает на важность этого процесса и необходимость выяснения его механизма. Как уже упоминалось, дисбаланс между поступлением воды в лист и ее потерей в результате транспирации приводит к снижению водного потенциала ксилемы, и он может стать более низким, чем у растущих клеток. Поэтому не удивительно, что рост быстро прекращается. В результате в растении создается водный дефицит, который особенно заметен в растущих клетках (рис. 22). Большая выраженность водного дефицита в растущих клетках побегов соответствует данными литературы (Matsuda and Riaz, 1981).

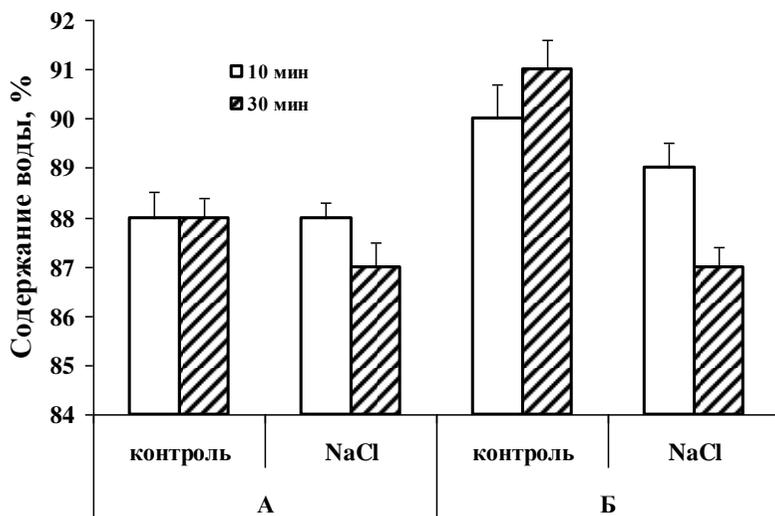


Рис. 22. Содержание воды в дифференцированной (А) и растущей (Б) зоне листьев 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139 при засолении через 10 и 30 минут после добавления NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ. На графике представлены средние значения ($n=5$) и их ошибки.

Источником воды для растущих клеток листа является ксилема. Ее водный потенциал зависит от соотношения количества воды, поступающей из корней, и воды, теряемой за счет транспирации (испарения с поверхности листа преимущественно через устьица).

Снижение водного потенциала питательного раствора при добавлении к нему ПЭГ и хлорида натрия было причиной снижения притока воды из корней, падения оводненности побега и торможения роста. Поскольку водный потенциал питательного раствора оставался таким же низким при возобновлении роста, как и при его прекращении, низкий уровень притока воды должен был сохраняться на протяжении всего эксперимента, и восстановление водного баланса тканей скорее могло происходить за счет изменения скорости транспирации. Важно было проследить, как менялась скорость транспирации при возобновлении роста на фоне засоления.

Как видно из рисунка 23, в первые 15 мин после добавления ПЭГ в питательный раствор листья пшеницы и ячменя продолжали терять за счет транспирации столько же воды, как и до воздействия, что неизбежно должно было привести к снижению водного потенциала ксилемы и торможению роста, что мы и наблюдали. Однако затем транспирация снижалась. Очевидно, это происходило за счет закрытия устьиц, о чем говорят данные, полученные с помощью порометра (рис. 24).

Снижение транспирации наблюдали как у растения пшеницы, так и ячменя. Наиболее существенно потери воды сокращались именно тогда, когда происходило возобновление роста. Это дает основание предполагать, что причиной возобновления роста было закрытие устьиц и снижение транспирационных потерь воды, что компенсировало снижение поступления воды из корней. Измерение устьичной проводимости подтвердило, что она снижалась при осмотическом стрессе (рис. 24). Соответственно снижению транспирационного потока возрос водный потенциал ксилемы, что привело к восстановлению градиента между ксилемой и растущими клетками и возобновлению роста. Снижение транспирации и устьичной проводимости при длительном действии засоления описано в литературе (Sohan et al, 1999). Но нами впервые показано, что это был быстрый эффект, который мог обеспечивать возобновление и поддержание роста при засолении и действии ПЭГ.

Для того чтобы проверить правильность предположения о том, что снижение транспирации является механизмом, обеспечивающим возобновление роста, были проведены эксперименты с нетранспирирующими растениями. Их помещали в полиэтиленовый мешок, внутри которого происходило быстрое насыщение воздуха водой, и испарение воды прекращалось.

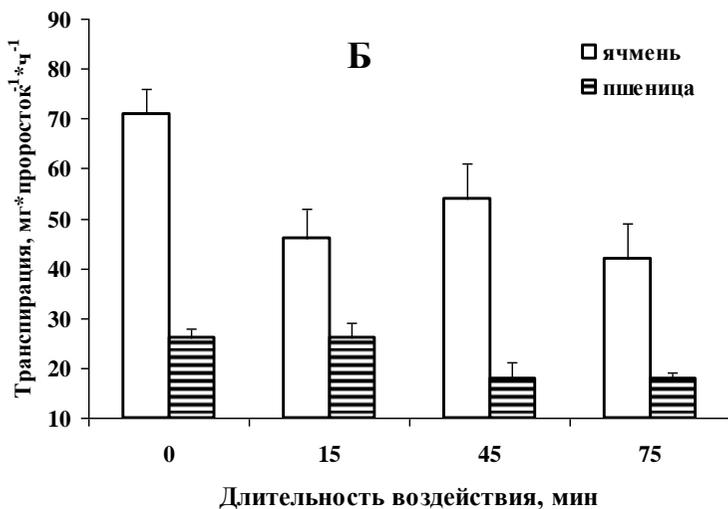
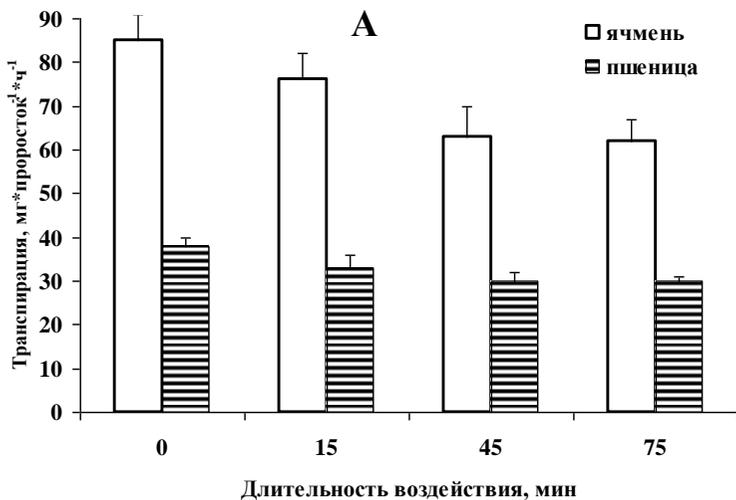


Рис. 23. Влияние на транспирацию 7-суточных растений ячменя и пшеницы сорта Безенчукская-139 добавления в питательный раствор полиэтиленгликоля (А) и хлорида натрия (Б) до конечной концентрации 12 % и 100 мМ соответственно. На графиках представлены средние значения ($n=5$) и их ошибки.

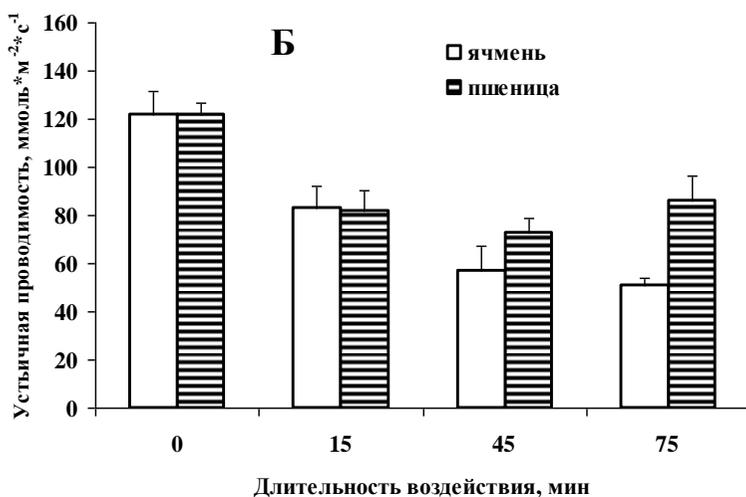
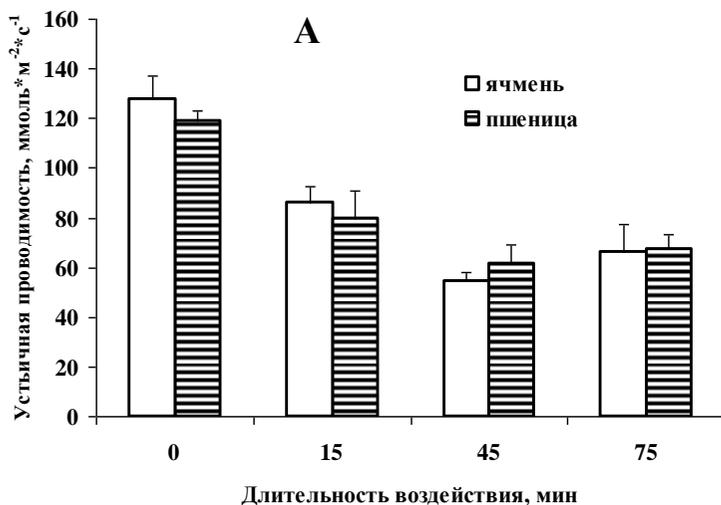


Рис. 24. Влияние на устьичную проводимость 7-суточных растений ячменя сорта Golf и пшеницы сорта Безенчукская-139 добавления в питательный раствор полиэтиленгликоля (А) и хлорида натрия (Б) до конечной концентрации 12 % и 100 мМ соответственно. На графиках представлены средние значения ($n=5$) и их ошибки.

Об отсутствии транспирации у растений свидетельствовал тот факт, что относительное содержание воды в их листьях приближалось к 100 %. На рисунке 25 приведен ростовой ответ таких растений на добавление соли в питательный раствор. Как видно из рисунка, когда растения помещали под полиэтиленовую пленку для “выключения” транспирации на 40 мин до добавления соли, то фаза восстановления роста удлинялась, и уровень восстановления был меньше. Низкий уровень возобновления роста у нетранспирирующих растений, подвергнутых действию засоления, подтверждает правильность нашего предположения о том, что снижение транспирации является механизмом, обеспечивающим возобновление роста у растений на фоне засоления. Когда транспирация отсутствовала, и ее невозможно было понизить, возобновление роста не происходило.

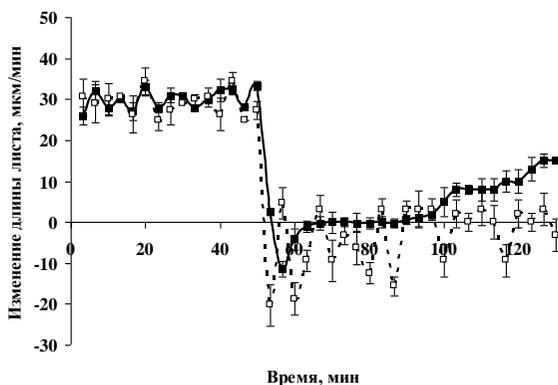


Рис. 25. Ростовая реакция на засоление (добавление в питательный раствор NaCl до конечной концентрации 100 мМ) первого листа 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139, предварительно находившихся (а) и не находившихся (б) 40 минут под полиэтиленовой пленкой. На графике представлены средние значения и их ошибки из 4 независимых экспериментов. Стрелкой указано время добавления хлорида натрия.

Еще одним аргументом в пользу значимости ограничения транспирации в восстановлении роста растений при осмотическом стрессе были результаты сравнения степени ингибирования транспирации и восстановления роста у двух сортов ячменя, различающихся по реакции на засоление.

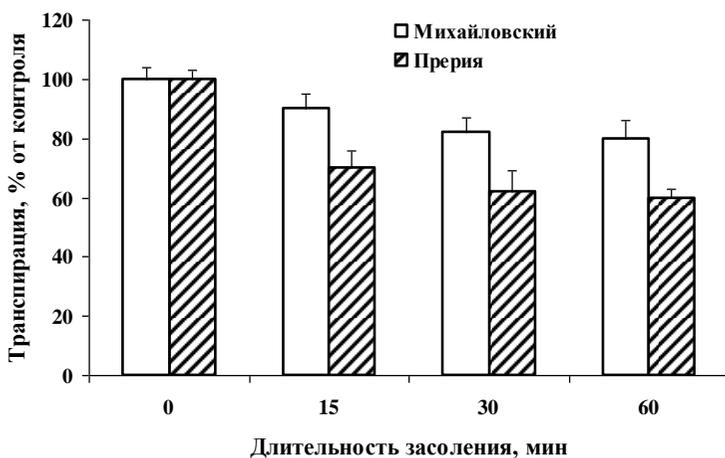
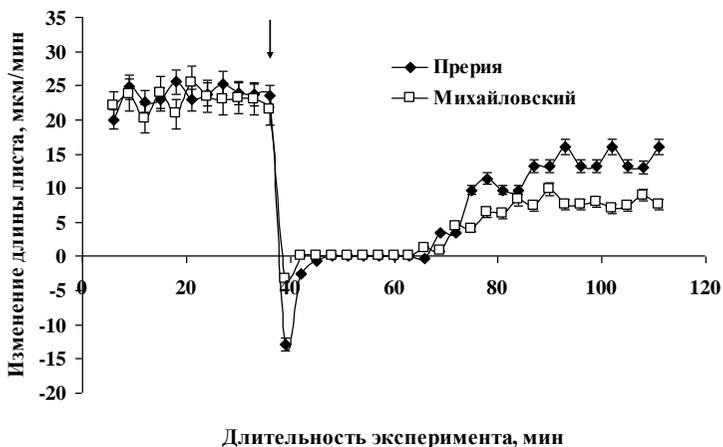


Рис. 26. Влияние засоления (добавления NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ) на рост первого листа (А) и транспирацию (Б) двух сортов ячменя (Прерия и Михайловский). На ростовом графике представлены средние значения и их ошибки из 5 независимых экспериментов. На графике с интенсивностью транспирации представлены средние значения (n=8) и их ошибки.

Как видно из рисунка 26, у растений сорта Прерия степень восстановления роста после 30-минутной экспозиции на растворе NaCl была выше, чем у сорта Михайловский и соответственно именно у

растений сорта Прерия в большей степени было выражено ингибирование транспирации (на 40 и 15 % по сравнению с исходным уровнем у растений сорта Прерия и Михайловский соответственно). Эти результаты свидетельствуют о том, что большая устойчивость показателей роста у растений Прерия, проявляющаяся в меньшей степени его ингибирования на фоне засоления, зависит от более выраженной способности этих растений поддерживать оводненность тканей за счет снижения транспирации.

Связь между степенью снижения транспирации и скоростью роста сначала проявлялась и при более длительном действии засоления. Так на протяжении первых трех суток устьичная проводимость сильнее снижалась у растения ячменя сорта Golf по сравнению с растениями твердой пшеницы (рис. 27). В этот же промежуток времени у растений пшеницы сильнее проявлялось ростиингибирующее действие засоления на рост в длину второго листа по сравнению с растениями ячменя. Таким образом, и на этом примере прослеживается та же закономерность: рост в большей степени снижается у тех растений, у которых меньше падает транспирация.

У растений разных сортов ячменя зависимость уровня восстановления оводненности листьев от степени снижения транспирации, обнаруженная в кратковременных опытах, сохранялась и при более длительном действии засоления. Так через сутки после начала действия засоления устьичная проводимость у растений сорта Прерия была в 2 раза, а у растений сорта Михайловский – лишь на 30 % ниже, чем в контроле (рис. 28).

Соответственно, относительное содержание воды в листьях растений сорта Михайловский снижалось по сравнению с контролем на 2-3 % больше, чем у растений сорта Прерия (рис. 29).

Таким образом, в начале действия засоления (первые часы и сутки после добавления NaCl питательный раствор) именно восстановление и сохранение водного баланса определяло способность растений поддерживать рост на фоне дефицита воды в питательном растворе. Выявленные нами различия между видами и сортами растений по степени ингибирования роста в начале действия засоления представляют определенный интерес в свете мнения австралийских исследователей (Munns et al., 2002). Они утверждали, что в начале действия засоления, когда доминирующим фактором является его осмотический компонент, различия между сортами по скорости роста не проявляются. С этим мнением был не согласен П. Ньюман, который, так же как и мы, обнаружил различия в быстрой ростовой реакции растений на засоление (Neumann, 1997). В чем же может быть причина противоречивости этих данных?

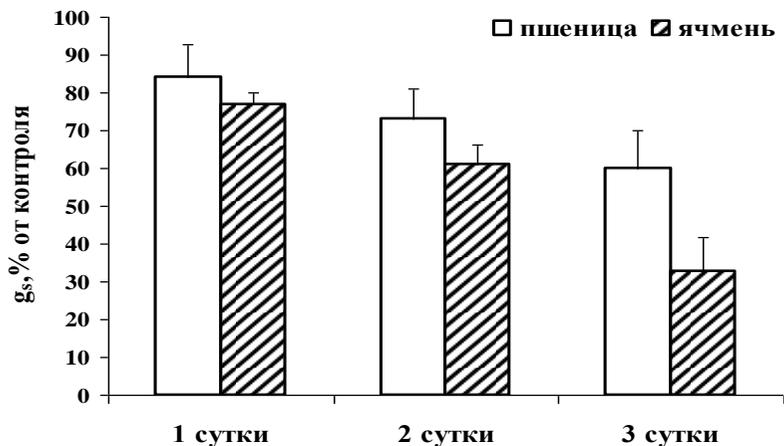


Рис. 27. Влияние засоления (добавления NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ) на устьичную проводимость (g_s) растений ячменя сорта Golf и твердой пшеницы сорта Безенчкская-139. На графике представлены средние значения ($n=6$) и их ошибки.

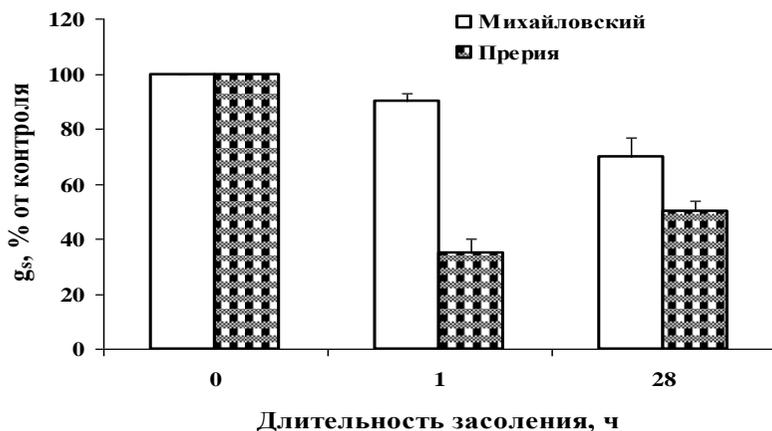


Рис. 28. Влияние засоления (добавления NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ) на устьичную проводимость (g_s) ячменя сортов Михайловский и Прерия. На графике представлены средние значения ($n=10$) и их ошибки.

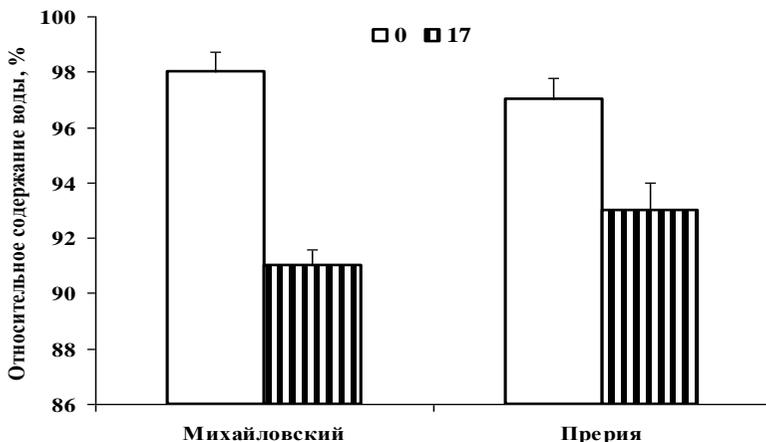


Рис. 29. Влияние засоления (добавления NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ) на относительное содержание воды 7-суточных растений двух сортов ячменя. На графике представлены средние значения (n=5) и их ошибки у контрольных растений и через 17 часов после начала засоления.

Как отмечалось выше, использованные нами сорта ячменя различались по степени засухоустойчивости. У нас нет данных о засухоустойчивости сортов, которые использовали австралийские исследователи. Но, учитывая их климат, можно предполагать, что влаголюбивых сортов в их коллекции не было. Поскольку в начале действия засоления растения в основном страдают от дефицита воды, различия в их ростовой реакции, свидетельствуют о неодинаковой способности адаптироваться к засухе. У австралийский сортов засухоустойчивость, видимо была примерно одинаковой, а в нашей коллекции сорт Прерия был более засухоустойчивым (по паспортным данным и результатам госсортокомиссии). Полученные нами результаты указывают на возможность оценки потенциальной засухоустойчивости по быстрой реакции растений на засоление. Этот подход позволяет использовать гидропоническую культуру, что обеспечивает возможность более быстрой оценки реакции растений по сравнению с прекращением полива в почвенной культуре. Преимущество использования хлорида натрия по сравнению с ПЭГ в его цене и в том, что NaCl не вызывает кислородной недостаточности в отличие от ПЭГ (Chazen et al., 1995). Необходимы дальнейшие исследования для проверки работоспособности этого подхода на большей коллекции сортов.

Роль АБК в регуляции устьичной проводимости при возрастании дефицита воды

Из анализа результатов, приведенных в предыдущем разделе видно, что закрытие устьиц играет важную роль в быстром приспособлении растений к снижению притока воды из корней. Степень закрытия устьиц определяет способность растений поддерживать оводненность тканей и рост в этих условиях. Важно было попытаться выяснить, как регулируется закрытие устьиц при снижении притока воды из корней. Общеизвестно, что закрытие устьиц происходит тогда, когда замыкающие клетки теряют тургор (Медведев, 2004).

Казалось бы, механизм закрытия устьиц при возрастании дефицита воды прост: само снижение оводненности приводит к падению тургора и устьица закрываются. Вместе с тем, как указывалось в обзоре литературы, часто полученные результаты не укладываются в эту схему. Это в полной мере можно было отнести и к полученным нами результатам. Так в некоторых случаях в первые минуты после добавления соли в питательный раствор происходило не закрытие, а открытие устьиц (рис. 30). Это пример так называемого гидропассивного открытия устьиц, которое является следствием падения тургора клеток эпидермиса, приводящего к снижению их давления на устьица и, в результате - к их открытию. Таким образом, поведение устьиц нельзя было свести просто к гидропассивным эффектам, поскольку после их гидропассивного открытия происходило их закрытие. Кроме того, вслед за падением относительного содержания воды под влиянием засоления происходило его повышение. При этом устьичная проводимость продолжала снижаться. Эти результаты указывают на то, что на этой стадии реагирования растений не падение водного потенциала листа могло быть причиной закрытия устьиц (он в этот момент возрастал), а скорее, наоборот, закрытие устьиц способствовало восстановлению оводненности тканей. Это возвращает нас к вопросу о том, что являлось стимулом для закрытия устьиц при снижении притока воды из корней, вызванного засолением и добавлением ПЭГ в питательный раствор.

Определение содержания АБК в дифференцированной части листьев растений пшеницы и ячменя при воздействии ПЭГ и хлорида натрия показало возрастание уровня этого гормона, которое предшествовало закрытию устьиц (рис. 31) Способность АБК закрывать устьица была обнаружена вскоре после открытия этого гормона в экспериментах с экзогенным гормоном, которым обрабатывали изолированные листья или эпидермис (Mittelheuser, Van Stevenince, 1969). Информация о том, что АБК закрывает устьица вошла во все учебники по физиологии растений (Полевой, 1989; Медведев, 2004). Факт накопления АБК в листьях при дегидратации известен ровно

столько, сколько известен сам этот гормон. Ведь его открытие было связано с этим эффектом (Wright, Hiron, 1969).

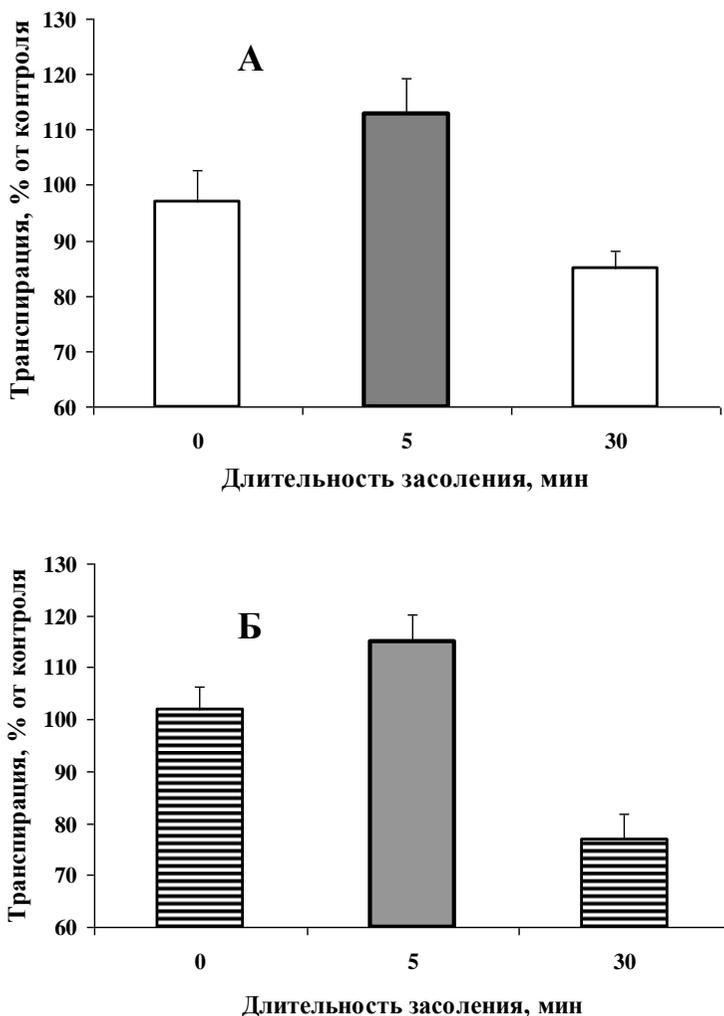


Рис. 30. Быстрый транспирационный ответ 7-суточных растений ячменя сорта Golf (А) и пшеницы сорта Безенчукская-139 (Б) на кратковременное действие засоления (добавление NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ). На графиках представлены средние значения (n=8) и их ошибки.

Поэтому наши данные, свидетельствующие об участии АБК в закрытии устьиц при действии ПЭГ и засоления, могут показаться очень банальными. Вместе с тем, исследователи сразу же столкнулись с трудностями при попытке связать с закрытием устьиц уровень накопления эндогенных гормонов. Так было показано, что общее содержание АБК в листьях возрастает слишком поздно, когда устьица уже закрыты (Trejo, Davies, 1991). Поэтому не удивительно, что роль АБК в закрытии устьиц обсуждается в основном при длительном действии засоления (например, De Costa et al., 2007: через двое суток после начала действия засоления).

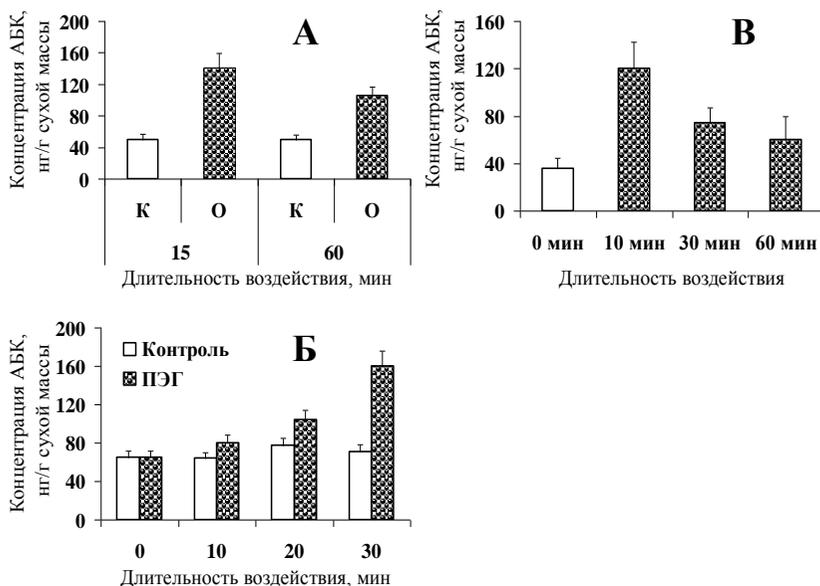


Рис. 31. Уровень абсцизовой кислоты в дифференцированной части листьев 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139 (А, В) и ячменя сорта Golf (Б) в пределах первого часа после начала засоления (А, Б) и действия полиэтиленгликоля (В). На графиках представлены средние значения ($n=4$) и их ошибки.

Многие исследователи при обсуждении быстрых ростовых реакций (восстановление роста вслед за его прекращением в начале действия засоления) не брали в расчет ни возможное закрытие устьиц, ни накопление АБК (Munns et al., 2000). В работе В.В. Талановой (2009) показано увеличение содержания АБК после двух часов действия засоления на растения огурца и обсуждается роль этого гормона в закрытии устьиц. В наших опытах мы зарегистрировали как закрытие

устьиц, так и значительное накопление АБК уже через несколько минут после начала действия засоления (рис. 31, Б). Как уже упоминалось выше, быстрые реакции очень важны в естественных условиях, в которых растения часто испытывают воздействия, нарушающие их водный баланс. Поддержание роста в этих условиях обеспечивает формирование фотоассимилирующей поверхности. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что именно закрытие устьиц может поддерживать оводненность и рост в этих условиях. Поэтому так важны полученные нами данные о возможности быстрого накопления АБК при засолении и действии ПЭГ. В литературе можно встретить немного работ, в которых было выявлено быстрое накопления АБК (Blatt, Armstrong 1993). Действие экзогенной АБК на состояние устьиц в отделенном эпидермисе происходит так стремительно (за считанные минуты), что логично предположить, что так же быстро должно возрасти содержание эндогенного гормона. Почему же так утвердилось представление о медленном накоплении АБК? В классических опытах В. Харгунга перед тем, как фиксировать листья для определения гормонов, их помещали в камеру давления для измерения водного потенциала. Не было ли связано отсутствие быстрого накопления АБК, зарегистрированное в этих опытах с тем, что «контроль» в этих опытах на самом деле подвергался воздействию дегидратации в камере давления, которое вызывало повышение уровня гормона? Поскольку мы ожидали именно быстрое накопление АБК, то старались быстро фиксировать контрольные растения, чтобы избежать возможной дегидратации и накопления АБК. Альтернативное объяснение того, что нам удалось зарегистрировать быстрое накопление АБК при засолении, может быть в том, что мы работали с молодыми растениями. Не исключено, что способность быстро накапливать АБК при возрастании дефицита воды – это свойство молодых, растущих тканей. Ниже мы еще вернемся к обсуждению этой гипотезы. Здесь необходимо лишь отметить, что именно для молодых растущих листьев важна способность быстро накапливать АБК, т.к. за именно таким образом поддерживается их рост.

Отсутствие корреляции между общим повышением уровня АБК в растениях и закрытием устьиц привлекло внимание исследователей к необходимости регистрации содержания АБК непосредственно в области устьиц. Для того, чтобы доказать, что при дегидратации этот гормон накапливается именно в области устьиц, проводили выделение фракции клеток, обогащенной устьицами, и определяли содержание АБК непосредственно в этих клетках (Porova et al., 2000). Альтернативный подход к определению уровня АБК в устьицах заключается в использовании метода иммуногистохимической

локализации (Sotta et al., 1985; Pastor et al., 1999). При этом с помощью антител удастся выявить присутствие антигена (в данном случае, АБК) в клетках по их окраске. Основная проблема при иммунолокализации гормонов заключается в том, что они вымываются из клеток в процессе дегидратации тканей, необходимой для заключения их в смолу перед приготовлением срезов (Веселов, 1999). Чтобы избежать этого, проводится фиксация гормонов перед дегидратацией кусочков тканей с помощью карбодиимида (Harris, Dugger, 1986). Этот агент связывает карбоксильную группу АБК с аминокетонами клеточных белков. Важно то, что именно карбодиимид использовался для получения иммуногена (конъюгата АБК с белком) при иммунизации животных и получения антител к АБК. При таком приготовлении конъюгата в иммуногене отсутствовала свободная карбоксильная группа АБК. В некоторых случаях старались получить антитела к АБК, реагирующие только со свободной формой гормона (Quarrie et al., 1988). При этом конъюгация проходила сложным образом, и гормон связывался с носителем через карбонильную, а не карбоксильную группу. При использовании таких антител для «узнавания» ими АБК необходимо присутствие незаряженной карбоксильной группы в молекуле АБК. В этом случае карбодиимид не подходит для фиксации АБК перед дегидратацией тканей. Таким образом, успех нашей работы был обусловлен использованием определенных антител, узнающих АБК, связанную через карбоксил с белками.

Для выявления антител на срезе были использованы вторые антитела, меченные коллоидным золотом, а их визуализация при световой микроскопии стала возможной благодаря использованию препарата серебра, который образовывал пленку в местах локализации частичек золота (Веселов и др., 1999). Как видно из рисунка 32, метод иммунолокализации выявил присутствие АБК в клетках мезофилла, обкладочных клетках сосудов и устьиц. Специфичность окрашивания подтверждало ее отсутствие при использовании неиммунной сыворотки. В срезах, листьев растений ячменя, фиксированных через 30 минут после добавления хлорида натрия в питательный раствор, зарегистрировано усиление окрашивания устьичных клеток. Таким образом, данные иммуногистохимического окрашивания свидетельствуют о том, что накопление АБК при засолении происходит именно в устьичных клетках, что должно обеспечивать способность этого гормона быстро закрывать устьица.

С некоторых пор результаты, полученные с помощью традиционных подходов, например, путем изучения влияния экзогенных гормонов подвергаются сомнению (Trewavas, 1981). Также считается недостаточным так называемый корреляционный подход, когда связь

между гормоном и некой функцией устанавливается на основе выявления корреляции между ними (Vysotskaya et al., 2009). Для подтверждения функции гормона считается необходимым проверить реакцию у мутантных растений с нарушением способности накапливать гормон или реагировать на него (Werner et al., 2003).

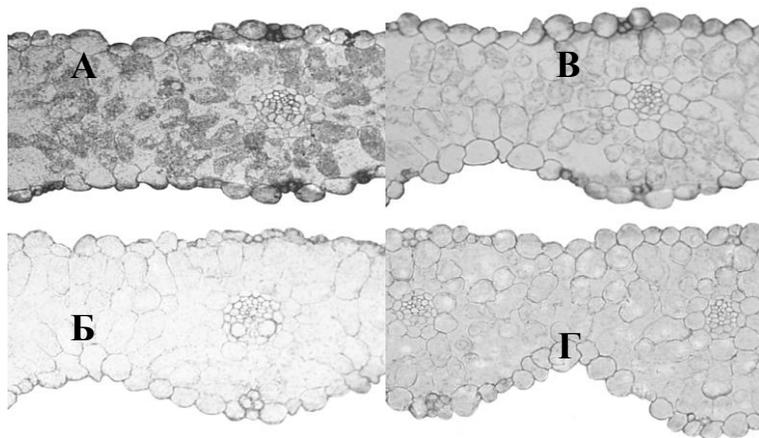


Рис. 32. Картина характерного распределения абсцизовой кислоты в клетках листа ячменя сорта Golf через 30 минут действия засоления, полученная с помощью метода иммулокализации. А – опыт (срезы листа растений, подвергнутых действию засоления), Б – опыт, обработанный неиммунной сывороткой, В – контроль (срезы листа контрольных растений), Г – контроль, обработанный неиммунной сывороткой.

В соответствие с этим требованием мы изучили реакцию на засоление у мутантных растений ячменя Az34, у которых резко снижена активность альдегидоксидазы, катализирующей образование АБК из ее непосредственного предшественника (Vason et al., 1998). Как видно из рисунка 33, такие растения оказались не способны восстанавливать рост после его прекращения под действием засоления.

Выше упоминалось об обнаруженном нами различии между сортами ячменя по степени закрытия устьиц при засолении. Представляло интерес выяснить, каков был уровень накопления у них АБК. Как видно из рисунка 34, растения Прерия, для которых была характерна большая степень снижения устьичной проводимости и транспирации в первые сутки засоления, накапливали больше АБК по сравнению с растениями сорта Михайловский. Растения сорта Прерия

также отличались более высокой устойчивостью ростовых процессов к действию засоления. Таким образом, способность растений быстро накапливать АБК при засолении в наших опытах помогала им противостоять ростигибирующему действию засоления. Данные о роли накопления АБК при засолении довольно противоречивы.

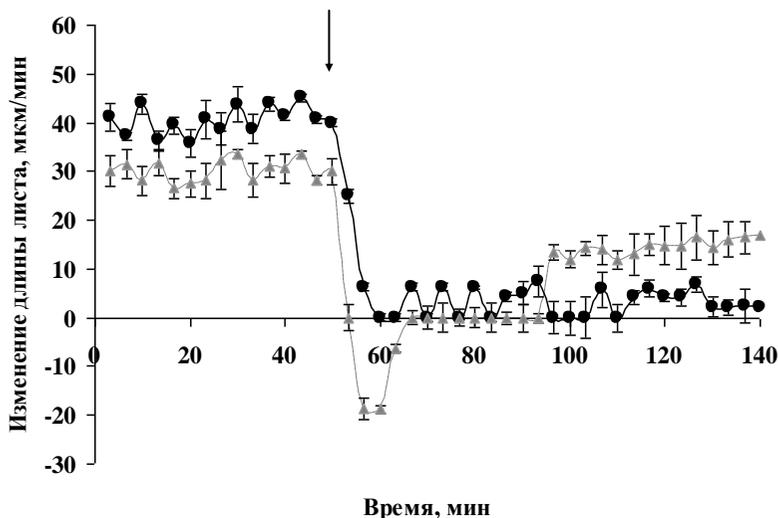


Рис. 33. Ростовая реакция нормальных (1) и мутантных Az34 (2) 7-суточных растений ячменя на засоление (добавление NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ) На графике представлены средние значения и их ошибки из 4 независимых экспериментов.

Некоторые исследователи, как и мы, обнаружили более высокий уровень накопления АБК у более солеустойчивых растений (Moons et al., 1995; De Costa et al., 2007). Вместе с тем, были и сообщения об обратной зависимости. Так Крамер и Квари (2002) обнаружили, что у нетранспирирующих растений кукурузы уровень накопления АБК в зоне роста листьев на фоне засоления был выше у менее устойчивых сортов. Эти результаты объясняли ингибирующим действием АБК на удлинение клеток. Мы еще вернемся к обсуждению роли АБК непосредственно в

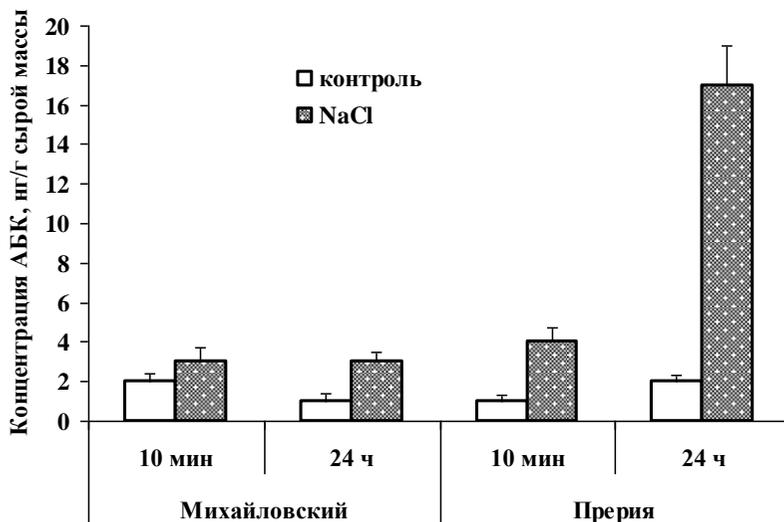


Рис. 34. Влияние засоления (добавление NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ) на содержание АБК в листьях 7-дневных растений двух сортов ячменя (Прерия и Михайловский). На графике представлены средние значения (n=4) и их ошибки.

регуляции роста растяжением. Здесь же необходимо отметить, что мы имели дело с транспирующими растениями. Очевидно, в этих условиях на первый план выходила роль АБК как фактора, регулирующего восстановление водного баланса и оводненности тканей растений при засолении, что в свою очередь обеспечивало поддержание роста растяжением.

Источник быстрого накопления АБК при резком возрастании дефицита воды

Для того, чтобы разобраться в том, откуда берется АБК при резком возрастании дефицита воды, важно было более детально изучить динамику ее накопления. Это было сделано на примере действия ПЭГ на растения пшеницы. Содержание АБК в побегах в начале эксперимента в отличие от концентрации цитокининов возрастало (рис. 35). АБК накапливалась сначала медленно, но затем (в интервале между 20 и 30 мин от начала воздействия) наблюдался резкий подъем уровня гормона, вслед за которым его содержание столь же быстро снижалось почти до исходного уровня. В корнях было зарегистрировано резкое возрастание содержания АБК, концентрация которой, по сравнению с контрольными растениями, оставалась высокой до конца эксперимента (рис. 35). Результаты измерения концентрации гормонов в ксилемном соке, собранном через 20 минут от начала воздействия, показали, что ПЭГ вызывал увеличение концентрации АБК (от **120** до **360** нг/мл).

В настоящее время все более популярным становится мнение о том, что гормоны, поступающие из корней, являются сигналом о состоянии почвы, в соответствии с которым меняется скорость роста и активность других физиологических процессов в побеге (Zhang, Davies, 1989; Davies et al., 2005). Вместе с тем многое в механизме передачи гормонального сигнала из корней остается неясным. Так, не прекращается дискуссия о том, что же является регулирующим фактором в действии АБК: ее концентрация в ксилемном соке или количество гормона, поступающего из корней в побег (Tardieu, Davies, 1992; Gowing et al, 1993; Jarvis, Davies, 1997). Очевидно, что последний показатель, который также называют массовым потоком (mass flux) или скоростью доставки (rate of delivery), равен произведению концентрации гормона в ксилемном соке на объем транспирационного потока за единицу времени (Else et al, 1995; Jarvis, Davies, 1997). Считая, что именно скорость доставки гормона имеет решающее регуляторное значение, М. Джексон обратил внимание исследователей на то, что нельзя ограничиваться одной информацией о концентрации гормона в ксилемном соке, как это делают многие исследователи (Jackson, 1993). Поскольку большое число воздействий влияет на скорость транспирации, изменение концентрации гормона в ксилемном соке может быть следствием его разбавления или концентрирования. При этом доставка гормона может оставаться постоянной. Так, например, при засухе скорость транспирации снижается. Поэтому возрастание концентрации АБК в ксилемном соке может быть связано с ее концентрированием в меньшем по объему транспирационном потоке, и

необходим расчет доставки гормона, чтобы судить о том, изменилась ли она под действием засухи.

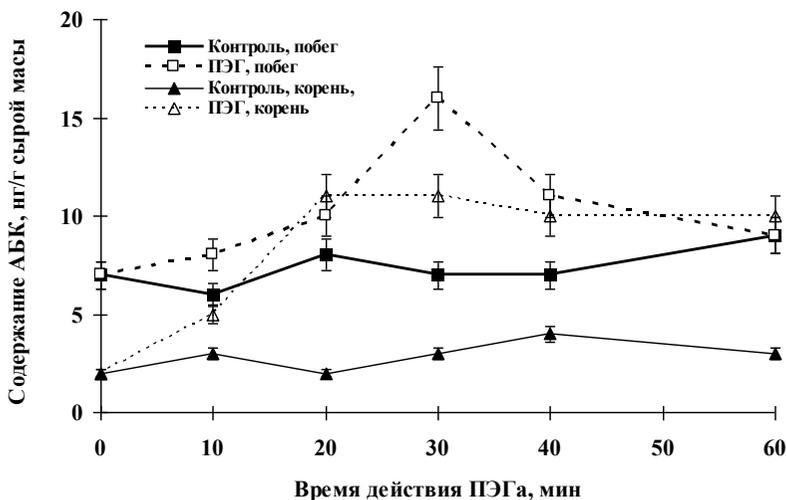


Рис. 35. Влияние добавления ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 % на содержание АБК в побегах и корнях 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139. На графике представлены средние значения ($n=5$) и их ошибки.

Возражая М. Джексону, Занг с соавторами отмечали, что АБК, поступающая из корней, быстро распадается (Zhang et al, 1997) или удаляется из апопласта, накапливаясь внутри клеток мезофилла (Tardieu, Davies, 1992). Предполагается, что скорость распада АБК увеличивается с ускорением транспирации (Gowing et al, 1993). Все это должно предотвращать накопление АБК в апопласте, откуда она осуществляет свою регуляторную функцию (Hartung 1983), и именно поэтому, по мнению автора, устьица реагируют не на количество АБК, поступающей из корней, а на ее концентрацию. Вместе с тем, один из аргументов против функциональной роли концентрации АБК в ксилемном соке заключается в том, что увеличение скорости транспирации при жаркой сухой погоде должно приводить к разбавлению гормона, который загружается в ксилему. В результате (в том случае, когда устьица реагируют на концентрацию гормона в ксилемном соке, а не на скорость поступления АБК из корней) эффективность действия гормона на устьичную проводимость должна снижаться именно тогда, когда роль АБК в регуляции устьичной проводимости становится особенно важной. Вместе с тем, как отмечают Джарвис и Дэвис (Jarvis, Davies, 1997),

концентрация АБК в ксилемном соке зависит не только от степени его разбавления в ксилемном потоке, но и от скорости загрузки гормона в ксилему. Не исключено, что изменение скорости загрузки может нивелировать эффект разбавления. Пытаясь обосновать свою точку зрения, авторы проводили эксперименты с экзогенной АБК, с помощью которой варьировали или концентрацию гормона в ксилемном соке или его поступление в побег (Gowing et al, 1993; Zhang et al, 1997). Однако необходимо еще доказать, что растения реагируют на экзогенный гормон таким же образом, как и на эндогенный. Для этого важно сопоставить изменение концентрации эндогенного гормона в ксилемном соке, а также скорость его поступления в побег с устьичной проводимостью. При этом основная сложность заключается в правильном сборе ксилемного сока. Дело в том, что удаление побега сразу же снижает скорость экссудации минимум в 10, а иногда и 100 раз вследствие отключения верхнего концевой двигателя (транспирации). Для того, чтобы повысить скорость экссудации корни помещают в камеру давления (Else et al, 1995). Однако и в этом случае возникает сомнение в надежности результатов из-за возможного повреждения корней. Предложенный нами способ сбора ксилемного экссудата (отделение корней от побега под водой и затем соединение их с помощью заполненной водой трубочки) позволяет сохранить скорость транспирации на уровне интактных растений, что позволяет адекватно оценивать как концентрацию, так и скорость доставки гормона в побег. На примере полученных нами результатов, можно проиллюстрировать различия в информативности показателей концентрации гормона в ксилемном соке и скорости его поступления в побег. Хорошо известно, что падение водного потенциала клеток стимулирует синтез в них АБК (Zeevart, Creelman, , 1988). В наших экспериментах одним из самых ранних эффектов было уменьшение содержание воды в корнях (табл. 19).

Данный эффект легко объяснить тем, что возрастание осмотического потенциала питательного раствора приводило к дисбалансу между способностью корня поглощать воду и ее оттоком из корня в побег. Вслед за тем мы обнаружили накопление АБК. Наши результаты в сочетании с данными литературы позволяют предполагать, что дефицит воды в клетках корня активировал синтез в них данного гормона. Вместе с тем по некоторым данным изменение синтеза АБК не может быть единственной причиной накопления гормона. Было показано, что подсыхание почвы понижает скорость распада АБК, что также может способствовать накоплению гормона в корнях (Liang et al, 1997). Необходимо отметить, что в наших экспериментах корни теряли всего 1 % воды. Визуально при этом они не теряли тургесцентности. В

ранних исследованиях высказывалось предположение, что стимулом для накопления АБК должна быть полная потеря тургора (Pierce, Raschke, 1980). Однако позже появились сообщения о том, что просто снижение тургорного давления ниже первоначального стационарного уровня может инициировать накопление данного гормона (Griffiths et al, 1996). Поэтому мы можем полагать, что та небольшая потеря воды, которая была зарегистрирована в наших экспериментах, все же могла быть сигналом для накопления АБК корнями. Об этом же свидетельствует увеличение концентрации гормона в ксилемном соке.

Таблица 19.
Содержание воды (%) в проростках 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139 при добавлении ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12%.

		Время действия ПЭГ, мин					
		0	10	20	30	40	50
Побег	контроль	92*	92	92	92	92	92
	опыт	92	92	90	89	91	92
Корень	контроль	94	94	94	94	94	94
	опыт	94	93	93	93	93	94

* ошибка средней во всех случаях не превышала 0,1 %, поэтому различия в 1 % - достоверны

Хотя скорость ксилемного потока в первые 20 мин действия ПЭГ снижалась примерно в 1,5 раза, скорость поступления гормона в побег была выше, чем у контрольных растений, из-за высокой концентрации гормона в ксилемном соке и могла обеспечить наблюдаемое в этот период накопление АБК в побегах. Однако затем (между 20 и 30 мин) резко увеличился угол наклона кривой, отражающей изменение содержания АБК во времени. Поскольку при этом скорость транспирационного потока продолжала снижаться, можно считать, что определенный вклад в накопление АБК в этот период вносит сам побег. Как видно из таблицы 19, в побеге содержание воды также падало, и снижение водного потенциала клеток побега могло быть причиной синтеза АБК или уменьшения скорости ее распада. Для того, чтобы оценить вклад самого побега в регуляцию содержания АБК при действии ПЭГ, мы провели опыт с растениями, у которых корни были убиты кратковременным погружением в кипящую воду.

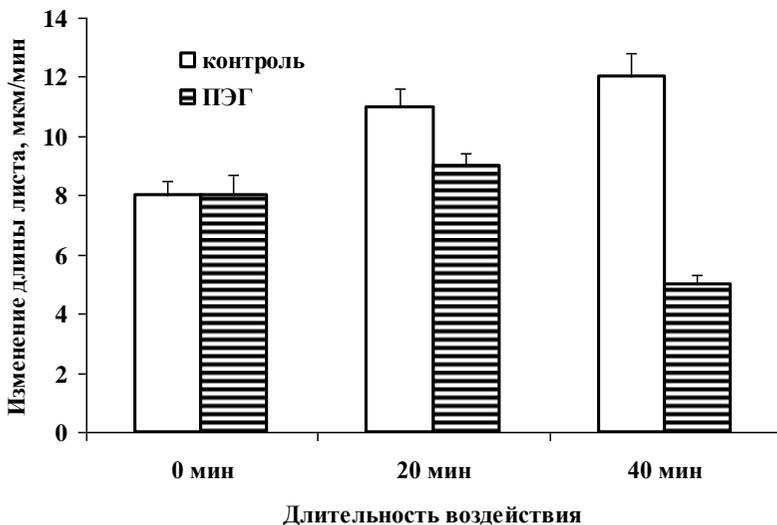


Рис. 36. Влияние добавления ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 % на скорость роста листа 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139 с убитыми корнями. Контроль – растения с убитыми корнями, не подвергавшиеся воздействию ПЭГ. На графике представлены средние значения и их ошибки из 3 независимых экспериментов.

Рис. 36 демонстрирует, что добавление ПЭГ в питательный раствор растений с убитыми корнями быстро подавляло рост листа. Эти результаты свидетельствуют о том, что у растений с убитыми корнями сохранялась способность быстро передавать сигнал из корня в побег

Из рисунка 37 следует, что термическая обработка корней вызвала резкое накопление АБК в побеге (для сравнения см. уровень содержания АБК у контрольных растений - рис. 35). Причиной этого изменения могло быть поступление АБК из убитых клеток корня. Однако этот эффект не был предметом изучения в данной работе. Нас интересовала реакция таких растений на последующее добавление ПЭГ. Содержание АБК у контрольных растений с убитыми корнями (в питательный раствор которых ПЭГ не добавляли) постепенно снижалось, что свидетельствует о ее распаде. У обработанных ПЭГом растений снижение уровня АБК замедлялось, и ее становилось больше, чем у контрольных растений.

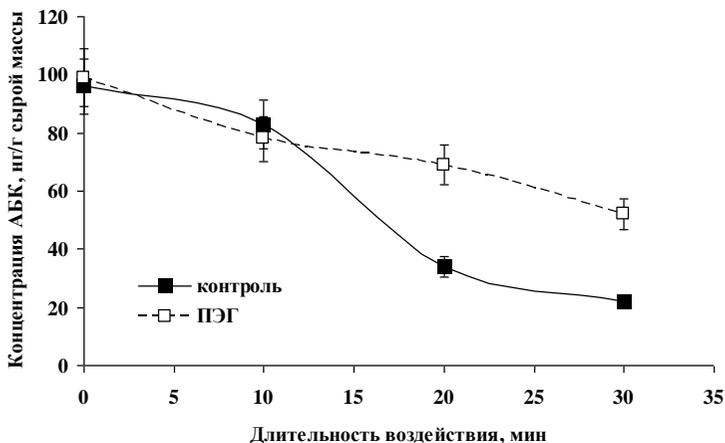


Рис. 37. Влияние добавления ПЭГ в питательный раствор до коечной концентрации 12 % на содержание АБК в побегах 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139 с убитыми корнями (контроль - растения с убитыми корнями, в питательный раствор которых ПЭГ не добавляли). На графике представлены средние значения ($n=3$) и их ошибки.

Это может быть индикатором того, что ПЭГ замедляет распад АБК. Такое предположение согласуется с данными литературы о том, что скорость распада АБК в побеге зависит от водного потенциала (Trejo et al, 1991). Было также высказано предположение, что скорость распада АБК увеличивается параллельно с возрастанием скорости транспирации (Gowing et al, 1993). В нашем случае снижение скорости транспирации под влиянием ПЭГ, по всей видимости, сопровождалось ингибированием распада АБК, что соответствует вышесказанному предположению. Наши результаты согласуются также с данными литературы о том, что под воздействием ПЭГ повышается чувствительность к АБК (Tardieu, Davies, 1992). В свете наших данных можно предполагать, что это увеличение чувствительности было связано со снижением скорости распада АБК под влиянием ПЭГ. Не исключено также, что дополнительное количество АБК могло синтезироваться в побеге. Но, так или иначе, и активация синтеза АБК, и снижение скорости ее распада могли у данных растений происходить только в побеге, поскольку корни у них были убиты кипячением и не могли реагировать на последующее воздействие ПЭГ. Эти данные дают нам основание предполагать, что и в случае с растениями с живыми корнями

какая-то часть АБК в ответ на действие ПЭГ могла накапливаться благодаря процессам, которые происходят в самом побеге.

Еще более убедительные данные, указывающие на роль побега в качестве основного сайта синтеза АБК при осмотическом стрессе, были получены нами при изучении действия засоления. В этих экспериментах, которые проводили с растениями в фазе выхода третьего листа, содержание АБК в листьях растений ячменя определяли отдельно для его растущей (зоны: А – 0 – 20 мм и В – 20 – 40 мм от основания листа) и дифференцированной (зона D – центральная часть листовой пластинки) части. В листьях растений пшеницы также разделяли растущую зону 0 – 40 мм от основания листа и дифференцированную зону – центральная часть листовой пластинки. Исследования показали, что добавление NaCl в питательную среду приводило к увеличению содержания АБК как в листьях, так и в корнях растений ячменя и пшеницы (рис. 38). Причем, отмеченное накопление АБК у опытных растений происходило очень быстро и достигало высокого уровня.

В побегах ячменя уже через 10 мин после начала воздействия содержание АБК в растущей зоне В опытных растений превышало содержание ее у контрольных растений в 6 раз и оставалось на этом же уровне в течение последующих 20 мин. Следует отметить, что данная растущая зона, характеризуется максимальной относительной скоростью роста (Fricke, 2002). При действии засоления в зоне А растений ячменя также было отмечено постепенное накопление АБК в течение часа после воздействия, но здесь ее содержание оставалось ниже, чем в зоне В.

Что касается дифференцированной зоны (D) третьего листа растений ячменя, то мы наблюдали первичное накопление АБК уже через 10 мин после начала воздействия (**36** нг/г сухой массы и **120** нг/г сухой массы у контрольных и опытных растений, соответственно), после чего содержание ее у опытных растений постепенно снижалось и через час после воздействия составляло 61 нг/г сухой массы. Несмотря на то, что накопление АБК происходило также и в дифференцированной зоне листа и в корнях, тем не менее, концентрация АБК в растущей зоне и через 10 мин, и через 30 мин после засоления превышала ее содержание в остальных частях растения. И только через 1 час после начала воздействия концентрация АБК в растущей зоне начинала снижаться и уже незначительно отличалась от ее концентрации в других частях растения. Измерение содержания АБК в корнях показало, что у контрольных растений оно составляло 12 – 14 нг/г сухой массы. Самое значительное накопление АБК в корнях опытных растений было зафиксировано через 10 мин после начала засоления и составило **61±13** нг/г сухой массы, а уже через 20 мин концентрация АБК в корнях снизилась до **22** нг/г сухой массы, т.е. более чем на 50%.

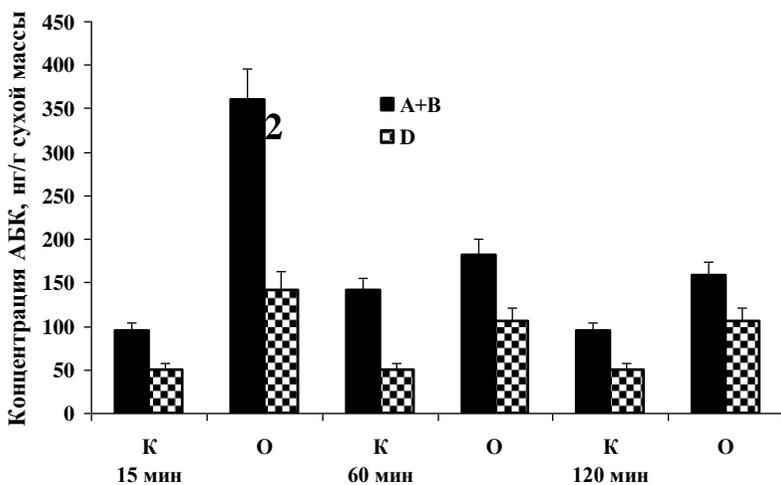
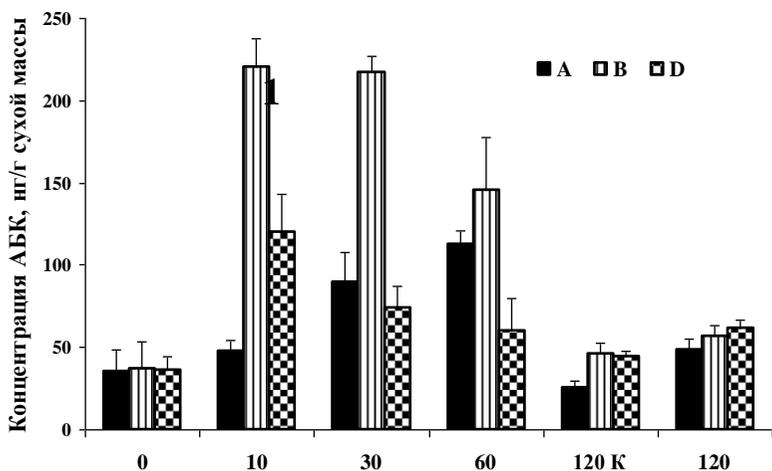


Рис. 38. Уровень содержания АБК в растущей (А, В), дифференцированной (D) зонах растущих листьев и корнях растений ячменя сорта Golf (1) и пшеницы сорта Безенчукская-139 (2) в фазе выхода третьего листа. На оси абсцисс представлено время действия засоления. На графиках представлены средние значения и их ошибки из 4 независимых экспериментов.

В дальнейшем, содержание АБК во всех частях побега (и в растущей, и в дифференцированной) в корнях снижалось, и уже через 2 часа после начала засоления было примерно на уровне контрольных растений.

Как в побегах, так и в корнях растений пшеницы наблюдалось увеличение содержания АБК при засолении питательного раствора (рис.38 (2)). Подобно растениям ячменя повышение уровня АБК в побегах растений пшеницы при засолении питательного раствора было количественно более выражено в растущей зоне листа.

В растущей зоне побегов пшеницы содержание АБК увеличивалось в 4 раза через 15 минут после добавления в их питательную среду хлорида натрия. В дальнейшем содержание ее в данной растущей зоне снижалось с **395,5** нг/г до **181,5** нг/г (к 1ч) и до **158,5** нг/г (к 2 ч), но по-прежнему оставалось выше, чем содержание АБК в растущей зоне побегов контрольных растений пшеницы.

В дифференцированной зоне листа растений пшеницы через 15 минут после засоления питательного раствора было отмечено накопление АБК. Ее концентрация превышала уровень в контрольных растениях примерно в 3 раза, после чего уровень АБК в данной части побега немного снижился.

Увеличение содержания АБК в побегах и корнях растений при относительно длительном воздействии засоления было отмечено в работах многих исследователей (Wolf et al., 1990; Thomas et al., 1992; Таланова и др., 1993; Munns and Cramer, 1996; Gomez – Caderas et al., 1998; Кильдибекова и др., 2004; Сахабутдинова и др., 2005). Но нами впервые показано увеличение содержания АБК уже в течение первого часа после начала воздействия соли. Отмеченное накопление АБК в дифференцированной зоне листа опытных растений уже через 10 мин после засоления питательного раствора вполне могло способствовать снижению устьичной проводимости и падению уровня транспирации, которое предшествовало возобновлению роста побега. При этом необходимо отметить, что наиболее быстрое увеличение содержания АБК в дифференцированной зоне было отмечено в третьем растущем листе побегов ячменя, по сравнению со вторым листом, рост которого ко времени проведения эксперимента уже прекратился (рис. 39).

Из представленных на рисунке 39 данных видно, что в первые 10 мин после начала засоления содержание АБК в дифференцированной зоне второго листа повышалось незначительно (в 1,2 раза) по сравнению с третьим листом, где содержание данного гормона через 10 мин в 3,3 раза превышало его первоначальный уровень. Далее концентрация АБК в третьем листе постепенно снижалась, а во втором листе, наоборот, было отмечено увеличение ее концентрации примерно в 2 раза по сравнению с контрольными растениями.

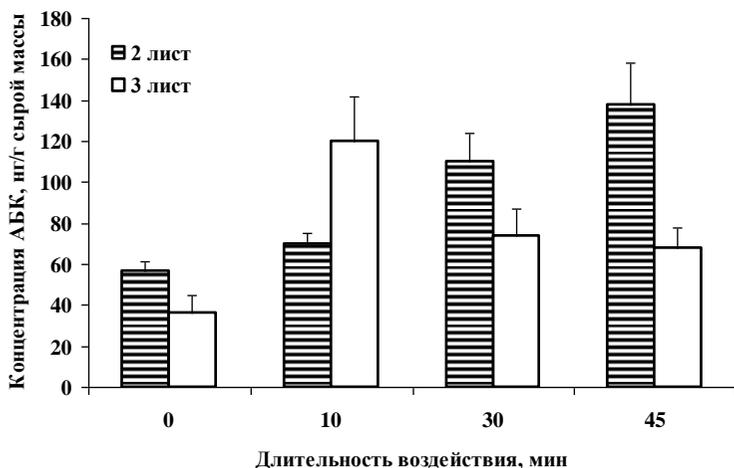


Рис. 39. Влияние засоления (добавления NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ) на содержание АБК во втором и дифференцированной зоне третьего листа растений ячменя сорта Golf. На графике представлены средние значения ($n=4$) и их ошибки.

Сопоставив данные по содержанию АБК во втором и третьем листе побегов ячменя с данными по изменению их устьичной проводимости (рис. 40) можно отметить, что падение устьичной проводимости в этих листьях было неодинаковым.

Из рисунка 40 видно, что как до воздействия, так и после добавления соли в питательный раствор устьичная проводимость третьего растущего листа превышала данный показатель для второго листа побега. Устьичная проводимость второго листа после начала воздействия снижалась постепенно и к 45 мин уменьшилась лишь на $19 \text{ ммоль м}^{-2} \text{ сек}^{-1}$. В тоже время резкое падение устьичной проводимости в третьем листе побега отмечалось уже через 10 мин после засоления на $33 \text{ ммоль м}^{-2} \text{ сек}^{-1}$.

Таким образом, более быстрое падение устьичной проводимости при засолении наблюдалось именно в третьем растущем листе побегов ячменя ($98 \pm 6 \text{ ммоль м}^{-2} \text{ сек}^{-1}$ и $65 \pm 6 \text{ ммоль м}^{-2} \text{ сек}^{-1}$ у контрольных и опытных растений, соответственно) уже через 10 мин после начала воздействия по сравнению со вторым листом, чему предшествовало накопление АБК.

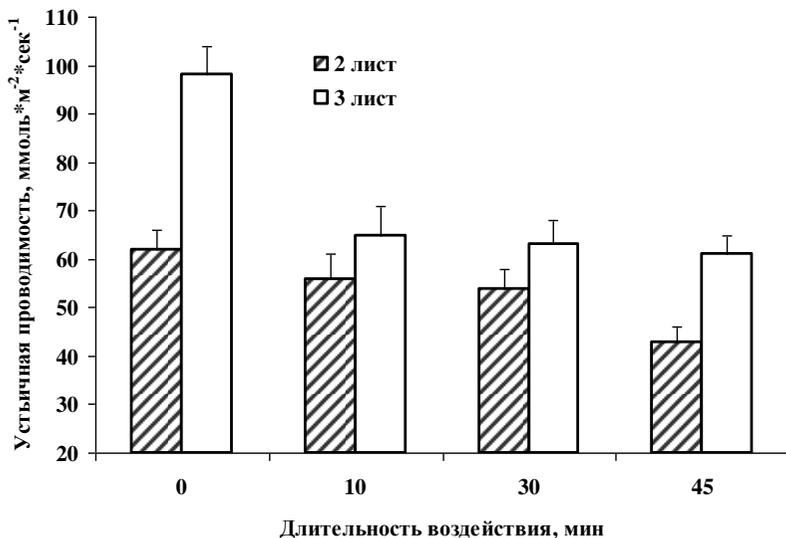


Рис. 40. Влияние засоления (добавления NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ) на устьичную проводимость второго и третьего листа растений ячменя сорта Golf в фазе выхода третьего листа. На графике представлены средние значения (n=6) и их ошибки.

В литературе лишь в немногих работах описана способность АБК накапливаться в побеге в течение нескольких минут после стрессового воздействия (Blatt, 1990). При этом до сих пор нет единого мнения относительно того, что является источником повышенного содержания АБК в побеге. Многие исследователи придерживаются мнения, что в случае влияния водного дефицита, основным источником АБК, которая накапливается в побеге являются корни (Davies and Zhang, 1991; Ribaut and Pilet, 1991; Griffiths et al, 1996). Увеличение поступления АБК из корней также наблюдали и под влиянием засоления (Munns and Cramer, 1996). Однако этот эффект был обнаружен только через сутки после начала воздействия соли. В наших исследованиях также было интересно посмотреть, что является источником накопления АБК в побеге. Итак, в наших экспериментах самое значительное накопление АБК как в растущей, так и в дифференцированной зоне побега наблюдалось уже через 10 минут после начала воздействия соли. Если исходить из того, что накапливающаяся в побеге АБК приходит из корней, то ее содержание в ксилемном соке к этому времени тоже

должно увеличиться. Измерение содержания АБК в ксилемном соке через 10 минут после засоления показало, что, несмотря на то, что содержание АБК в корнях опытных растений увеличивается в 5 раз, концентрация ее в ксилемном соке остается почти неизменной и составляет $17,8 \pm 1,9$ и $19,5 \pm 2,1$ нг/мл в контроле и опыте, соответственно.

Зная уровень транспирации растений при засолении, мы решили рассчитать доставку АБК в побег, которая равна произведению концентрации гормона в ксилемном соке на объем транспирационного потока за единицу времени (Else et al, 1995; Jarvis and Davies, 1997). Из представленных данных по транспирации (рис. 41) видно, что в первые 10 минут транспирация опытных растений не отличается от транспирации контрольных растений и составляет примерно $0,7$ ммоль/м² × сек, или $0,0756$ мкл/см² × мин.

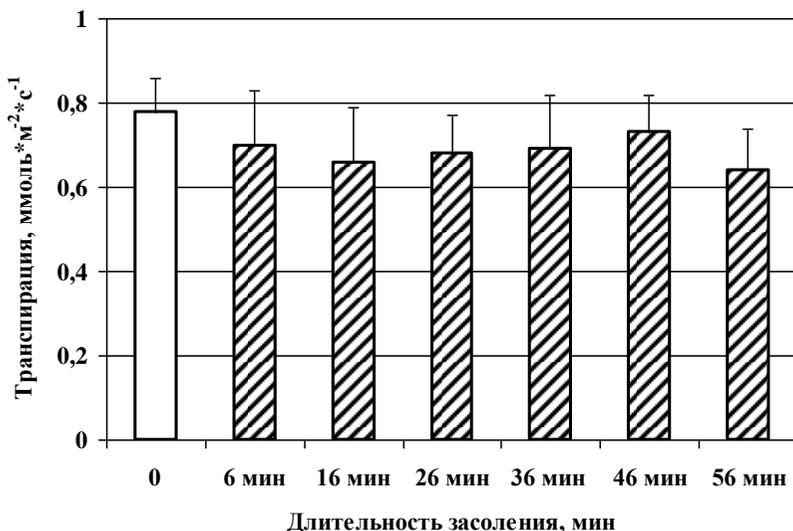


Рис. 41. Влияние засоления (добавления NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ) на транспирацию растений ячменя сорта Golf в фазе выхода третьего листа. На графике представлены средние значения (n=8) и их ошибки.

Следовательно, скорость доставки гормона равна **1,346** нг/мин у контрольных растений, и **1,474** нг/мин у опытных растений. Сравнив эти значения, мы видим, что у опытных растений скорость доставки гормона в побег превышает данный показатель контрольных растений

всего лишь на 9,5%, что является незначительным. Таким образом, мы не можем говорить о том, что накопление АБК в побеге опытных растений при засолении было связано с увеличением доставки данного гормона из корней. Следовательно, источником АБК в данном случае мог, является сам побег. Известно, что листья побега сами могут синтезировать АБК (Hoad, 1978). В работах Оутлау с сотрудниками (Outlaw et al., 1992) показано накопление АБК в отделенных от побега листьях при водном дефиците, где корни не могли быть источником АБК. Недавние исследования также продемонстрировали возможность синтеза АБК в побегах, причем сигналом к нему является уменьшение объема клетки (Jia et al., 2001). Еще одним возможным источником АБК в побеге при стрессах могут быть конъюгаты АБК.

В нашем случае наблюдаемое сжатие листа, вероятно, тоже могло стать своеобразным сигналом для синтеза АБК. Для того, чтобы выяснить, какая часть листа может сжиматься при потере тургора, мы провели замораживание и оттаивание одинаковых по длине кусочков, взятых, отдельно, из растущей и дифференцированной зоны листа. Измерение их длины после замораживания и оттаивания, которое неизбежно приводит к потере тургора, показало, что при этом изменяется длина лишь кусочков, взятых из растущей зоны. Самый значительный уровень накопления АБК также был зафиксирован именно в растущей зоне *B* побега. Полученные нами данные о способности к сжатию именно той зоны, где накопление АБК максимально, свидетельствует о том, что стимулом для накопления АБК было сжатие листа. Каким образом эта АБК может попасть из зоны растяжения к устьицам? В обычных условиях ток воды с растворенными в ней веществами и, в частности, АБК идет к растущим клеткам, а не от них. Но до начала возобновления роста тока воды к растущим клеткам не было, а сжатие свидетельствовало об обратном токе воды из растущих клеток, с которым АБК могла попасть в область устьичных клеток.

Сравнение степени сжатия листа при действии засоления свидетельствует о том, что оно было выше у растений ячменя сорта Golf по сравнению с растениями твердой пшеницы сорта Безенчукская-139, а при сравнении пары сортов ячменя друг с другом – выше у сорта Прерия, чем у Михайловского. При этом уровень последующего накопления АБК был выше у сорта Golf, чем у Безенчукской-139, и у сорта Прерия по сравнению с Михайловским. Таким образом, прослеживается четкая корреляция между уровнем сжатия листа и накоплением АБК при осмотическом стрессе: больше АБК накапливается у растений, у которых сильнее сжимается лист. Это указывает на то, что именно сжатие листа является стимулом для накопления АБК.

В литературе обсуждается источник накопления АБК при водном стрессе и роль самого листа в этом плане. Поповой и другими было показано накопление АБК в области устьиц изолированных, отделенных от корней листьев (Popova et al., 2000). Meinzer подчеркивал значение АБК, которая синтезируется в ответ на повышение дефицита воды в самом листе, но отмечал, что место ее синтеза не известно (Meinzer, 2002). Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что этим сайтом может быть зона роста листа. Эластичность клеток этой зоны и их способность чутко реагировать путем сжатия на уменьшение водного потенциала ксилемы тогда, когда общий потенциал листа еще остается без изменений, делает эти клетки высокочувствительным сенсором колебаний оводненности листа. В отсутствие роста, которое характерно для ранней фазы ответа на засоление, ток воды не мешает диффузии гормона из основания листа в другие его части и, прежде всего в область устьичных клеток, куда направляется транспирационный поток.

Как уже отмечалось выше, данные литературы о роли АБК в регуляции роста при засолении противоречивы. Крамер с соавторами показали, что у нетранспирирующих растений кукурузы уровень содержания АБК в зоне роста листьев отрицательно коррелировал со скоростью их роста. В наших экспериментах растения транспирировали, и поэтому обнаруженная нами обратная закономерность: более высокое содержание АБК в дифференцированной зоне роста листа у растений с более стабильным ростом на фоне засоления, - не может вызывать удивления. Наряду с влиянием на скорость транспирации, защитные свойства АБК при засолении могут реализоваться за счет способности этого гормона индуцировать синтез белков, повышающих устойчивость растений (Шакирова 2001; Титов и др., 2006). Но как интерпретировать накопление АБК непосредственно в зоне растяжения? Как отмечалось в обзоре литературы, роль АБК в регуляции роста растяжением сейчас менее ясна, чем это считалось раньше. Наряду с мнением о том, что АБК ингибирует рост (Cramer, Quarrie, 2002), рассматривается возможность того, что она может поддерживать рост при стрессе за счет ингибирования синтеза этилена (LeNoble et al., 2004). Было показано, что дефицитные по АБК мутантные растения томатов отличались пониженной скоростью роста на засолении в нетранспирирующих условиях, что указывает на АБК как на фактор, непосредственно влияющий на рост и необходимый для его поддержания в условиях засоления (Makela et al., 2003).

Кроме того, необходимо отметить, что повышенный уровень АБК поддерживался в зоне роста лишь некоторое время при действии засоления. Затем (уже через час) уровень содержания этого гормона

снижался до контрольного. При более длительном и постепенном повышении уровня засоления ни у одного из изученных сортов мы не обнаружили стабильного накопления АБК в зоне роста листьев (рис. 42). На этой стадии стабильно высоким было содержание АБК в дифференцированном листе более устойчивого к засолению сорта (Прерия) (рис. 42).

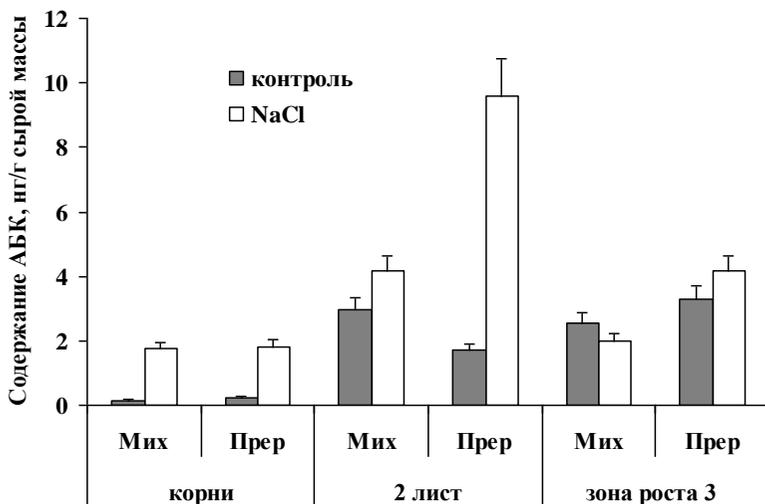


Рис. 42. Содержание АБК на четвертый день после добавления NaCl в питательный раствор до конечной концентрации 100 мМ в корнях, втором листе (2 лист) и зоне роста третьего листа (зона роста 3) растений ячменя на стадии выхода третьего листа сорта Михайловский (Мих) и Прерия (Прер). На рисунке представлены средние значения (n=3) и их ошибки.

Резкое возрастание уровня АБК в корнях растений в этих экспериментах свидетельствует о том, что источником повышения уровня АБК при длительном действии засоления становятся корни. Но вместе с тем, полученные нами данные указывают на роль зоны роста листа как источника быстрого накопления АБК в начале действия засоления.

Регуляция гидравлической проводимости при возрастании дефицита воды в растениях

Прежде чем перейти к изложению полученных нами результатов, важно еще раз проанализировать данные литературы с акцентом на те их аспекты, которые помогут понять значение наших собственных результатов. Как неоднократно отмечалось в предыдущих разделах, способность контролировать баланс между поглощением и потерей воды очень важна для выживания растений, поскольку как водоснабжение, так и транспирационный запрос часто изменяются в естественных условиях обитания растений. В течение долгого времени внимание исследователей в основном фокусировалось на механизмах, обеспечивающих контролирование потерь воды через изменение устьичной проводимости (Webb and Baker, 2002). Открытие у растений водных каналов (Maurel, 1997) и быстрое накопление информации о механизмах, контролируемых их количество и активность (Chaumont et al., 2001; Lu and Maurel, 2005; Hachez et al., 2006) привело к смещению акцентов, и больше внимания стали уделять способности растений регулировать поглощение воды путем изменения гидравлической проводимости тканей растений. Аквапорины могут способствовать транспорту воды путем повышения водной проницаемости мембран (Morillon and Chrispeels, 2001). Важность аквапоринов для поддержания общей гидравлической проводимости растений было предметом дебатов в течение некоторого времени, поскольку у многих транспирирующих растений (например, кукурузы) большая часть воды движется по апопластному пути (Steudle and Peterson, 1998), который непосредственно не зависит от активности аквапоринов. Однако, высказывались контраргументы в пользу того, что движение воды через мембраны клеток, окружающих сосуды ксилемы, должно играть важную роль в ксилемном (т.е. апопластном) транспорте (Kaldenhoff et al., 2008), и, кроме того, вклад трансмембранного транспорта увеличивается с формированием поясков Каспари, препятствующих движению воды в ксилему через апопласт (Vandeleur et al., 2005; Hachez et al., 2006). Значение аквапоринов для транспорта воды по растению подтвердили данные, показавшие высокий уровень их экспрессии в области сосудов (Hachez et al., 2006). Появились сообщения о циркадной ритмике активности генов аквапоринов (Henzler et al., 1999; Lopez et al., 2003), что указывало на роль аквапоринов в усилении способности растений транспортировать воду на фоне высокого транспирационного запроса (Lu and Maurel, 2005). Предполагается, что транспорт воды от клетки к клетке становится еще более важным, когда возникают проблемы с поддержанием водного баланса (Kaldenhoff et al., 2008), т.е. когда

транспирационный поток становится медленным и осмотический поток через мембраны может доминировать (Vandeleur et al., 2005). Роль аквапоринов в регуляции водных отношений при возрастании дефицита воды была объектом многочисленных исследований, но до сих пор остается неясной, поскольку экспрессия различных генов из семейства аквапоринов может возрастать, снижаться или оставаться неизменной при различных абиотических стрессах (Galmes et al., 2007). Разными авторами высказывались противоречивые предположения о том, что как возрастание, так и снижение экспрессии аквапоринов и соответствующие им изменения проницаемости клеточных мембран для воды могут быть полезны для растений, испытывающих дефицит воды. В первом случае говорят о том, что снижение проницаемости мембран для воды должно помочь растениям избежать возможной потери воды, которая будет уходить из корней в почву (Aroca et al., 2006). Во втором случае утверждалось, что высокий уровень аквапоринов может способствовать поглощению воды при ее дефиците и поддержанию водного баланса (Lian et al., 2004). Предполагалось, что значение обоих типов реакций (снижения и повышения активности аквапоринов) может меняться в зависимости от интенсивности и продолжительности стресса (Galmes et al., 2007, Vogeat-Triboulot et al., 2007). Все сказанное свидетельствует об актуальности дальнейшего изучения роли аквапоринов в регуляции транспорта воды у растений. Анализ результатов, приведенных в предыдущих разделах, показал, что снижение устьичной проводимости является надежным способом быстрого восстановления водного баланса при снижении притока воды из корней. Вместе с тем, этот способ поддержания оводненности тканей не является универсальным. По крайней мере, один из примеров, приведенных в первом разделе экспериментальной части, не укладывался в данную схему. При повышении температуры воздуха транспирация растений пшеницы сорта Безенчукска-139 возрастала за счет открытия устьиц и оставалась высокой на протяжении всего эксперимента, что сначала приводило к снижению ОСВ и прекращению роста, но затем оводненность тканей (рис. 43) и рост растяжением полностью восстанавливались. Измерение гидравлической проводимости корней показало, что она возрастала при повышении температуры воздуха (**598+86** и **1608+176** мг*ч⁻¹*г⁻¹*МПа⁻¹ при исходной и после 30 минут экспозиции на повышенной температуре соответственно). Эти результаты свидетельствуют о том, что есть еще один способ поддержания оводненности и скорости роста при возрастании дефицита воды. Это изменение притока воды из корней за счет снижения гидравлического сопротивления.

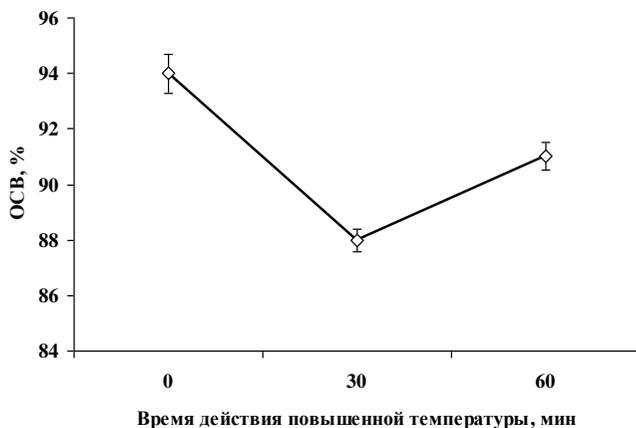


Рис. 43. Динамика относительного содержания воды (ОСВ) у листьев 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139 при повышении температуры воздуха на 4 градуса. На графике представлены средние значения ($n=5$) и их ошибки.

Определение гидравлической проводимости в корнях, а не других частях растения обусловлено тем, что именно здесь сосредоточена по данным литературы область наиболее высокого сопротивления току воды, что связано с присутствием поясков Каспари и большого количества мелких клеток на пути воды по коре и через клетки обкладки ксилемных сосудов (Steudle, Peterson, 1998).

Способность поддерживать устьица открытыми при повышении температуры на 4 градуса от 20 до 24 градусов Цельсия была характерна не для всех сортов пшеницы, а для адаптированных к более влажным условиям. Кроме сорта Безенчукская-139 такая особенность устьичной реакции на повышение температуры была обнаружена еще у сорта Ирень, предложенного для возделывания в прохладных и влажных климатических условиях. У более засухоустойчивых сортов (например, Казахстанской 10) при повышении температуры устьица закрывались, чему способствовало снижение гидравлической проводимости (рис. 44).

Повышение гидравлической проводимости у растений Безенчукской-139 происходило на фоне накопления АБК в корнях (рис. 45).

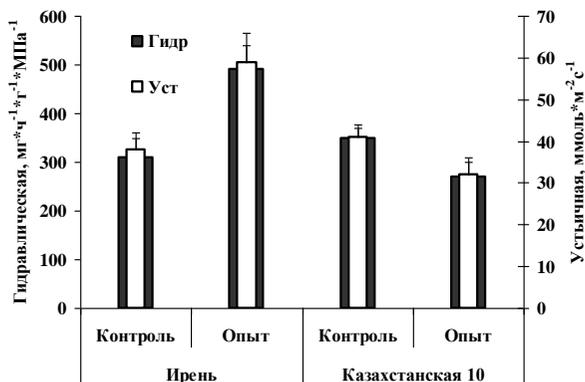


Рис. 44. Устьичная (Уст) и гидравлическая (Гидр) проводимость 7-суточных растений мягкой пшеницы сортов Ирень и Казахстанская 10 до (контроль) и через час после (опыт) повышения температуры воздуха на 4 ± 1 °С. Представлены средние значения и их ошибки (n=10).

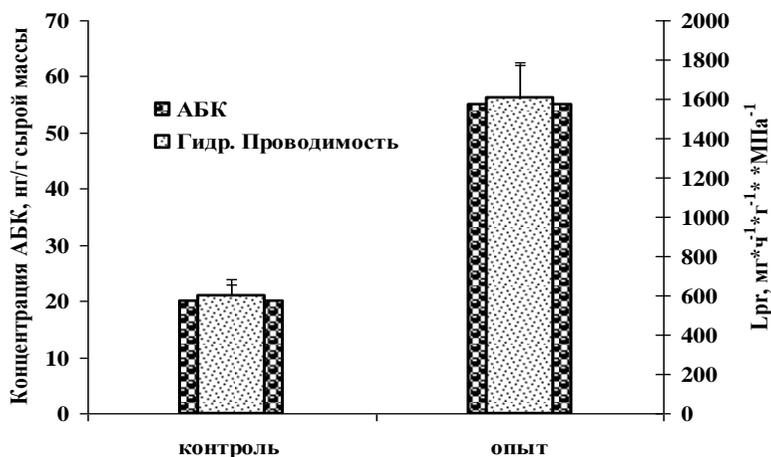


Рис. 45. Содержание АБК и гидравлическая проводимость (Лпр) в корнях 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139 до (контроль) и 30 мин после (опыт) повышения температуры воздуха на 4^0 С. Представлены средние значения (n=4) и их ошибки.

Поскольку известна способность АБК повышать гидравлическую проводимость (Носе et al., 2000), накопление АБК в корнях может способствовать повышению их способности проводить воду. При повышении температуры воздуха блокирование флоэмного потока из побега путем охлаждения его основания приводило к накоплению АБК в листьях, а не в корнях, что сопровождалось закрытием устьиц (рис. 46).

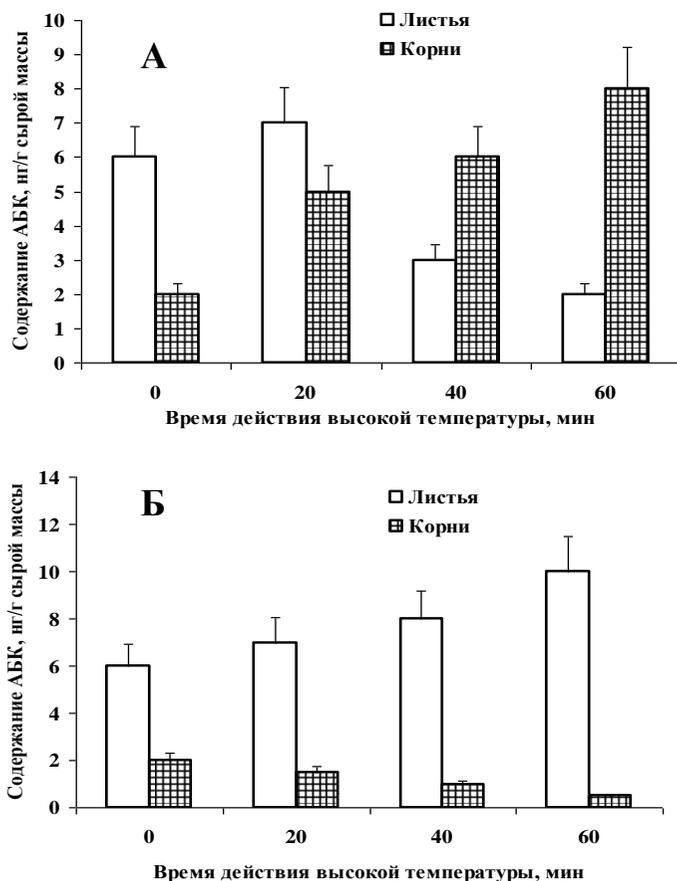


Рис. 46. Влияние повышенной температуры воздуха на содержание АБК в побегах и корнях 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139. А – контрольные растения; Б – растения, у которых транспорт по флоэме был подавлен путем охлаждения основания побега. Представлены средние значения (n=4) и их ошибки.

Эти результаты свидетельствуют о том, что именно побег является тем местом, где продуцируется АБК в ответ на данное воздействие. Как было показано нами ранее, стимулом для синтеза АБК может быть сжатие листа. При повышении температуры воздуха происходило резкое сжатие листа, что указывает на возможный механизм индукции синтеза данного гормона в листе. Дальнейшая реакция, определялась характером распределения АБК: ее накопление в побеге обеспечивало закрытие устьиц, а в корнях – повышение их гидравлической проводимости, приток воды из корней в побег и поддержания устьиц в открытом состоянии. Повышение гидравлической проводимости корней в результате накопления в них АБК было также обнаружено сотрудниками нашей лаборатории при редукции корневой системы (Vysotskaya et al., 2004) и повышении уровня освещенности (Тимергалина и др., 2007).

Снижение гидравлической проводимости было причиной торможения роста при охлаждении корней. В этом случае восстановления роста не было из-за того, что на фоне охлаждения гидравлическая проводимость не могла быстро возрасти. Результаты, полученные при обоих температурных воздействиях, свидетельствуют о важной роли изменений гидравлической проводимости в регуляции оводненности и роста растений. Представляло интерес выяснить, как менялась гидравлическая проводимость при действии на растения засоления.

Связь уровня гидравлической проводимости растений ячменя с экспрессией гена аквапорина на фоне водного дефицита, создаваемого умеренным засолением

В данных экспериментах объектом исследований были растения дикого ячменя линии Т-1 и 20-45. Измерять гидравлическую проводимость у растений при засолении довольно сложно, поскольку отключение «верхнего концевое двигателя» (транспирации) резко снижает корневую экссудацию на фоне низкого осмотического потенциала питательного раствора. Поэтому мы снизили концентрацию хлорида натрия с 100 мМ до 25 мМ. Через 3 часа после начала данного воздействия удалось собрать ксилемный экссудат и измерить гидравлическую проводимость. Было обнаружено существенное снижение гидравлической проводимости, причем в большей степени у растений линии 20-45 по сравнению с растениями линии Т-1 (рис. 47).

Эти результаты поставили перед нами ряд вопросов. Во-первых, не понятно было, зачем растения снижают гидравлическую проводимость. Ведь за счет этого возникают дополнительные сложности для поступления воды в побег, которое уже и так проблематично из-за уменьшения доступности воды при засолении.

Экспрессию гена аквапорина PIP2;4 определяли в корнях, поскольку, как указывалось выше, эта часть растения имеет наиболее высокое сопротивление току воды и поэтому его изменение вносит наиболее существенный вклад в суммарную гидравлическую проводимость растений (Steudle, Peterson, 1998). Динамика экспрессия гена аквапорина для Т1 и 20-45 растений при засолении представлена на рисунке 48. Снижение экспрессии у 20-45 растений стало статистически значимым через 2 часа действия хлорида натрия и осталось на таком уровне до конца эксперимента. Экспрессия гена аквапорина у Т-1 растений снижалась лишь через 24 часа после начала действия засоления. Сопоставление изменений уровня экспрессии гена PIP2;4 с гидравлической проводимостью указывает на то, что более резкое падение гидравлической проводимости у растений линии 20-45 было следствием более резкого снижения экспрессии соответствующего гена. Роль аквапоринов в регуляции суммарной гидравлической проводимости дискутируется (Aharon et al., 2003).

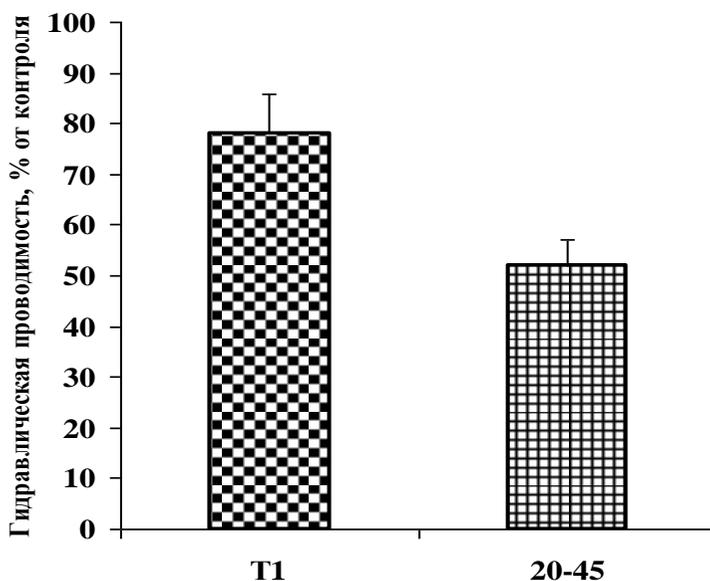


Рис. 47. Гидравлическая проводимость корней 7-суточных растений разных линий (Т-1 и 20-45) и сортов (Прерия и Михайловский) ячменя, измеренная через 3 часа после добавления NaCl до конечной концентрации 25 мМ. На рисунке представлены средние значения (n=4) и их ошибки.

Наряду с данными, свидетельствующими о роли аквапоринов в регуляции тока воды по растению (Vandeleur et al., 2005), встречается и критика в адрес данной точки зрения (Hill et al., 2004), которая опирается на отсутствие корреляции между гидравлической проводимостью и активностью аквапоринов, обнаруженной в некоторых экспериментах. Из-за композитного характера транспорта воды (Steudle and Peterson, 1998), когда часть ее идет не через мембраны, а по апопласту, роль мембранного транспорта и участие в нем аквапоринов может маскироваться. Наши данные, полученные с использованием растений ячменя, для которых характерен высокий уровень использования мембранного пути транспорта воды (Steudle and Jescke, 1983), представляют интерес, поскольку они указывают на роль аквапоринов в регуляции гидравлической проводимости при засолении и значение транскрипционного уровня в контроле активности аквапоринов.

Теперь нам необходимо вернуться к вопросу о том, каким образом снижение гидравлической проводимости могло повлиять на устойчивость растений к засолению. Снижение гидравлической проводимости было обнаружено у ряда растений при действии засухи (Aroca et al., 2006). Предполагалось, что снижение проницаемости мембран для воды может защитить клетки от обезвоживания за счет возрастания сопротивления оттоку из них воды (Johanson et al., 1996). В наших опытах содержание воды снижалось в меньшей степени в корнях растений линии 20-45, чем T-1 (табл. 20), что подтверждает значение снижения гидравлической проводимости в поддержании оводненности тканей при осмотическом стрессе.

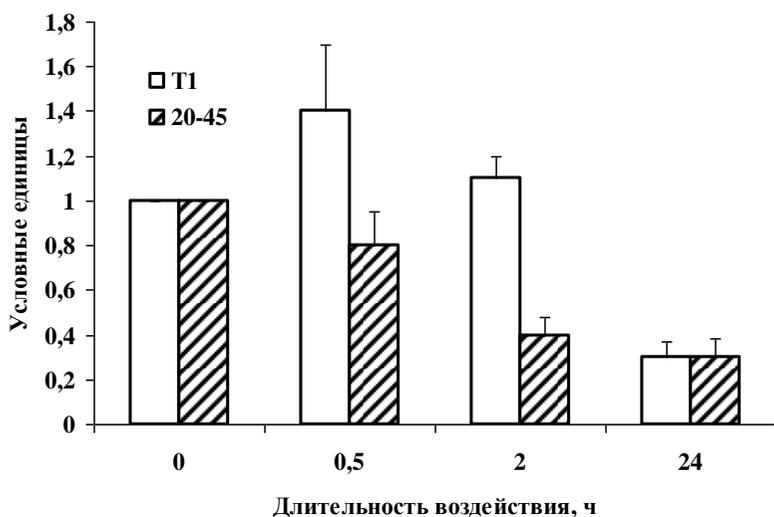


Рис. 48. Динамика экспрессии гена аквапорина PIP 2;4 (экспрессия представлена по отношению к необработанному контролю) у растений ячменя линии 20-45 и T-1 при засолении (добавлении хлорида натрия до концентрации 100 мМ в питательный раствор 7-суточных растений). Представлены средние значения и их ошибки (n=5)

Вместе с тем, такой механизм защиты от обезвоживания может срабатывать скорее у нетранспирирующих растений. У транспирирующих снижение гидравлической проводимости привело к снижению притока воды в побег, что в свою очередь снизило относительное содержание воды в листьях. В процентном отношении снижение притока воды было выражено сильнее у растений линии 20-45,

что соответствует более резкому снижению у этих растений активности аквапоринов и гидравлической проводимости. Тем не менее, ОСВ листьев снижалась у растений обеих линий в одинаковой степени. Поддержание ОСВ на одинаковом уровне на фоне более выраженного падения притока воды у растений линии 20-45 могло быть следствием соответствующего снижения устьичной проводимости и потери воды растением.

Таблица 20
Показатели водного обмена у 7-дневных ячменя линии 20-45 и Т-1 через 3 часа экспозиции растений на 25 мМ NaCl. Представлены средние значения и их ошибки (n=5)

Показатели	Т1		20-45	
	Контроль	NaCl	Контроль	NaCl
Содержание воды в корнях (%)	92.8±0.4	89.8±0.8*	92.6±0.5	91.9±0.7
ОСВ в побеге (%)	92.7±0.8	89.7±1*	92±0.7	89±0.5**
Поток воды [(г ^с ⁻¹ FW корней)] · 10 ⁻⁷	92±4	72±6*	150±8	78±6**

* Различия между контролем и опытом достоверны (*t*-test, P<0.05)

** Различия между контролем и опытом достоверны (*t*-test, P<0.01)

Определение скорости транспирации подтвердило, что через сутки после добавления в питательный раствор 25 мМ NaCl скорость транспирации сильнее снижалась у растений линии 20-45 по сравнению с Т-1. В данной серии опытов мы постепенно повышали концентрацию соли в питательном растворе. При этом на каждом этапе снижение водного потенциала питательного раствора было небольшим. Само по себе это было слабое воздействие, о чем свидетельствует незначительное снижение транспирации в первые часы действия 25 мМ NaCl.

Через 3 часа, когда снижение активности аквапоринов понизило гидравлическую проводимость, это привело к существенному снижению транспирации (рис. 49) (более значительному у растений линии 20-45). Таким образом, снижение экспрессии гена аквапорина, которое привело к снижению гидравлической проводимости, обеспечило усиление слабого гидравлического сигнала и закрытие устьиц.

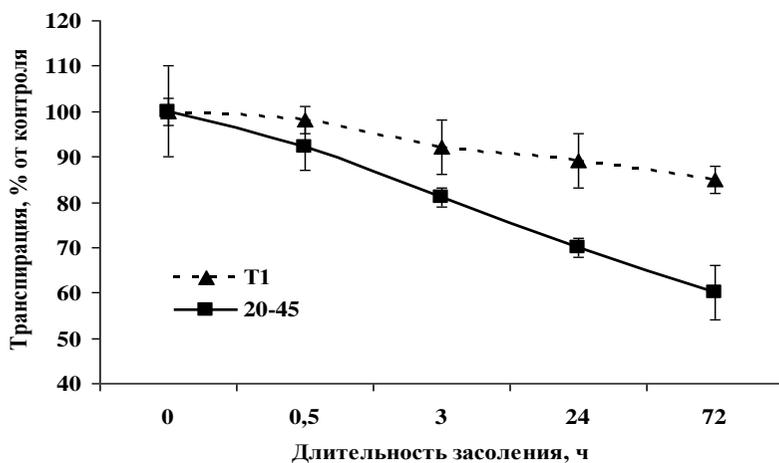


Рис. 49. Влияние на транспирацию засоления (добавления NaCl до конечной концентрации 100 мМ в питательную среду 7-суточных растений ячменя линии 20-45 и Т-1) Приведены средние значения и их ошибки (n=30).

Участие аквапоринов в ответной реакции растений кукурузы на водный дефицит

То, что нам удалось выявить связь между уровнем экспрессии одного из генов аквапоринов и гидравлической проводимостью можно считать большой удачей, поскольку аквапорины представлены целым семейством генов (Chaumont et al., 2001). Удачный выбор гена был основан на данных литературы о повышении именно его экспрессии при засолении у растений кукурузы (Zhu et al., 2005). Дальнейшая работа проводилась с полным набором генов аквапоринов клеточных мембран (ZmPIP генов) растений кукурузы. В нашем распоряжении также были антитела к нескольким аквапоринам, что позволило оценить не только уровень экспрессии генов, но и содержание их продукта с помощью метода Вестерн-Блоттинг. Было изучено влияние на растения добавления ПЭГ в питательный раствор. Выбор кукурузы был обусловлен тем, что аквапорины наиболее хорошо изучены у растений этого вида. Вместе с тем, определенная сложность заключалась в том, что у транспирирующих растений этого вида, в отличие от ячменя, доминирует транспорт не через мембраны, а по апопласту (Stuedle, Peterson, 1998). Досконально изучено также изменение гидравлической проводимости у этих растений при внешних воздействиях и показано ее снижение при уменьшении скорости транспирации, что объясняется тем, что в этих условиях увеличивается степень использования пути воды через мембраны, который имеет более высокое сопротивление по сравнению с апопластным.

При добавлении ПЭГ в питательный раствор транспирация растений кукурузы снижалась (рис. 50). Это неизбежно приводило к снижению гидравлической проводимости вследствие того, что снижение транспирации уменьшало долю апопластного пути, т.е. пути с меньшим гидравлическим сопротивлением, в общем транспорте воды (Stuedle, Peterson, 1998). При этом значение мембранного транспорта должно было возрасти, и важно было попытаться выявить возможную роль аквапоринов в регуляции транспирационного потока воды по растению. Как видно из рисунка, степень снижения уровня транспирации зависела от температуры воздуха.

Через час после добавления ПЭГ в питательный раствор реакция растений была одинаковой при обоих температурных режимах, и транспирация снижалась примерно на 25 % по сравнению с контролем. Но проявлялось различие в степени снижения транспирации в зависимости от температуры, при которой росли растения. Степень ингибирования была значительно больше в случае высокой температуры (примерно 50 % и 40 % от уровня контроля при 23 и 28 соответственно).

Таким образом, транспирация сильнее снижалась при более высокой температуре, т.е. комбинации возрастания дефицита воды в области корней и воздушной среде.

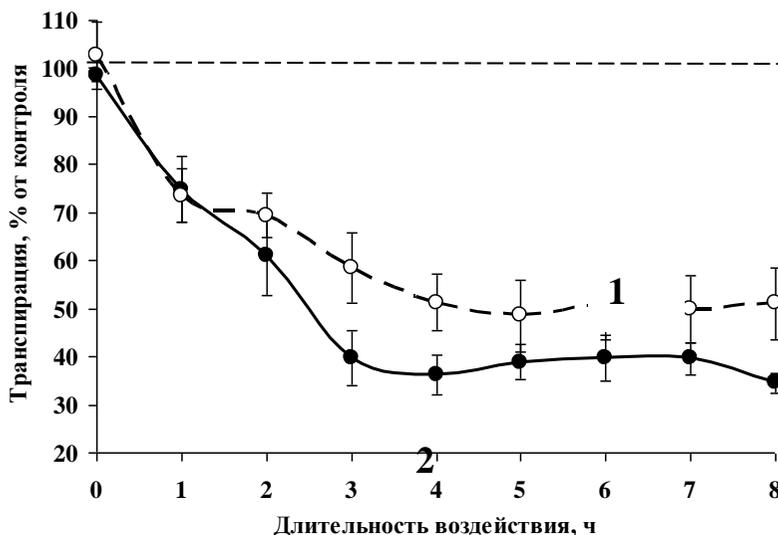


Рис. 50. Влияние добавления ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 % на транспирацию 7-суточных растений кукурузы линии при температуре воздуха 23⁰ С (1) и 28⁰ С (2). Приведены средние значения и их ошибки (n=6).

Мы попытались выяснить, не связаны ли различия в реакции на ПЭГ при двух температурных режимах с уровнем экспрессии и содержанием аквапоринов.

Поскольку в нашем распоряжении были антитела к продукту генов PIP 2;1, PIP2;5, PIP2;6 и PIP1;2, наибольший интерес представлял анализ уровня именно их транскрипции. Из этих генов в корнях контрольных растений экспрессия PIP 2;1, PIP2;5 и PIP2;6 генов была выше по сравнению с остальными PIP 2 генами аквапоринов (рис. 51), в то время как уровень транскрипта PIP2;1 был самым высоким как в зоне роста (рис. 52), так и в дифференцированной части (рис. 53) листьев контрольных растений. Уровень транскрипта PIP1;2 был довольно низким по сравнению другими PIP1 генами во всех проанализированных частях растения.

Под влиянием ПЭГ возрастал уровень экспрессии большинства PIP генов аквапоринов.

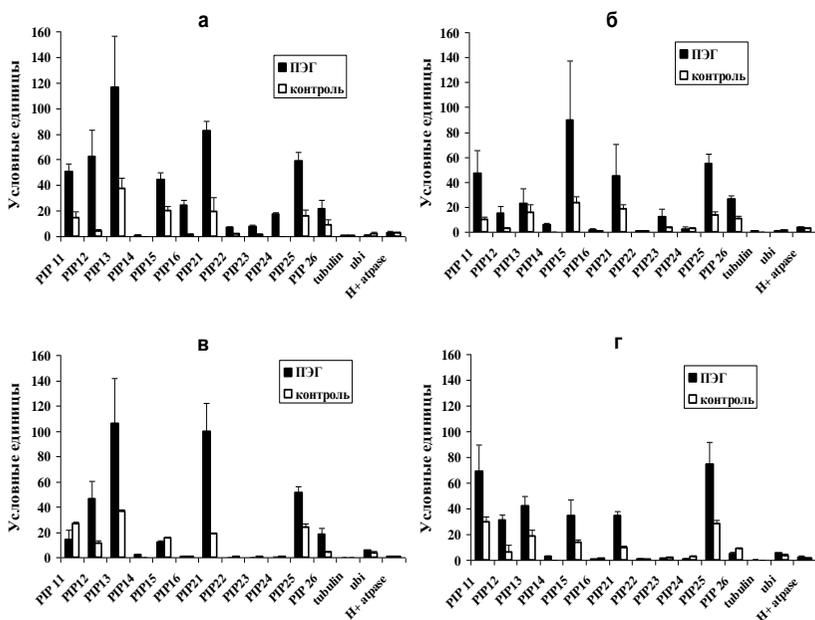


Рис. 51. Уровень транскрипции *PIP* генов аквапоринов в корнях 7-суточных растений кукурузы линии В73 при температуре воздуха 23⁰ С (а, в) и 28⁰ С (б, г) спустя 2 (а, б) и 8 (в, г) часов после добавления ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 %. Приведены средние значения и их ошибки (n=4).

В корнях 2 часа спустя после добавления ПЭГ в питательную среду экспрессия большинства генов возрастала, более чем в 2 раза по сравнению с контролем (рис. 51). Только после восьми часов действия ПЭГ экспрессия некоторых генов аквапоринов опускалась ниже уровня контроля (например, PIP 2;6 на фоне высокой температуры и PIP1;1 при низкой). Увеличение температуры приводило к снижению степени индуцированного ПЭГ накопления транскрипта PIP2;1 гена. Этот ген был одним из трех генов (PIP2;1, PIP2;5 и PIP2;6), имевших наивысший уровень транскрипции в контроле. Под влиянием ПЭГ происходило только 2-,3-кратное возрастание уровня экспрессии этого гена по сравнению с контролем при высокой температуре и 4-, 5-кратное возрастание при более низкой температуре через 2 и 8 часов после начала действия ПЭГ соответственно. В случае двух других PIP2 генов действие температуры было неоднозначным.

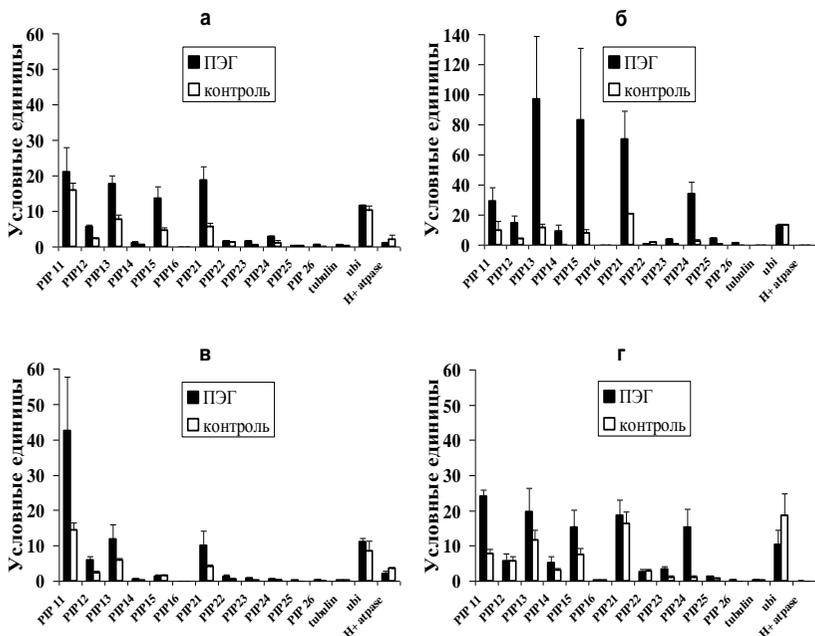


Рис. 52. Уровень транскрипции РІР генов аквапоринов в дифференцированной зоне листьев 7-суточных растений кукурузы линии В73 при температуре воздуха 23⁰ С (а, в) и 28⁰ С (б, г) спустя 2 (а, б) и 8 (в, г) часов после добавления ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 %. Приведены средние значения и их ошибки (n=4).

Накопление под влиянием ПЭГ транскрипта гена РІР2;5 было одинаковым при обеих температурах (примерно в 4 и 2 по сравнению с контролем через 2 и 8 часов действия ПЭГ соответственно). В случае транскрипта гена РІР 2;6 картина была более сложной. Если через 2 часа действия ПЭГ степень ПЭГ-индуцированного накопления транскрипта гена РІР2;6 была одинаковой при обеих использованных в экспериментах температурах (примерно в 2 раза по сравнению с контролем), то через 8 часов уровень накопления этого транскрипта был даже выше (в 4 раза по сравнению с контролем) при более низкой температуре, в то время как при высокой температуре уровень экспрессии РІР2;6 гена снижался ниже уровня контроля (как упоминалось выше).

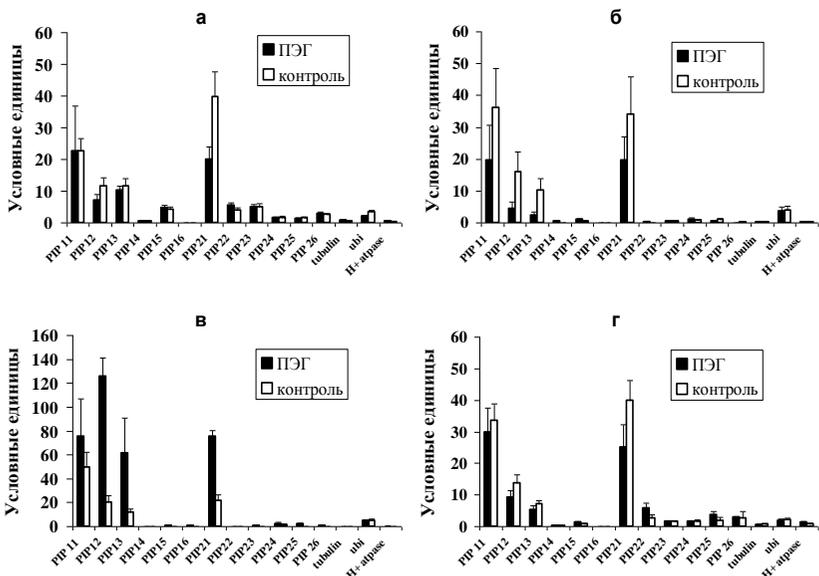


Рис. 53. Уровень транскрипции РІР генов аквапоринов в растущей зоне листьев 7-дневных растений кукурузы линии В73 при температуре воздуха 23⁰ С (а, в) и 28⁰ С (б, г) спустя 2 (а, б) и 8 (в, г) часов после добавления ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 %. Приведены средние значения и их ошибки (n=4).

Характер экспрессии генов аквапоринов в дифференцированной зоне листа был не таким, как в корнях (рис. 52). Так, уровень транскрипции РІР2;5 и РІР2;6 генов был здесь низким. ПЭГ индуцировал накопление транскриптов большинства РІР генов, что лучше всего было заметно через 2 часа после начала воздействия на фоне высокой температуры. Степень возрастания под влиянием ПЭГ уровня транскрипции РІР2;1 гена была одинаковой при обеих температурах (примерно в 3 раза по сравнению с контролем) из-за высокого уровня экспрессии этого гена в контроле на фоне высокой температуры. В зоне роста листа контрольных растений уровень экспрессии был самым высоким в случае РІР1;1 и РІР2;1 генов (рис. 53). ПЭГ в большинстве случаев индуцировал снижение уровня транскрипции генов аквапоринов по сравнению с контролем. Только через 8 часов было зарегистрировано увеличение их уровня по сравнению с контролем.

Поскольку по данным литературы АБК может влиять на уровень экспрессии некоторых аквапоринов (Zhu et al., 2005; Agosa et al., 2006), представляло интерес выяснить, как менялось содержание этого гормона у растений кукурузы под влиянием ПЭГ.

Как видно из рисунка 54, содержание АБК в побегах возрастало под влиянием полиэтиленгликоля через 2 часа, то есть именно тогда, когда в наибольшей степени было выражено повышение уровня экспрессии генов аквапоринов.

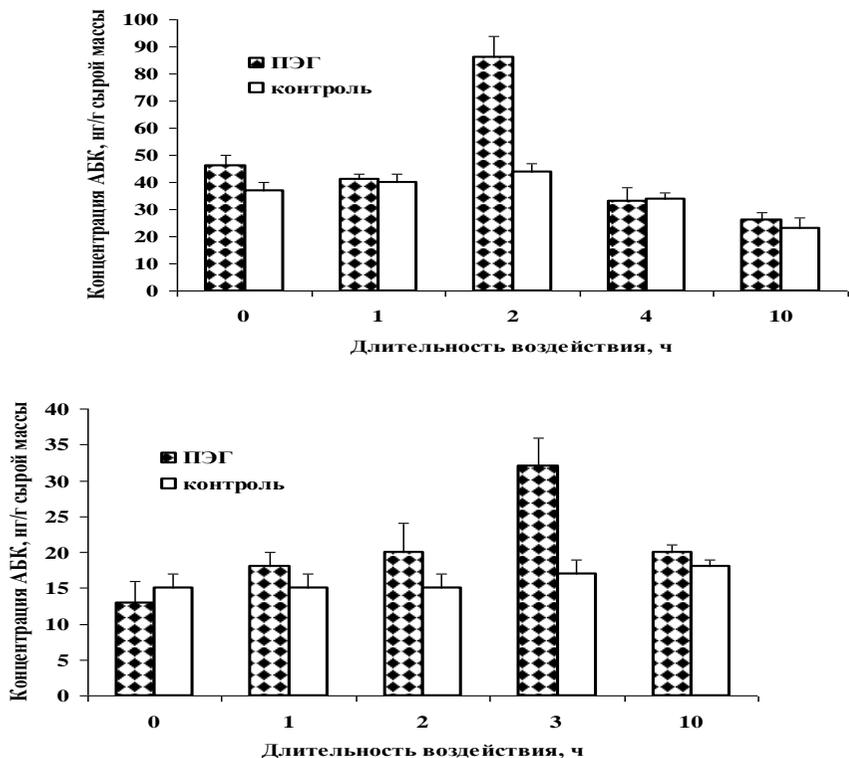


Рис. 54. Концентрация АБК в побегах (А) и корнях (Б) 7-суточных растений кукурузы линии В73 при добавлении ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 %. Приведены средние значения и их ошибки (n=4).

В корнях содержание АБК было выше, чем в контроле на протяжении всего эксперимента (усредненные данные, полученные на протяжении всего эксперимента в опыте отличались от контроля с вероятностью $P \geq 0.95$ по результатам парного t-теста). Хотя уровень

накопления АБК был высоким только к четвертому часу действия ПЭГ, тем не менее, это был общий уровень гормона, а его содержание в критических сайтах (например, в области вокруг ксилемных сосудов) могло увеличиваться более значительно.

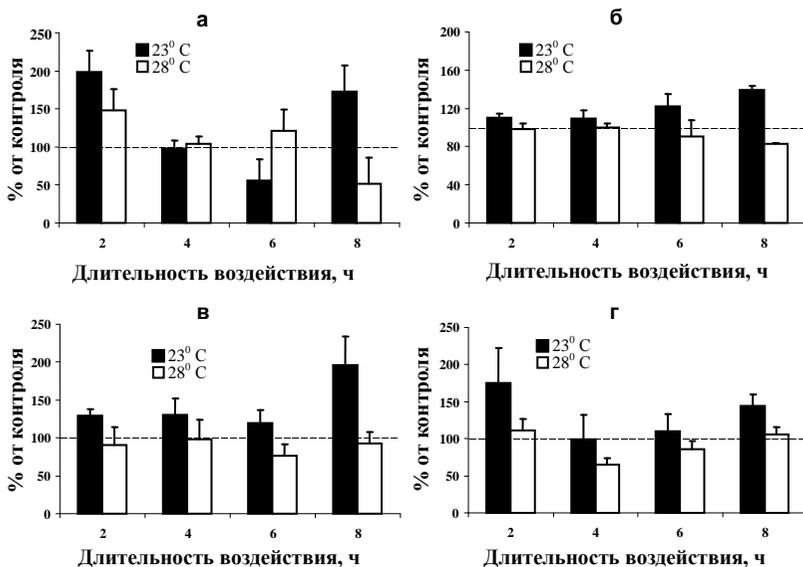


Рис. 55. Содержание белков аквапоринов в корнях сколько-дневных растений кукурузы линии В73 при двух температурных режимах и добавлении ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 %, представленное как процент от контроля. а) PIP 1;2 б) PIP 2;1 в) PIP 2;5 г) PIP 2;6. Приведены средние значения и их ошибки (n=4).

Содержание белков аквапоринов в контрольных растениях изменялось со временем, что соответствует данным литературы о дневной динамике аквапоринов (Henzler et al., 1999; Lopez et al., 2003). По этой причине данные, иллюстрирующие влияние ПЭГ на содержание аквапоринов приведены в виде процента от контроля (рис. 55). В корнях на фоне низкой температуры на протяжении всего эксперимента содержание аквапоринов PIP 2;1 и PIP 2;5 генов повышалось под влиянием ПЭГ по сравнению с контролем. (Средние для данных, полученные на протяжении всего эксперимента были значительно выше, чем в контроле при этом температурном режиме ($P \geq 0.95$, парный t-тест).

В среднем содержание PIP2;5 увеличивалось под влиянием ПЭГ в большей степени, чем содержание PIP2;1 (на 40 и 20 % выше

контроля в случае PIP2;5 и PIP2;1 соответственно). При той же температуре содержание белка PIP1;2 и PIP2;6 увеличивалось под влиянием ПЭГ только в начале эксперимента и через 8 часов действия ПЭГ и не отличалось от контроля или даже было ниже контроля между этими двумя временными точками.

При более высокой температуре в корнях было обнаружено только небольшое увеличение содержания PIP1;2 в самом начале действия ПЭГ. Позднее была зарегистрирована тенденция снижения, (усредненные данные, полученные на протяжении всего эксперимента отличались от контроля в случае PIP2;5, $P \geq 0.95$, парный т-тест).

Действие ПЭГ на уровень PIP1;2 белка в корнях не было однозначным: оно увеличивалось выше уровня контроля в начале действия ПЭГ, а затем снижалось с тем, чтобы снова увеличиться к 8 часам, после начала эксперимента при низкой температуре.

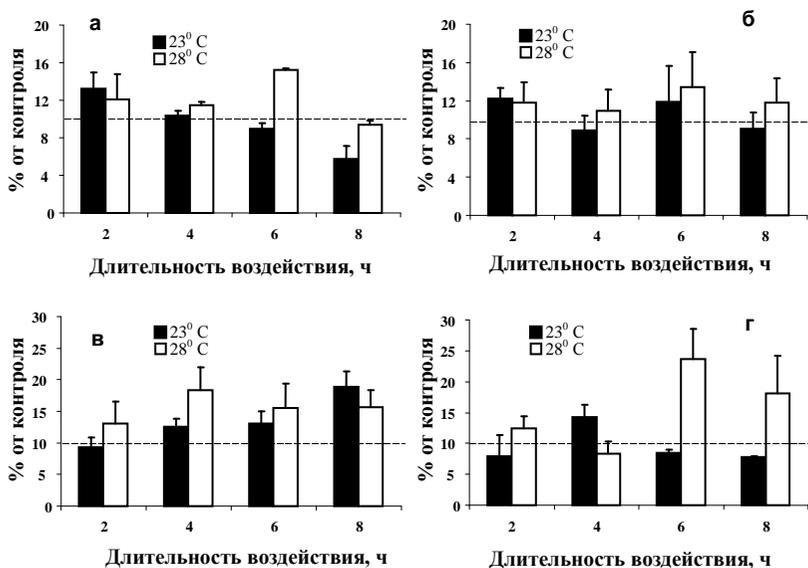


Рис. 56. Содержание белков аквапоринов при двух температурных режимах и добавлении ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 %, представленное как процент от контроля, в дифференцированной зоне листьев 7-суточных растений кукурузы линии В73. а) PIP 1;2 б) PIP 2;1 в) PIP 2;5 г) PIP 2;6. Приведены средние значения и их ошибки (n=4).

ПЭГ изменял на содержание аквапоринов в дифференцированной зоне листа (рис. 56). При высокой температуре содержание РР2;5 было выше, чем в контроле уже через 2 часа после начала действия ПЭГ и оставалось высоким во время всего эксперимента, в то время как при более низкой температуре содержание РР2;5 увеличивалось позднее (после 4 часов действия ПЭГ).

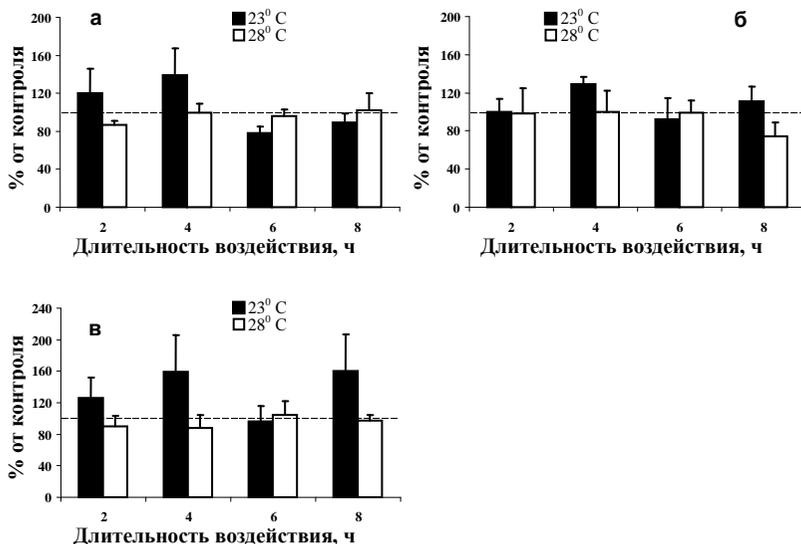


Рис. 57. Содержание белков аквапоринов при двух температурных режимах и добавлении ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 %, представленное как процент от контроля, в растущей зоне листьев 7-суточных растений кукурузы линии В73. а) РР1;2 б) РР2;1 в) РР2;6. Приведены средние значения и их ошибки (n=4).

Содержание РР2;6 превысило уровень контроля после 6 часов действия ПЭГ на фоне высокой температуры, но в основном было ниже контроля при более низкой температуре. При этой температуре воздействие ПЭГ увеличивало содержание РР2;1, которое оставалось более высоким, чем в контроле, а также содержание РР1;2 - до 8-часовой точки, после которой оно опускалось до уровня контроля. При более низкой температуре действие ПЭГ на содержание белков двух аквапоринов (РР1;2 и 2;1) варьировало, и вслед за накоплением

аквапоринов происходило снижение их содержания до уровня ниже контрольного.

Интересно отметить, что мы не смогли выявить присутствие белков PIP2;5 в зоне роста листа с помощью соответствующих антител (в отличие от других изученных частей растений) (рис. 57). При более высокой температуре ПЭГ практически не оказывал влияния на содержание аквапоринов в зоне роста листа. Только в случае более низкой температуры наблюдалось индуцированное ПЭГ увеличение содержания PIP 2;6 через 2, 4 и 6 часов, PIP1;2 в начале обработки ПЭГ и в случае PIP2;1 – через 4 часа после начала воздействия.

Анализ данных о влиянии осмотического стресса на растения кукурузы показывает следующее. Экспрессия генов аквапоринов в корнях и дифференцированной зоне листьев в большинстве случаев резко возрастала при действии ПЭГ при обеих температурах, в то время как содержание соответствующих белков увеличивалось в меньшей степени, а в некоторых случаях не отличалось от контроля или даже снижалось ниже его уровня. В некоторых других экспериментах уровень мРНК аквапоринов не отражал количества транслированного продукта (Suga et al., 2002). В нашем случае мы смогли найти всего несколько примеров пропорциональности изменений уровня транскрипта и продукта его трансляции. Так, в случае PIP2;6 снижение содержания белка в корнях ниже уровня контроля на фоне высокой температуры можно было связать со снижением уровня транскрипта. Еще один пример пропорциональности изменений уровня экспрессии и содержания продукта – повышение уровня экспрессии PIP 2;5 гена и количества его продукта в корнях через 8 часов действия ПЭГ при нормальной температуре и пропорциональное снижение экспрессии гена PIP и его продукта в зоне роста листа при повышенной температуре через 8 часов действия ПЭГ. Но в большинстве других случаях такого соотношения выявить не удавалось. Уровень экспрессии генов во многих случаях возрастал гораздо сильнее, чем содержание кодируемых ими белков, а в некоторых случаях на фоне возрастания количества транскрипта содержание соответствующего белка не менялось или даже снижалось ниже уровня контроля. Различия в изменении уровня транскрипта и продукта его трансляции можно объяснить тем, что концентрация белка зависит от многих факторов, кроме уровня экспрессии гена (скорости трансляции, стабильности белка и т.д.) (Suga et al., 2002). Высказывалось предположение о том, что активные формы кислорода (ROS), которые образуются при многих стрессах (Шакирова, 2001; Blokhina et al., 2003) инициируют цепь реакций с удалением электронов, которые могут привести к деструкции биоактивных молекул, таких как аквапорины (Henzler et al., 2004). Деструкцией аквапоринов при

стрессе можно объяснить то, что их количество только слегка увеличивалось (или не увеличивалось совсем, а даже снижалось) под воздействием ПЭГ, несмотря на огромное увеличение уровня мРНК аквапоринов. Таким образом, повышение уровня транскрипции аквапоринов могло способствовать поддержанию количества водных каналов у растений при действии оксидативного стресса и других деструктивных процессах, вызванных обработкой ПЭГ. Полученные нами результаты напоминают данные Beaudette et al. (2007), которые показали, что экспозиция на HgCl_2 увеличивала экспрессию PIP2;1 аквапоринов, что было, вероятно, необходимо для компенсации блокирования аквапоринов их ингибитором.

Иногда (но не всегда) удавалось связать вызванные ПЭГом изменения в содержании аквапоринов с различным уровнем накопления соответствующих транскриптов. В случае PIP2;1 индуцированное ПЭГ накопление белков в корнях, ярче выраженное на фоне 23^0 C , соответствовало более резкому возрастанию уровня экспрессии соответствующего гена при этой температуре по сравнению с 28^0 C . Однако в случае PIP2;5 различия в уровне ПЭГ-индуцированного накопления белков в корнях, которые проявлялись при разных температурах, нельзя было объяснить различиями по активности транскрипции, поскольку уровень соответствующих транскриптов возрастал в равной степени при обеих температурах. Может показаться, что в зрелой зоне листа больший уровень активации транскрипции генов аквапоринов мог быть причиной повышенного содержания белков аквапоринов, которое проявлялось при высокой температуре. Однако в случае PIP2;1 гена, который, видимо, играл наиболее важную роль в этой зоне, судя по уровню его экспрессии, количество его транскрипта возрастало в равной степени при обеих температурах, в то время как содержание соответствующего белкового продукта было больше при более высокой температуре дифференцированной зоне листа. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что хотя изменения экспрессии играют важную роль в поддержании содержания продукта их трансляции, вклад процессов на посттранскрипционном уровне также велик.

Корни имеют высокое гидравлическое сопротивление, и поэтому считается, что изменение их способности проводить воду является важной точкой контроля (check point) потока воды на уровне целого растения (Meinzer, 2002). Существует много данных, свидетельствующих о вкладе аквапоринов в поглощение воды корнями (Javot et al., 2003) и считается также, что аквапорины играют важную роль, помогая растению поддерживать водный баланс при различных стрессах (Kaldenhoff et al., 2008). В наших экспериментах можно проследить обратную зависимость между степенью снижения транспирации под влиянием ПЭГ и уровнем накопления аквапоринов в корнях растений, которые росли при разных температурных режимах: транспирация снижалась в меньшей степени у растений, которые

росли на фоне более низкой температуры, и именно у этих растений наиболее явно и стабильно повышалось содержание аквапоринов в корнях при действии ПЭГ. Индуцированное ПЭГ накопление аквапоринов, происходившее при более низкой температуре, было лучше всего заметно в случае PIP2;1 и PIP2;5, для которых был характерен высокий уровень экспрессии в корнях, как по результатам нашей работы, так и в соответствии с данными литературы (Nachez et al., 2006). Как указывалось в предыдущих разделах, добавление ПЭГ снижало градиент водного потенциала между средой и листьями, являющегося движущей силой для транспирации, и, следовательно, снижение скорости транспирации - это естественная реакция, направленная на восстановление водного баланса. Тем не менее, сравнение транспирационного ответа на действие ПЭГ с изменением содержания аквапоринов при разных температурных режимах свидетельствует о том, что когда содержание аквапоринов увеличивалось в корнях на фоне низкой температуры, это сопровождалось меньшей степенью ингибирования транспирации. Таким образом, увеличение уровня аквапоринов в корнях способствует поддержанию транспирации у растений на фоне осмотического стресса благодаря снижению сопротивления потоку воды через корни. В наших экспериментах вклад аквапоринов в поддержание потока воды в стрессированных растениях проявлялся в изменении уровня PIP2 в корнях. Изменения в уровне PIP1;2 носили нерегулярный характер. Это соответствует данным литературы о том, что хотя изоформы PIP1 могут функционировать как водные каналы во взаимодействии с PIP2 аквапоринами (Fetter et al., 2004), PIP2 аквапорины непосредственно участвуют в транспорте воды через мембраны (Chaumont et al., 2001).

Увеличение экспрессии генов аквапоринов, выявленное в корнях растений кукурузы при добавлении 100 mM NaCl в питательный раствор, совпадало по времени с накоплением осмотически активных веществ в корнях, что способствовало снижению осмотического потенциала и восстановлению водного гомеостаза (Zhu et al., 2005). Никаких признаков осмотического приспособления не было выявлено в наших экспериментах в корнях растений, обработанных ПЭГ, и их осмотический потенциал оставался на уровне контроля (таблица 3.2.1, стр. 100). В случае обработки NaCl накопление осмотически активных веществ могло быть следствием поглощения Na^+ и Cl^- , что является относительно «дешевым» механизмом осмотического приспособления по сравнению с синтезом органических осмотически активных соединений (Tester and Davenport 2003). Но в наших экспериментах с ПЭГ в распоряжении растений не было никаких «дешевых» осмотиков. Однако в экспериментах, описанных Zhu et al. (2005) осмотический потенциал корней контрольных растений был только около -0.47 МПа, в то время как он был гораздо ниже (около -0.76 МПа) в корнях контрольных растений в наших экспериментах. Следовательно, в корнях

наших растений и без дополнительного накопления осмотиков не должно было быть обратного тока воды из корней при добавлении ПЭГ, при котором осмотически потенциал питательного раствора снижался до $-0,73$ МПа). Таким образом, индуцированное ПЭГ увеличение экспрессии аквапоринов в корнях растений в наших экспериментах не могло способствовать утечке воды из корней в питательный раствор, но зато способствовало поглощению воды корнями за счет градиента, создаваемого «верхним концевым двигателем».

Таким образом, сравнение скорости транспирации и содержания аквапоринов в корнях при разных температурных режимах позволило нам выявить роль корневых аквапоринов из класса PIP2 в поддержании транспирационного потока. Значение изменений уровня аквапоринов в листьях не так очевидно, как в корнях, поскольку в зрелой зоне листа как уровень самих аквапоринов, так и транскрипции их генов увеличивались сильнее при более высокой температуре, при которой транспирационный поток снижался сильнее под влиянием ПЭГ. Jang et al. (2004) сообщали о снижении активности некоторых генов аквапоринов под влиянием засухи в надземной части растений и обратном процессе (повышении активности) в корнях при действии засоления. Они объясняли это противоречие (дифференциальную экспрессию генов) различием в функции этих PIP аквапоринов в побегах и корнях растений. Полученные нами результаты соответствуют данным Morrillon and Chrispeels (2001), которые показали, что снижение скорости транспирации сопровождалось резким возрастанием проницаемости для воды клеток мезофилла благодаря активации аквапоринов. Они считали этот механизм важным для перераспределения воды в растениях. Было показано, что некоторые аквапорины способствуют транспорту CO_2 через мембраны (Kaldenhoff R., Fischer, 2006). Недавно полученные результаты позволяют предполагать, что аквапорины могут участвовать в регуляции фотосинтеза, влияя на транспорт CO_2 в тканях листа к хлоропластам (Kaldehoff et al, 2008). Следовательно, увеличение экспрессии аквапоринов и их содержания, которое мы наблюдали в зрелой части листа у растений, обработанных ПЭГ, может быть важным для поддержания фотосинтеза, активность которого была подавлена из-за снижения проводимости устьиц для углекислого газа. Сверхэкспрессия гена аквапорина HvPIP2;1 ячменя увеличивала внутреннюю проводимость тканей листа для CO_2 и ассимиляцию CO_2 в листьях трансгенных растений риса (Hanba et al., 2004). Эти результаты подтверждают важность PIP2;1 аквапоринов, чья экспрессия в листьях была в наших экспериментах максимальной по сравнению со всеми другими аквапоринами.

Когда 100 mM NaCl добавляли в питательную среду растений ячменя, экспрессия HvPIP1;6 увеличивалась через 10 мин в зоне роста листа, что совпадало с возобновлением роста после его первоначального

прекращения (Fricke et al., 2006). Эти результаты позволили авторам предположить, что экспрессия PIP гена (и соответственно повышение активности водных каналов) могли способствовать поглощению воды и восстановлению роста у растений ячменя при засолении. Как было видно из результатов ростовой ответ растений кукурузы на добавление ПЭГ был таким же. Однако в отличие от результатов, полученных Fricke et al. (2006) в наших экспериментах обработка ПЭГ растений кукурузы в основном не увеличивало экспрессию аквапоринов в зоне роста листьев. При нормальной температуре мы также обнаружили повышение под влиянием ПЭГ содержания в зоне роста листа белка PIP2;6. Как показано ранее осмотическое приспособление может способствовать поддержанию роста листьев, который временно прекращался при осмотическом стрессе, о чем также свидетельствуют данные литературы (Nonami, Boyer, 1990). Следовательно, накопление осмотически активных веществ, которое мы наблюдали в зоне роста листа при действии ПЭГ на растения кукурузы, могло также способствовать поддержанию роста листьев. Третьим фактором, способствующим поддержанию роста листьев кукурузы на фоне осмотического стресса, могло быть повышение растяжимости листьев, что обсуждалось выше. Таким образом, рост листьев кукурузы растяжением при действии ПЭГ мог поддерживаться не только за счет осмотического приспособления и увеличения растяжимости листа, но и за счет гидравлических свойств листа, контролируемых аквапоринами в зоне роста листа.

Таким образом, уровень содержания аквапоринов и экспрессии их генов в корнях, по все видимости, является важным фактором, способствующим поддержанию транспирационного потока в растениях кукурузы при осмотическом стрессе. На первый взгляд это утверждение плохо согласуется с нашими данными о том, что транспирация снижалась при действии ПЭГ, в то время как экспрессия генов аквапоринов и содержание некоторых из кодируемых ими белков увеличивалась (по крайней мере, при более низкой температуре). Однако сравнение ответа растений на воздействие ПЭГ при различных температурных редимах показало, что на фоне накопления аквапоринов транспирация снижалась в меньшей степени при более низкой температуре. Это дает основание предполагать, что повышение активности аквапоринов поддерживает транспирацию у стрессированных растений. Aharon et al. (2003) сообщали, что усиление транспорта через клеточные мембраны может иметь отрицательные последствия при засухе. Однако, растения табака с пониженной экспрессией генов PIP аквапоринов отличались более низкой засухоустойчивостью (Siefritz et al., 2002). Результаты, которые мы получили при более низкой температуре, соответствуют данным Lian et al. (2004), показавшим, что высокий уровень аквапоринов играет положительную роль в избегании засухи у риса благодаря

повышению поглощения воды и поддержанию водного баланса. Arosa et al. (2006) показали, что на фоне засухи у растения снижается проницаемость мембран клеток их корней для воды, что способствует снижению возможных потерь воды из корней в почву. Однако, снижение уровня транскрипции аквапоринов было очевидным только на фоне сильного стресса (Vogeat-Triboulot et al., 2007), когда устьица почти полностью закрывались, а количество доступной воды в почве резко снижалось (Galmes et al., 2007). Это соответствует нашим данным, которые мы получили при действии высокой температуры, когда стресс был более сильным, поскольку к осмотическому стрессу прибавлялась воздушная засуха. По данным литературы дефицит воды неоднозначно влияет на уровень аквапоринов в растениях. Наши результаты свидетельствуют в пользу того, что уровень аквапоринов может увеличиваться, оставаться неизменным или даже снижаться у растений под влиянием дефицита воды в зависимости от интенсивности стресса.

5. ГОРМОНАЛЬНЫЕ И ГИДРАВЛИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И УСТЬИЧНОЙ ПРОВОДИМОСТИ ПРИ ЗАСУХЕ

Гормональные и гидравлические сигналы в регуляции роста и устьичной проводимости у растений томатов при частичной засухе в области корней

В постоянно изменяющихся природных условиях для роста и развития растения необходима интеграция протекающих в побеге и корне процессов, направленных на оптимизацию использования ресурсов или выживание. При воздействии на корень генерируемые в нем сенсорные сигналы должны передаваться в побег и вызывать изменение клеточного метаболизма и/или формирование защитных систем при стрессе (Jackson, 2002; Lafitte et al., 2007). Логично предположить, что при недостатке воды в почве системным сигналом водного дефицита у растений мог бы выступать сигнал гидравлической природы, который способен распространяться по ксилеме с огромной скоростью (Malone, 1993) и координировать физиологические ответы растения (Jackson, 2002). Результаты экспериментов, подпитывающие это предположение, стабильно появляются в печати. В подобных экспериментах падение тургора в клетках побега происходило быстрее, чем изменение содержания АБК в корне (Холодова и др., 2006), в ксилемном соке и/или в побеге (Christmann et al., 2007). Но практически во всех случаях даже после падения тургора клеток листа в ответ на водный дефицит корней устьица закрывались только после накопления в листьях АБК. Некоторые опыты с привоем и подвоем дефицитных по АБК и диких растений арабидопсиса поставили под сомнение необходимость именно корневой АБК для регуляции роста и газообмена (Holbrook et al., 2002). Нет сомнений, что участие АБК необходимо для закрытия устьиц при водном дефиците, но обязательно ли гормон должен быть доставлен из корней при корневом стрессе не всегда очевидно. Хотя казалось, что 20 лет назад опыты с расщепленной на две пряди корневой системой растения доказали ключевую роль АБК в химическом сигналинге между корнями и побегами при почвенной засухе (Zhang, Davies, 1990). В. Loveys (Loveys, During, 1984) и А. Wartinger (Wartinger et al., 1990) впервые показали корреляцию между концентрацией АБК в ксилемном соке и устьичной проводимостью в полевых условиях. В настоящее время проанализировано более 60 публикаций по этому вопросу (Heilmeyer et al., 2007) и показано, что реакция устьиц в большей степени коррелирует с содержанием АБК в ксилемном соке, чем с общей листовой АБК, подтверждая этим ее роль в

дистанционном сигналинге. В роли корневого сигнала может выступать не только свободная АБК, но и ее конъюгаты, повышенное содержание которых было обнаружено в ксилемном соке при разных стрессах (Sauter, Hartung, 2000).

Что касается роли цитокининов в передаче сигналов из корня, то по данному вопросу до сих пор дискуссий и сомнений значительно больше. Несмотря на довольно долгую историю изучения цитокининов, их причастность к дистанционному сигналингу между побегом и корнем все еще остается под сомнением (Jackson, 1993), хотя именно цитокинины стали первыми кандидатами на роль корневых сигналов. Это предположение вытекало из экспериментов с нарушением ксилемного транспорта, которое приводило к возникновению в побеге симптомов, предотвращаемых обработкой листьев цитокинином (Кулаева, 1962). Исходя из этого, О.Н. Кулаева предположила, что цитокинины синтезируются в корнях, транспортируются в побеги с ксилемным потоком и влияют на процессы, протекающие в побеге. В литературе часто высказывались предположения, что снижение экспорта цитокининов из корней может выступать в качестве сигнала о неблагоприятных изменениях в корнеобитаемой среде растения, что важно для адаптации побега в новых условиях (Кулаева, 1962; Aloni et al., 2005; Hirose et al., 2008; Kudo et al., 2010). Однако аргументом против этих взглядов стало открытие способности побега к синтезу цитокининов (Miyawaki et al., 2004). Это открытие подтверждало уже высказанное ранее сомнение о том, что цитокинины могут выступать в качестве корневого сигнала. Было обнаружено, что содержание цитокининов в побегах без корней *Solanum andigena* не снижалось (вплоть до 30 дней) пока продолжался апикальный рост. В другой работе было показано, что прививка побега дикого табака на корень трансгенного с повышенной экспрессией гена изопентенилтрансферазы, ответственного за синтез цитокининов, не дала ожидаемого результата характерного для цитокинина – формирования латеральных побегов (Faiss et al., 1997). Этот факт был расценен как доказательство «паракринного» действия цитокининов, которое предполагает работу гормона в том органе, где он был синтезирован. Подобные взгляды получили довольно широкое распространение (Riefler et al., 2006; Kurakawa et al., 2007), несмотря на то, что были получены доказательства того, что цитокинины участвуют в корневом нитратном сигналинге (Takei et al., 2001; Sakakibara et al., 2007). Было высказано предположение, что транспорт цитокининов из корней может быть важным в том случае, когда растение характеризуется низким уровнем гормонов, например, как в случае нитратного голодания. Таким образом, вопрос о роли цитокининов, поступающих из корней, все еще остается

открытым. Анализ цитируемых нами работ позволяет заметить, что авторы чаще анализировали влияние цитокининов на такие медленно реализуемые процессы как рост и апикальное доминирование. В литературе почти нет данных о том, как изменение транспорта цитокининов из корней может сказаться на таких процессах как движение устьичных клеток, транспирация, содержание цитокининов в побеге, которые могут очень быстро изменяться и имеют существенное значение для адаптации растений к условиям внешней среды.

При неблагоприятных условиях растущие корни могут оказаться в сухих слоях почвы и генерировать химические сигналы (Chaves et al., 2010), которые могут изменить физиологические процессы в побеге еще до изменений водных отношений растения (в обзорах: Davies, Zhang, 1991; Dodd, 2005). В то же время при некоторых воздействиях на корень в побег может передаваться гидравлический сигнал (Cochard et al., 2002), приводящий к изменению показателей водного обмена (водный потенциал, тургор, гидравлическая проводимость, содержание воды и т. д.), регистрируемый еще до изменения гормонального баланса. Изучение механизмов, приводящих к генерированию корневых сигналов разной природы (гидравлических и химических) при локальных воздействиях на корни, а также их взаимодействие в регуляции протекающих в побеге процессов является целью данного исследования. Для этого мы выбрали воздействия, которые моделируют разные условия возникновения и передачи корневых сигналов. Так, дефицит минерального питания приводит к медленному развитию симптомов дефицита воды, в то время как удаление части корней вызывает быстрое сокращение притока воды в побег. В то же время оба подхода позволяют изучать проявления субстратного регулирования. Использование трансгенных растений табака для стимуляции сверхпродукции цитокининов в корнях дает возможность в какой-то мере ответить на вопрос об участии их в передаче сигнала из корней. И, наконец, мы использовали уже хорошо известный метод с частичной корневой засухой (Blackman, Davies, 1985), который позволил выявить доминирующую роль корневой АБК в передаче сигнала в побег (Zhang, Davies, 1990), поставив под сомнение роль цитокининов и гидравлических сигналов.

Рассмотрим в данном разделе результаты экспериментов с растениями, у которых корневая система распределена между двумя отсеками сосуда с почвой (Gowing et al., 1990; Sobeih et al., 2004). При такой экспериментальной технике в контроле воду вносят в оба отсека (well-watered control - WW), а в опыте - в один (partial rootzone drying - PRD), моделируя частичную корневую засуху. По данным литературы, частичный полив приводил к закрытию устьиц и ингибированию роста

листа даже в тех случаях, когда PRD-растения поддерживали водный потенциал на уровне контрольных растений. Еще одно доказательство того, что корни растений с расщепленной корневой системой могут контролировать поведение побега, было получено в экспериментах, которые показали, что отрезание корней, растущих в отсеке с не поливаемой почвой, приводит к восстановлению роста и открытию устьиц семян яблони (*Malus domestica*; Gowing et al., 1990). Очевидно, что удаление корней не делает воду более доступной для растения, но, вероятно, предотвращает поступление химического сигнала (АБК) из корня засушливой зоны.

Что касается цитокининов, то было также показано, что снижение доставки цитокининов в побег - это важный сигнал из корня в побег о почвенной засухе (Davies et al., 1986). В то же время существует относительно немного сообщений о роли изменений концентрации цитокининов в ксилемном соке или их доставки в регуляции физиологии побега растения при почвенной засухе (Bano et al., 1993; Shashidar et al., 1996; Hansen, Dorffling, 2003). Одной из причин немногочисленности подобных данных является одновременное присутствие в растении множества разных форм гормона (Incoll, Jewer, 1987), которое требует большее количество ксилемного сока для анализа цитокининов по сравнению с АБК (Bano et al., 1993). Но не менее важно и то, что АБК-ответ является более быстрым и более чувствительным к почвенной засухе. Средняя почвенная засуха (снижение водного потенциала почвы ($\Psi_{\text{почвы}}$) от -0,3 до -0,6 МПа) у растений подсолнечника (*Helianthus annuus*) трехкратно повышала концентрацию АБК в корневом ксилемном соке, не изменяя концентрацию зеатинрибозида. Наблюдаемое при этом снижение скорости транспирации растения, преимущественно опосредованное повышением ксилемной АБК, снижало доставку зеатинрибозида в побег. Более суровая почвенная засуха ($\Psi_{\text{почвы}}$ от -1,2 МПа) вызывала снижение концентрации зеатинрибозида в ксилемном соке на 85% (Shashidhar et al., 1996). Аналогичные эксперименты с растениями подсолнечника предполагают, что цитокинины (также как и АБК) могут быть чувствительными к почвенной засухе. Так, концентрация зеатинрибозида в ксилеме снижалась экспоненциально по мере снижения водного потенциала тканей гипокотыля от -0,1 до -0,3 МПа (Hansen, Dorffling, 2003). Поэтому проблема изучения ксилемной АБК и ЦК при почвенной засухе других видов растений остается актуальной.

Одна из трудностей в демонстрации роли корневых цитокининов в регуляции процессов в побеге состоит в том, что изменения содержания цитокининов в корневом ксилемном экссудате не обязательно приводят к изменению уровня цитокининов в листьях.

Например, ветвящиеся мутанты гороха *ramosus (rms)* (*Pisum sativum* L.) имеют повышенное (*rms2*) и пониженное (*rms4*) содержание цитокининов в ксилеме по сравнению с растениями дикого типа, при этом все линии поддерживают сходное содержание цитокининов в листе (Dodd et al., 2004). Аналогично корневая гипоксия существенно снижала концентрацию ксилемных цитокининов у бобов (*Phaseolus vulgaris*) и гибрида тополя (*Populus trichocarpa* x *deltoides*), но не влияла на концентрацию цитокининов в листьях (Neuman et al., 1990). Отсутствие корреляции между изменениями содержания цитокининов в ксилеме и в листьях свидетельствует о сложном взаимодействии между транспортом и метаболизмом гормона в клетках тканей вдоль транспортных путей растения (Burkle et al., 2003).

В некоторых исследованиях измеряли содержание цитокининов в ксилемном соке из корней растений, росших на засушливой почве, без параллельного определения цитокининов в листьях (Bano et al., 1993; Shashidar et al., 1996; Hansen, Dorffling, 2003). Наша цель состояла в том, чтобы измерить концентрацию цитокининов как в листьях, так и в ксилемном соке, собранном из листьев растений, росших при почвенной засухе, используя растения томатов, у которых можно собрать достаточное количество ксилемного сока для анализа гормонов из срезанных и помещенных в камеру давления (Scholander-type pressure chamber) листьев. Этот метод сбора пасоки общепризнан для изучения сигналинга корень-побег (Sobeih et al., 2004), приемлем для использования в полевых условиях (Dodd et al., 1996) и дает возможность реально оценить концентрацию компонентов в ксилемном соке вдоль транспирационного потока (Borel, Simmoneau, 2002). Для исследований нами были выбраны зеатин и его производные, так как они представляют основные транспортируемые формы цитокининов в томатах (Davey, van Staden, 1976).

Воздействие частичной корневой засухи на растения томатов позволяло минимизировать на практике дефицит воды в листьях при выращивании растений в условиях почвенной засухи. Наблюдения проводили в течение пяти дней (рис. 58).

Было обнаружено, что среднее минимальное содержание воды в почве в горшках растений с полным поливом составляло 0,37 г/г почвы, которое соответствует -0,05 МПа, в то время как для PRD-растений - 0,25 г/г, которое соответствует -0,4 МПа.

Снижение содержания воды повышало концентрацию АБК в ксилемном соке более чем в два раза и снижало водный потенциал листа в среднем на 0,08 МПа (табл. 21). Эвапотранспирация растений с расщепленной корневой системой (PRD-растения), которые получали половину объема расходуемой на транспирацию воды (50%-ная

эвапотранспирация), оставалась стабильной на протяжении всего опыта, в то время как у растений, которые поливали с полной компенсацией транспирационных потерь (100%-ная эвапотранспирация), этот показатель изменялся (рис. 58).

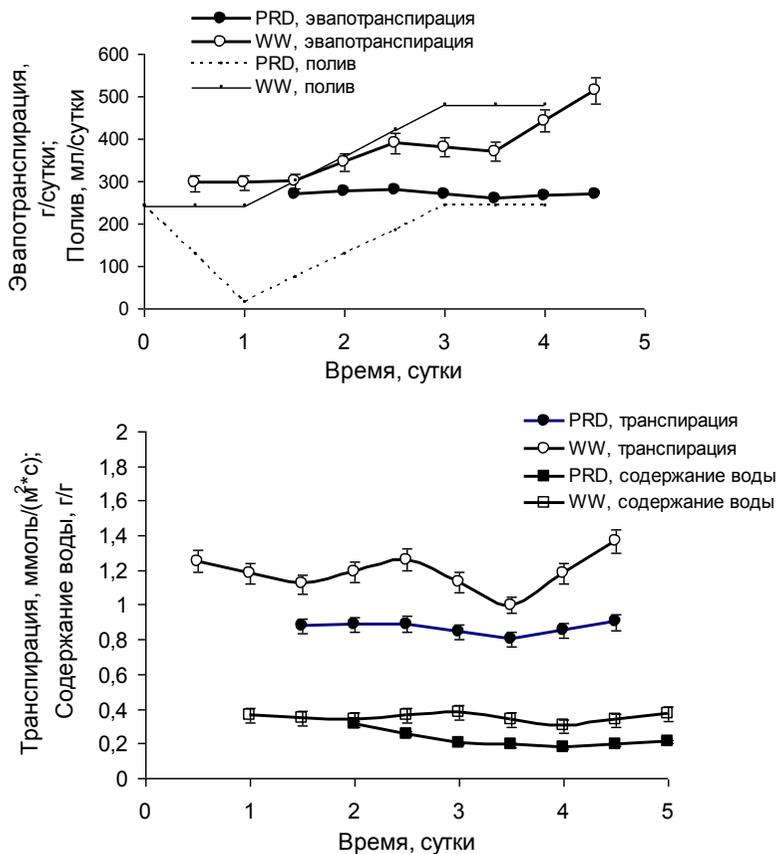


Рис. 58. Эвапотранспирация, полив, скорость транспирации, минимальное содержание воды в почве после перевода растений томата на частичную корневую засуху - PRD (полив одной корневой пряди объемом воды равным 50% от транспирационных потерь контроля). В качестве контроля (WW-растения) служили растения, у которых обе пряди корней поливали с полной компенсацией транспирационных потерь; n=10

Таблица 21

Водный потенциал листа ($\psi_{\text{лист}}$), устьичная проводимость (g_s) и концентрация АБК в ксилемном соке при частичной засухе (PRD, полив одной корневой пряди объемом воды равным 50% от транспирационных потерь контроля). В качестве контроля (WW-растения) служили растения, у которых обе пряди корней поливали до полной компенсации транспирационных потерь; $n=8$, t -тест Стьюдента

Продолжительность засухи и показатели	PRD-растения	WW-растения	P-значения
2 суток			
АБК ксилемы, нМ	109±20	75±11	0,17
$\psi_{\text{лист}}$, МПа	-0,59±0,03	-0,55±0,03	0,37
g_s , ммоль/(м ² ·с)	219±22	212±34	0,86
4 суток			
АБК ксилемы, нМ	222±20	101±21	0,005
$\psi_{\text{лист}}$, МПа	-0,58±0,02	-0,54±0,03	0,081
g_s , ммоль/(м ² ·с)	118±27	157±25	0,31

В среднем показатель транспирации снижался на 22%. Несмотря на то, что засуха части корней снижала скорость транспирации целого растения, не было отмечено достоверных изменений устьичной проводимости, хотя и была выражена тенденция к снижению (табл. 21). Последнее возможно из-за проведения измерений устьичной проводимости в течение короткого промежутка времени после очередного полива растений.

Хотя частичная засуха в корневой зоне не вызывала у растений томата больших изменений водного потенциала листа (не более 0,1 МПа) (рис. 59) и не индуцировала изменений суммарной концентрации производных зеатина в ксилемном соке (рис. 60), концентрация цитокининов в листьях PRD – растений снизилась на 46% (рис. 60 и 62), а площадь листьев на 16 % (рис. 60).

По данным литературы, более суровая почвенная засуха (снижение водного потенциала на 1 МПа) приводила к снижению концентрации цитокининов в листьях alfalfa (*Medicago sativa*) на 40%. Концентрация цитокининов в верхушке побега и аксиллярной почке PRD – растений винограда (*Vitis vinifera*) снижалась на 49% и 26% соответственно по сравнению с контрольными растениями (WW plants), хотя оба варианта демонстрировали сходный водный потенциал листа. У растений подсолнечника в условиях частичной засухи в корневой зоне также не было изменений водного потенциала листа и концентрация в ксилемном соке из корня зеатинрибозид и дигидрозеатинрибозид была

близка к контролю (Masia et al., 1994). Таким образом, можно предположить, что средняя почвенная засуха ($\psi_{\text{лист}} < 0,1 \text{ МПа}$) может влиять на цитокининовый статус побега, хотя содержание гормона в киселемном соке может не изменяться.

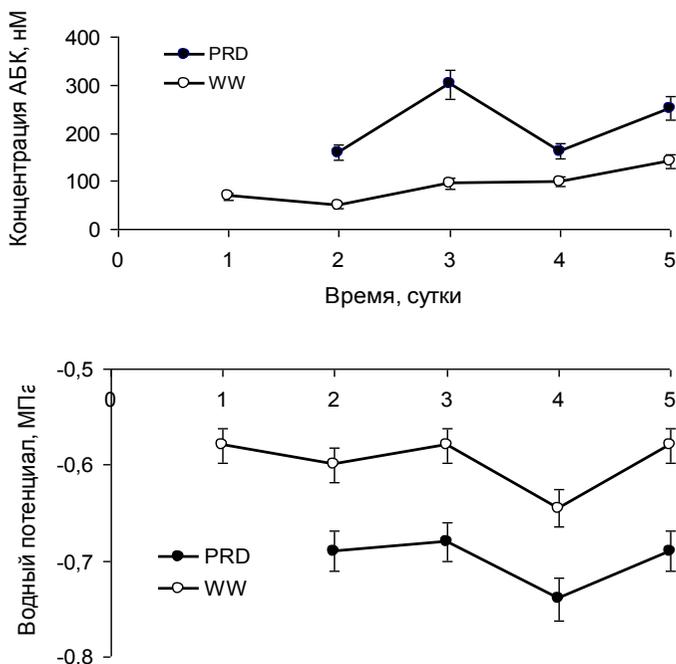


Рис. 59. Концентрация АБК в киселемне и водный потенциал листа после перевода растений томата на частичную корневую засуху PRD (полив одной корневой пряди объемом воды равным 50% от транспирационных потерь WW). В качестве контроля (WW) служили растения, у которых обе пряди корней поливали до полной компенсации транспирационных потерь; n=10

Современные генетические исследования подтвердили классические предположения, вытекающие из исследований физиологов: вовлечение цитокининов в широкий ряд разнообразных процессов, включая не только деление клеток и рост, но и реакцию растений на свет, функционирование и дифференциацию хлоропластов, метаболизм и мобилизацию питательных элементов, старение листа и

донорно-акцепторные отношения (Mok, Mok, 2001; Киселева и др., 2002; Higuchi et al., 2004; Kiba et al., 2005; Zubo et al., 2008). Если, обнаруженное нами 46%-ое уменьшение в содержании ЦК, происходит в растении, то возможны значительные изменения в его росте и развитии.

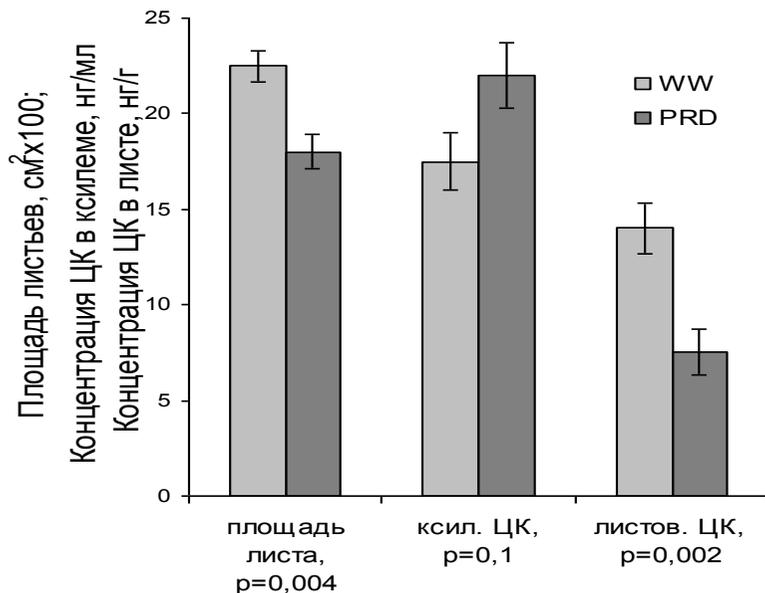


Рис. 60. Общая площадь листьев (n=20), концентрация ЦК зеатинового типа в ксилемном соке 6-го и 8-го листьев (ксил. ЦК, n=9) и концентрация производных зеатина 9-го листа (листов. ЦК, n=9) растений томата, усредненные по результатам измерения через 2, 4 и 5 суток после перевода растений на частичную корневую засуху (PRD, полив одной корневой пряди объемом воды равным 50% от транспирационных потерь контроля). В качестве контроля (WW-растения) служили растения, у которых обе пряди корней поливали с полной компенсацией транспирационных потерь

Пониманию физиологического эффекта сниженного ЦК статуса помогло создание трансгенных растений со сверхэкспрессией цитокининоксидазы (ЦКО). Концентрация цитокининов у таких растений составляла 30-45 % от уровня нетрансформированных растений (Werner et al., 2001, 2003, 2010). Трансгенные растения характеризовались замедленным развитием побега и относительно более сильным развитием корня. Поскольку аналогичные изменения роста и развития характерны для растений засушливых условий, в том числе и

томатов, произрастающих в условиях частичной засухи в корневой зоне (Mingo et al., 2004; Sobeih et al., 2004), то, возможно, именно снижение содержания цитокининового статуса может быть отчасти ответственным за физиологические изменения, вызванные почвенной засухой. В наших экспериментах сниженное содержание цитокининов в побеге PRD-растений могло быть причиной наблюдаемого нами уменьшения скорости роста листьев (рис. 60) и может иметь отношение к регуляции транспирации (рис. 58), поэтому нам было важно выявить механизмы, вызывающие это снижение. Совершенно очевидно, что цитокининовый статус листа зависит от баланса между поступлением гормона (доставка цитокининов по ксилеме и синтез в самом листе) и его расходом (метаболизм и экспорт по флоэме). Если допустить, что приток цитокининов в листья PRD-растений снижается пропорционально транспирации (Jackson, 1993), то содержание цитокининов в листьях должно было снизиться на 22% (рис. 58). Но мы видим, что реально содержание ЦК в листьях снизилось на 46% (рис. 60). Следовательно, концентрация гормона снижалась не пропорционально скорости его доставки, что позволяет предположить наличие других механизмов регуляции концентрации ЦК, кроме снижения их доставки из корня. Долгое время считали именно корень основным гормонсинтезирующим органом (Aloni et al., 2005), но в настоящее время показана экспрессия *ipt*-гена в тканях побега (Takei et al., 2004), что доказывает возможность синтеза цитокининов и в листьях.

Моделирование ксилемных и флоэмных потоков цитокининов и общих метаболических превращений в растениях ячменя также говорят в пользу синтеза гормона в листьях (Jiang et al., 2005). Однако синтез ЦК в завершивших рост листьях незначителен, в то время как скорость синтеза высока в молодых развивающихся листьях (Nordstrom et al., 2004). И как альтернатива, предполагается, что изменения метаболизма цитокининов, возможно, приводит к снижению цитокининового статуса листа. Несмотря на то, что активность цитокиноксидазы в растениях кукурузы, подвергнутых водному стрессу, так и не была измерена напрямую, накопление транскриптов ЦКО увеличивалось в ответ и на водный дефицит, и на экзогенную АБК (Brugiere et al., 2003). Более того, несколько ферментов ЦКО были охарактеризованы и показана их внеклеточная локализация (Werner et al., 2003). Так как активность этого фермента лежит в пределах pH 6.5–8.5 (Motyka et al., 1996), защелачивание ксилемного сока томата и апопласта листа, вызванное почвенной засухой (Wilkinson et al., 1998; Sobeih et al., 2004), предположительно, активирует метаболизм цитокининов. Возможен также метаболизм гормона в клетках ксилемной паренхимы (Brugiere et al., 2003), что также может снижать доставку цитокининов в побег и,

соответственно, снижать содержание ЦК в листьях. Субстратом для ЦКО являются и зеатин, и зеатинрибозид (Jones, Schreiber, 1997), в то время как нуклеотид зеатина более устойчив к ферменту. Наши данные согласуются с этим утверждением о разной чувствительности производных зеатина к окислению. Так, на второй день частичной засухи в зоне корня PRD-растений концентрация зеатина в ксилемном соке несколько уменьшалась (до 88% от контроля), в то время как концентрация его нуклеотида повышалась до 215% содержания у растений с полным поливом (рис. 61).

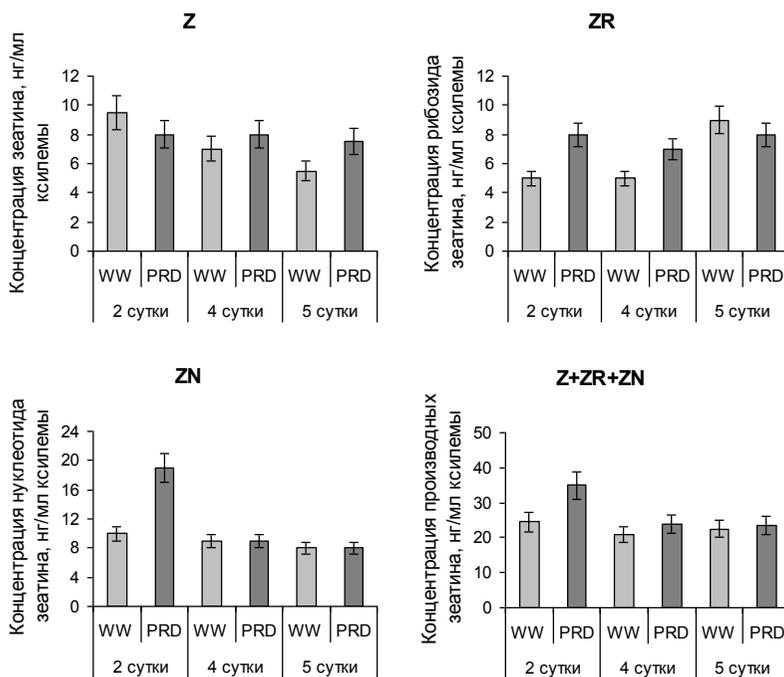


Рис. 61. Динамика концентрации производных зеатина (Z, ZR, ZN) и их суммы в ксилемном соке, собранном из 6 и 8 листьев после перевода растений томата на частичную корневую засуху (PRD, полив одной корневой пряди объемом воды равным 50% от транспирационных потерь WW-растений) В качестве контроля (WW-растения) служили растения, у которых обе пряди корней поливали с полной компенсацией транспирационных потерь; n=8

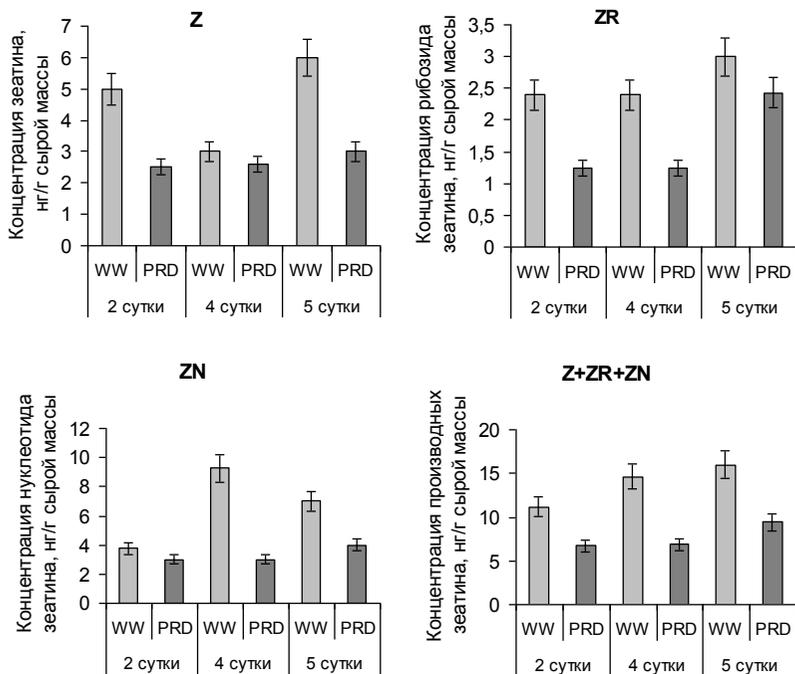


Рис. 62. Динамика концентрации производных зеатина (Z, ZR и ZN) девятого листа растений томата после перевода растений томата на частичную корневую засуху (PRD, полив одной корневой пряди объемом воды равным 50% от транспирационных потерь контроля). В качестве контроля (WW-растения) служили растения, у которых обе пряди корней поливали с полной компенсацией транспирационных потерь; n=9

В последующие дни эксперимента никаких различий не было обнаружено в пропорциях различных цитокининов зеатинового типа в киселемном соке PRD-растений и контрольных. Этот факт можно объяснить повышением активности ЦКО. Независимо от того, какова причина снижения концентрации цитокининов в листьях PRD-растений, содержание цитокининов в киселеме было сходным и у растений с частичной корневой засухой, и у контрольных (рис. 62). Пока не ясно, что более значимо для регуляции цитокининзависимых процессов: содержание цитокининов в киселемном экссудате или в листе. В исследованиях последнего десятилетия была показана последовательность событий, ведущих от восприятия ЦК-сигналов к

широкому спектру ЦК-ответов (D'Agostino, Kieber, 1990; Kiba et al., 2005). Поскольку ЦК связываются с локализованной в плазмолемме гистидинкиназой, выполняющей роль рецептора ЦК, один из доменов которой расположен снаружи клетки в апопласте (D'Agostino, Kieber, 1999), содержание цитокининов в ксилеме может быть наиболее важным. А поскольку у растений томата концентрация цитокининов в ксилемном соке была сходной как у растений с частичной корневой засухой, так и у контрольных, это могло способствовать поддержанию ростовых и других ЦК-зависимых процессов.

Так как было показано, что ЦК способствуют открытию устьиц в эпидермальных стрипах, возможно ЦК могут влиять на газообмен листа. Однако изменения водного потенциала листа и содержания АБК в ксилеме также могут быть важными для растений. Снижение водного потенциала листа PRD-растений (рис 61) ставит вопрос о том, не регулирует ли сам водный потенциал устьичную проводимость через сигнал обратной связи, благодаря чувствительности листа к небольшим изменениям водного потенциала, в результате чего уменьшается интенсивность транспирации, поддерживая гомеостаз водного потенциала (Comstock, 2002). Кажется маловероятным, что в наших экспериментах водный потенциал листа томата регулирует устьичную проводимость (g_s), так как высокая устьичная проводимость сопровождается низким водным потенциалом (рис. 73а), доказывая, что устьичная проводимость контролирует водный потенциал, а не наоборот. Далее в наших экспериментах через четверо суток произрастания растений в условиях частичной засухи в зоне корня (PRD) эта связь отсутствует (рис. 63б), но высокая устьичная проводимость g_s коррелирует с низким содержанием АБК в ксилемном соке (рис. 63г), что согласуется с известными литературными данными (Zhang, Davies, 1989; Dodd, 2005), которые говорят в пользу того, что ксилемная АБК регулирует устьичную проводимость. В этой связи, может быть подвергнуто сомнению влияние ксилемных ЦК на устьичную проводимость. Принимая во внимание, что замыкающие клетки чувствительны к изменению концентрации ЦК, а не к их доставке, отсутствие изменений концентрации цитокининов в ксилеме PRD-растений (рис. 61) свидетельствует против регуляторной роли корневых ЦК. Ксилемная концентрация гормона будет зависеть от загрузки ксилемы в корне и/или побегах и уменьшаться с увеличением скорости ксилемного потока (Dodd et al., 2004). Предполагая, что эти два процесса независимы, а загрузка цитокининов остается неизменной в период ранней стадии почвенной засухи, первоначальное снижение транспирации на второй день должно привести к повышению концентрации цитокининов в ксилеме.

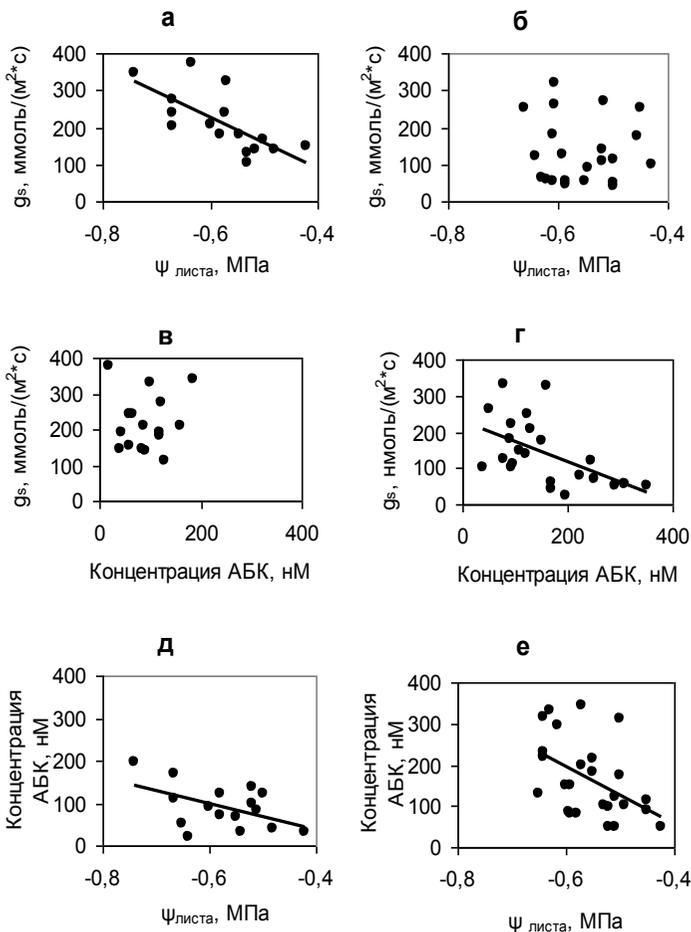


Рис. 63. Корреляция между устьичной проводимостью (g_s), водным потенциалом ($\Psi_{\text{листа}}$) листа (а, б) и концентрацией ксилемной АБК (в, г), а также между концентрацией АБК в ксилемном экссудате и водным потенциалом листа через двое (а, в, д) и четверо (б, г, е) суток после перевода растений томата на частичную корневую засуху (PRD, полив одной корневой пряди объемом воды равным 50% от транспирационных потерь контроля). В качестве контроля (WW-растения) служили растения, у которых обе пряди корней поливали с полной компенсацией транспирационных потерь. На рисунках представлены данные парных измерений для PRD- и WW-растений и проведена линейная регрессия ($P < 0,05$)

Это действительно может подтверждаться наблюдаемым нами повышением содержания ЦК (в 1,4 раза) в ксилеме PRD-растений по сравнению с контролем на 2-ой день эксперимента (рис. 61). То, что растения с частичной корневой засухой и с полным поливом поддерживают сходный уровень цитокининов на 4 и 5 день эксперимента (рис. 61), несмотря на снижение скорости транспирации, позволяет предположить, что загрузка цитокининов в ксилему также снизилась пропорционально снижению ксилемного потока, указывая на то, что цитокининовый сигналинг из корня в побег во время почвенной засухи может регулироваться на уровне загрузки гормона в корне.

Таким образом, у растений томатов при частичной засухе в области корней формировался корневой АБК – сигналинг, регулирующий устьичную проводимость листьев. Содержание ЦК в ксилеме существенно не менялось, но значительно снижалось в побеге растений, что также могло иметь отношение к регуляции устьичной проводимости листьев при засухе. Снижение содержания этого гормона в побеге предположительно может быть обусловлено повышением активности цитокиноксидазы, а неизменный приток цитокининов из корней на фоне снижения транспирации растений говорит в пользу регуляции загрузки ЦК в самом корне. В этих экспериментах мы видим лишь косвенное доказательство того, что цитокинины могут выступать в роли корневого сигнала и регулировать протекающие в побеге процессы. В поисках более прямых доказательств цитокининового корневого сигналинга мы использовали для исследований *ipt*-трансгенные растения табака, у которых можно локально вызвать активацию синтеза гормона. Данные представлены в следующем разделе. Что касается гидравлических сигналов, то в данной серии экспериментов было показано, что при частичной почвенной засухе в области корней, вызывающей лишь небольшое изменение водного потенциала листа, устьичная проводимость, регуляция которой осуществлялась в первую очередь на уровне корневой АБК, влияла на водный потенциал, а не наоборот. Вместе с тем, как небольшие изменения водного потенциала листа, так и концентрации АБК в ксилемном соке могли быть теми сигналами, которые запускали процессы, направленные на снижение содержания цитокининов в побеге. На такую возможность указывали некоторые публикации (Brugiere et al., 2003), и она была проверена при выполнении работы, представленной в следующих разделах.

Сигнальная роль корневых цитокининов в регуляции устьичной проводимости у *ipt*-трансгенных растений табака в условиях локального действия температуры

Реакция растений табака на локальное нагревание корня

Интеграция в растительный геном *ipt*-гена бактерий, кодирующего фермент, катализирующий синтез цитокининов, дала широкие возможности для получения трансгенных растений, в которых экспрессия этого гена может индуцироваться различными промоторами, и изучения роли цитокининов в регуляции различных процессов, и, в частности, в регуляции устьичной проводимости. Попытка использовать для этой цели растения *ipt*-трансгенного табака с тепловым промотором (Теплова и др., 2000) позволила еще раз подтвердить связь между уровнем содержания цитокининов в побегах и транспирацией. Вместе с тем, ни данные о влиянии экзогенных цитокининов на транспирацию, ни результаты сравнения динамики транспирации и содержания цитокининов у растений при различных воздействиях не дали однозначного ответа о характере влияния данных гормонов на устьичную проводимость (Incoll et al., 1990; Mansfield et al., 1990). Противоречивость данных литературы послужила основанием для утверждения Т. Mansfield (Mansfield et al., 1990) о том, что роль цитокининов (в отличие от АБК) в регуляции устьичной проводимости все еще нуждается в дальнейшем экспериментальном подтверждении.

В наших опытах были использованы растения *ipt*-трансгенного табака с тепловым промотором (*Nicotiana tabacum* L., cv. Petit Havana, *HSIPT*) для того, чтобы понять, как изменяться процессы в побеге после локальной индукции синтеза цитокининов в корнях. Мы предположили, что локальное нагревание корней, приводящее к активации *ipt*-гена, должно в первую очередь вызывать накопление цитокининов в корнях. В дальнейшем гормон с транспирационным потоком может поступать в побег. Следовательно, сопоставление результатов измерения содержания гормона в разных органах трансгенных и нетрансформированных растений в обычных условиях и при воздействии температурного шока может дать информацию не только об участии цитокининов в регуляции устьичной проводимости, но и о сигнальной роли корневых цитокининов.

Исходя из поставленной задачи, которая состояла в том, чтобы определить роль корневых цитокининов в регуляции устьичной проводимости, мы ежедневно в одно и то же время в течение нескольких часов после теплового шока измеряли транспирацию. Данные литературы говорят о том, что само повышение температуры

окружающей среды также может вызвать увеличение устьичной проводимости (Теплова и др., 2000), поэтому в качестве контроля во всех экспериментах параллельно с трансгенными растениями анализировали нетрансформированные растения табака (*Nicotiana tabacum* L., cv. Petit Havana SR- 1).

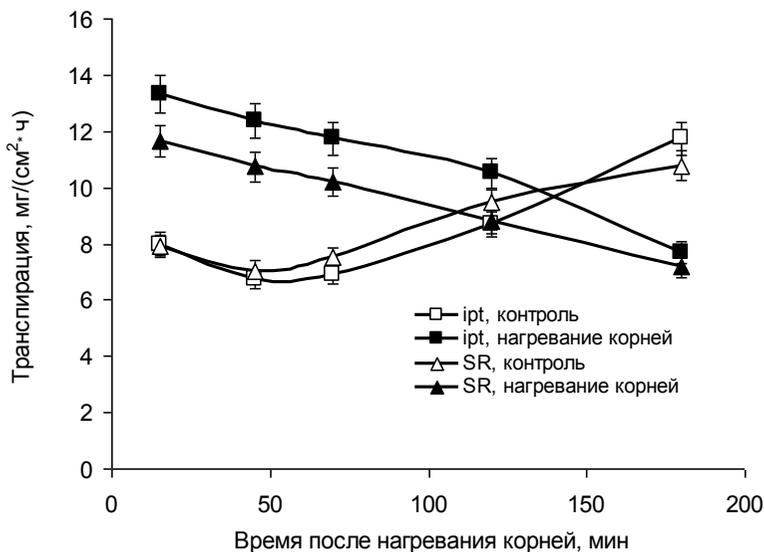


Рис. 64. Динамика скорости транспирации нетрансформированных *Nicotiana tabacum* L., cv. Petit Havana SR- 1(SR) и трансгенных *Nicotiana tabacum* L., cv. Petit Havana, HSIPT (ipt) растений табака после локального нагревания корней при 40 °С в течение 1 ч. На рисунке представлены средние значения и их ошибки; n=5

Воздействие теплового шока на растения табака в области корней вызывало быстрое повышение скорости транспирации (рис. 64). При этом более выраженное увеличение скорости потери воды наблюдали у трансгенных растений табака по сравнению с нетрансформированными. После возвращения растений в исходные условия (условия контроля) транспирация начинала снижаться у растений, подвергавшихся нагреванию корней, в то время как у контрольных растений (не подвергались тепловому воздействию) транспирация со временем несколько повышалась. Это позволяет нам с уверенностью сказать, что именно тепловой шок индуцировал изменения поведения устьиц. Через два часа после теплового шока

скорость потери воды у всех растений была примерно одинаковой за исключением все еще повышенного уровня транспирации у трансгенных растений. И, наконец, к третьему часу после воздействия уровень транспирации у растений, корни которых нагревали, был ниже, чем у контрольных растений.

Таким образом, тепловой шок в области корней индуцировал быстрое открытие устьиц у растений табака, и в большей степени - у *ipt*-растений. По данным литературы (Теплова и др., 2000), повышение температуры воздуха до 40 °С также вызывало увеличение скорости транспирации и у трансгенных, и у нетрансформированных растений табака, которое первоначально могло быть связано со снижением относительного содержания воды в воздухе. Однако в нашем опыте температура воздуха изменялась незначительно, и лишь в области нижнего листа растений, корни которых подвергались воздействию теплового шока, она повышалась не более чем на 2 °С.

Далее нам следовало проследить, каким образом изменялась устьичная проводимость листьев у растений через час после локального теплового воздействия на корни, для того чтобы связать транспирационные потери с размером устьиц. Из рисунка 65 хорошо видно, что у растений табака устьичная проводимость возрастала последовательно от нижних листьев к более молодым верхним. Первый и второй лист имели признаки старения и очень низкую устьичную проводимость, которую трудно было измерить.

Нагревание корней в течение 40 мин при температуре 40 °С повышало устьичную проводимость практически всех листьев растений табака обеих групп (*ipt*- и *SR*- растений), при этом наиболее яркие достоверные различия были характерны для верхних листьев. Следует также отметить, что в большей мере устьичная проводимость активировалась у трансформированных *ipt*- растений. Это соответствовало нашим данным по скорости транспирации (рис. 64): у трансгенных растений она также была выше. Что же послужило стимулом для увеличения устьичной проводимости вслед за температурным шоком и что стало причиной закрытия устьиц в последующие часы эксперимента?

Хорошо известно, что интенсивность транспирации зависит как от внешних, так и от внутренних факторов. Всякое значимое для растения уменьшение оводненности листьев уменьшает их транспирацию. Целый ряд стрессоров различной природы, в том числе и высокая температура, вызывает в растении возникновение водного дефицита, направленного на понижение внутриклеточного водного потенциала, что в свою очередь снижает скорость транспирации (Comstock et al., 2002). Однако в нашем эксперименте температурного воздействия на листья не было, но само повышение устьичной

проводимости, индуцированное нагреванием корней, привело к увеличению потери воды растениями (рис. 64 и рис. 65) и могло сказаться на ее содержании в листьях и их водном потенциале.

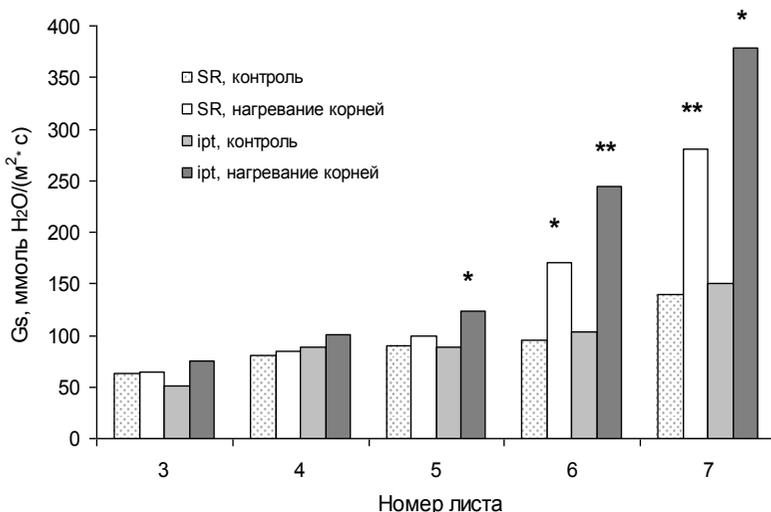


Рис. 65. Устьичная проводимость (Gs) листьев нетрансформированных *Nicotiana tabacum* L., cv. Petit Havana SR-1 (SR) и трансгенных *Nicotiana tabacum* L., cv. Petit Havana, HSIPT (ipt) растений табака через 1 ч после локального нагревания корней при 40 °С в течение 1 ч. Статистически значимые различия значений для листьев одного яруса (нумерация от основания побега) между нагреванием и контролем обозначены: * - P<0,05, ** - P<0,01, t-test

Наиболее близкий к водному потенциалу показатель - это относительное содержание воды (ОСВ) (Jones, 1992). ОСВ растений табака через четверть часа после прекращения воздействия теплового шока в области корней не отличалось во всех группах растений (рис. 66). Это говорит о том, что в тканях листа не генерировался гидравлический сигнал вследствие прямого действия температуры на корни. И это является аргументом в пользу того, что повышение транспирации после нагревания корней не было следствием гидравлического сигнала. Напротив, повышение скорости потери воды растениями табака, вызванное нагреванием корней, в конечном счете, приводило к увеличению дефицита воды и падению водного потенциала тканей листа

к концу третьего часа после применения локального теплового шока в области корней (рис. 66). Логично, что транспирирующие с большей скоростью *ipt*-растения имеют более выраженный дефицит воды по сравнению с контролем, чем нетрансформированные SR- растения.

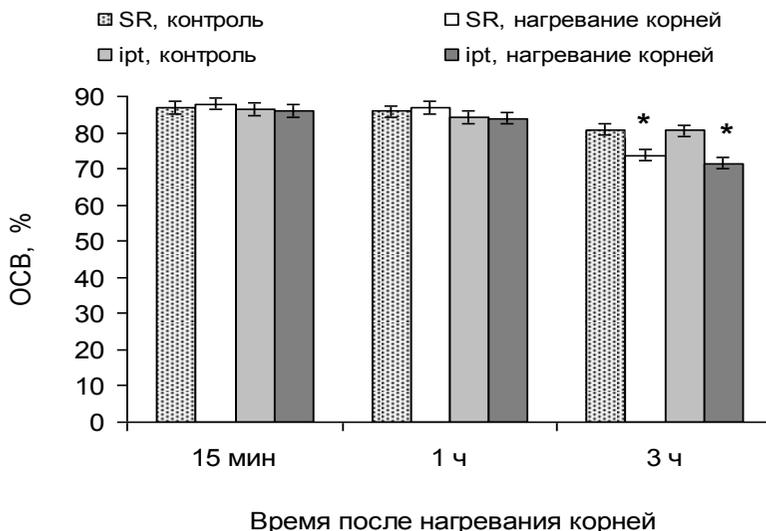


Рис. 66. Динамика относительного содержания воды (OCB) в 3-7 листьях от основания побега нетрансформированных *Nicotiana tabacum* L., cv. Petit Havana SR-1 (SR) и трансгенных *Nicotiana tabacum* L., cv. Petit Havana, HSIPT (*ipt*) растений табака через 1 ч после локального нагревания корней при 40 °C в течение 1 ч. На рисунке представлены средние значения и ошибки средних, n=5. Статистически достоверные отличия значений контроля и опыта (нагревание корней) обозначено *, P<0,05

Таким образом, одно и то же воздействие (локальное нагревание корней) вызывало выраженную в разной степени реакцию у растений, отличавшихся только присутствием в их генотипе *ipt*-гена, ответственного за синтез цитокининов и включающегося в условиях теплового шока. Поэтому можно предположить, что высокая скорость транспирации *ipt*-трансгенных растений табака после воздействия теплового шока обусловлена особенностями гормональной реакции растений.

Растяжимость клеток как фактор, способствующий поддержанию роста при кратковременном действии дефицита воды в питательном растворе

При стрессовых воздействиях поддержание ростовых процессов может быть связано с изменением свойств клеточной стенки (Hsiao et al., 1998). Это предположение возникло в результате экспериментов, в которых, как и в нашей работе, под влиянием дефицита воды сначала наблюдали прекращение роста, а затем его возобновление (Serpe, Matthews, 1992). Как известно, растяжение клеточной стенки происходит тогда, когда тургорное давление, возникающее за счет поступления воды в клетку, превышает некое пороговое значение. При водном дефиците приток воды прекращается, а растяжение клеточной стенки продолжается до тех пор, пока тургор не упадет ниже пороговых значений. Возобновление роста может быть результатом восстановления тургора за счет осмотического приспособления. Однако в наших экспериментах накопление осмотиков происходило не достаточно быстро, чтобы быть причиной восстановления роста. Параллельное измерение скорости роста и тургора показало, что рост может возобновляться на фоне неизменного тургора клеток (Serpe, Matthews, 1992). На основании этих опытов было высказано предположение, что это происходит за счет изменения свойств клеточной стенки. Она становится менее жесткой, пороговое значение тургора, необходимое для поддержания роста, снижается и рост возобновляется. Кроме того, может увеличиваться растяжимость клеток. При этом клетки должны увеличиваться в размере быстрее при меньшем воздействии на клеточную стенку. Прикладывая давление к корням, и регистрируя при этом изменение скорости роста листьев кукурузы, Хсiao с соавторами (Hsiao et al., 1998) рассчитали коэффициент растяжения. Оказалось, что он возрастает при повышении дефицита воды в растении, в зависимости от транспирации и добавления осмотиков в питательный раствор. Вместе с тем, в других экспериментах было обнаружено повышение не растяжимости клеточной стенки, а, наоборот, - ее жесткости (Matthews et al., 1984; Chazen, Neumann, 1994). Сравнение условий проведения опытов, в одних из которых было обнаружено возрастание растяжимости листа, а в других – ее снижение, показывает, что они различались по длительности воздействия стрессового фактора. Также было показано, что характер различий может зависеть от вида растений. Так у растений ячменя и кукурузы было обнаружено снижение растяжимости листа при действии засоления, а у растений риса – такой реакции не наблюдалось (Lu and Neumann, 1998).

Из анализа данные литературы видно, что растяжимость клеток может меняться при внешних воздействиях, но характер этих изменений трудно предсказать. Поэтому необходимо было измерить растяжимость листьев в наших экспериментах, чтобы выяснить, не связано ли возобновление роста с ее увеличением. Поэтому мы провели эксперименты с использованием датчика роста по схеме, предложенной Х.Томасом с сотрудниками (Thomas et al., 1999) для оценки видовых различий между растениями. Мы впервые применили этот подход для выявления возможных изменений растяжимости клеточной стенки под влиянием внешних воздействий.

Метод основан на увеличении тянущего усилия при регистрации положения кончика листа, что достигается путем подвешивания дополнительного груза к датчику роста. После механического растяжения листа, которое не учитывалось, мы регистрировали стабильную скорость удлинения в течение 10 минут. Считается, что скорость удлинения при этом отражает растяжимость клеточной стенки, связанное с происходящими в ней биохимическими процессами (McQueen-Mason, 1995). Расчет коэффициента растяжения приводится в материалах и методах.

Измерение скорости роста листа при подвешивании груза к датчику роста до и после повышения температуры, и расчет коэффициента растяжения показали, что растяжимость листа не менялась при данном воздействии (была около $0,25 \pm 0,04$ до и после воздействия). В результате измерения показателей в ночное и дневное время было обнаружено, что у транспирирующих растений растяжимость клеточной стенки выше, чем у нетранспирирующих (Hsiao et al., 1998). В наших опытах при исходной температуре воздуха устьичная проводимость уже была довольно высокой (около $60 \text{ ммоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$) и ее дальнейшее повышение с возрастанием температуры воздуха не сказывалось на коэффициенте растяжения. Таким образом, скорость роста растяжением, видимо, неодинаковым образом регулируется при инициации транспирации (опыты, описанные (Hsiao et al., 1998)) и ее дальнейшем повышении (наши результаты).

При понижении температуры питательного раствора коэффициент растяжения листа снижался от $0,26 \pm 0,02$ до $0,21 \pm 0,01 \text{ с}^{-1} \cdot \text{ГПа}^{-1}$. Это могло быть следствием прямого действия температуры в зоне роста на скорость протекания биохимических процессов, от которых зависит растяжение (Proseus, Boyer, 2006). Ведь температура зоны растяжения, которая находится у проростков однодольных растений в основании побега, должна снижаться из-за близости холодного питательного раствора. Тем самым чувствительность данного показателя к температуре подтверждает, что он отражает скорость

протекания биохимических процессов. Таким образом, состояние клеточной стенки способствовало снижению скорости роста листа и сохранению его низкого уровня при локальном охлаждении питательного раствора, что было выявлено в наших экспериментах.

Важно было проверить, изменяется ли коэффициент растяжения листа при осмотическом стрессе. Для этого несколько раз на протяжении периода нулевого роста к противовесу датчика подвешивали груз, регистрировали в течение 5 минут стабильное удлинение листа, индуцированное увеличением тянущего усилия, а затем снимали дополнительный вес, и после 5-минутной паузы вновь его подвешивали. Эту процедуру повторяли 3 раза на протяжении периода отсутствия роста, в результате чего получили данные, позволяющие судить о динамике состояния клеточных стенок листа. Из таблицы видно, что после добавления полиэтиленгликоля в питательную среду с каждым подвешиванием груза значения коэффициента растяжения увеличивались. Через 30 мин коэффициент растяжения был в 2 раза выше, чем через 10 минут после начала воздействия. Сравнение коэффициента растяжения листа и ростовой динамики показало, что возобновлению роста на фоне добавления в питательный раствор полиэтиленгликоля предшествовало увеличение растяжимости тканей листа (табл. 22) как у растений пшеницы, так и у ячменя.

Таблица 22
Коэффициент растяжения (ϵ , сек⁻¹*ГПа⁻¹) первого листа 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукский-139 и ячменя сорта Golf, измеренный во время отсутствия роста через 10, 20 и 30 минут после добавления ПЭГ в среду до конечной концентрации 12 %. В таблице представлены средние значения (n=6) и ошибки средних.

	10 мин	20 мин	30 мин
Ячмень	0,22±0,04	0,25±0,04	0,46±0,02
Пшеница	0,14±0,03	0,27±0,11	0,34±0,08

Нами ранее приводились данные о том, что возвращение растений на среду с нормальным водным потенциалом после инкубации на растворе с ПЭГ не просто восстанавливало нормальный рост растений, а повышало скорость их роста до более высокого уровня по сравнению с тем, который у них был до добавления ПЭГ. Чем продолжительнее было пребывание растений на среде с ПЭГ, тем быстрее они росли после его удаления из среды.

Результаты определения коэффициента растяжения позволяют объяснить этот эффект. Очевидно, постепенное повышение

растяжимости листа привело к активации роста растений при повышении доступности воды.

На основании того, что возобновление роста происходит при неизменном тургоре, высказывалось предположение (Acevedo et al, 1971; Serpe, Matthews, 1992), что быстрое восстановление роста при осмотическом стрессе связано с увеличением растяжимости клеточной стенки. Однако это предположение не было подтверждено экспериментально. Полученные нами результаты свидетельствуют в пользу данного предположения. Каковы механизмы увеличения растяжимости клеточной стенки - следующий вопрос, вставший перед нами.

Изменение содержания ИУК в листьях при действии ПЭГ и его потенциальная роль в регуляции растяжимости

Хорошо известно, что ауксины вызывают разрыхление клеточной стенки, и, соответственно, растяжимость клеток возрастает (Cleland, 1983; Romanto et al, 1995; Gray et al, 1998;). Предполагается, что они активируют протонный насос, выкачивающий ионы H^+ из цитоплазмы в клеточную стенку и тем самым регулирует кислотность клеточной стенки (Hager et al., 1971; Hager, 2003). Взаимодействуя с рецептором в клеточной мембране, ИУК активирует H^+ - помпу, в результате чего подкисляется и размягчается клеточная стенка (Полевой, Саламатова, 1977).

Для того, что бы ответить на вопрос, принимает ли ИУК участие в снижении жесткости клеточной стенки, мы измерили концентрацию этого гормона в побегах растений пшеницы и ячменя при добавлении ПЭГ. Из рисунка 67 видно, что при добавлении в питательную среду осмотика наблюдается быстрое накопление ИУК в побегах пшеницы и ячменя. Это позволяло нам предполагать, что вызванное осмотическим шоком возрастание концентрации ИУК в побегах может быть тем фактором, который способствует увеличению растяжимости листа и возобновлению роста. Судя по данным литературы, влияние ауксинов на рост растений может реализоваться также через их способность активировать поглощение ионов калия (Yamagami et al., 2004). Вместе с тем, накопление осмотически активных веществ происходило слишком медленно по сравнению с возрастанием коэффициента растяжения и возобновлением роста. Поэтому больший интерес представляет обсуждение возможной роли ауксинов как фактора, регулирующего растяжимость клеточных стенок.

Способность ауксинов вызывать разрыхление клеточной стенки было показано в модельных опытах с отрезками колеоптилей. Данные о способности ИУК действовать на настоящие листья противоречивы (Evans, 1984; Keller et al., 1998). Кроме того, до сих пор еще не удалось показать, что ИУК может участвовать в быстрых изменениях свойств клеточных стенок, хотя такие быстрые изменения были обнаружены при ряде воздействий (Serpe, Matthews, 1992). Таким образом, новизна наших результатов заключается в том, что мы обнаружили накопление ИУК в побегах растений при действии ПЭГ, что может иметь отношение к возрастанию растяжимости клеточной стенки.

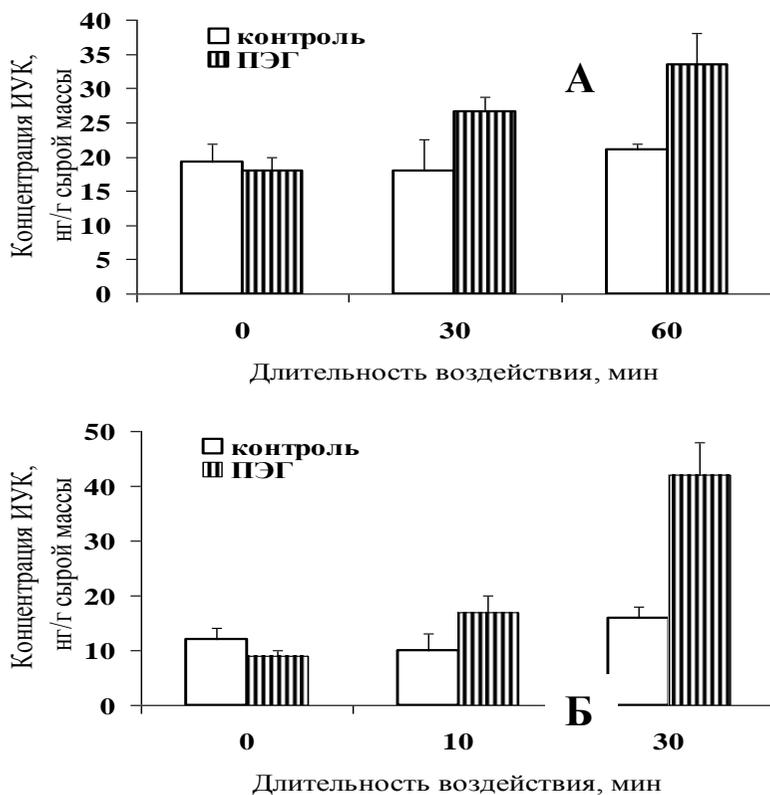


Рис. 67. Влияние добавления в питательную среду ПЭГ до конечной концентрации 12 % на концентрацию ауксинов в листьях 7-суточных растений пшеницы сорта Безенчукская-139 (А) и ячменя сорта Golf (Б). На графиках представлены средние значения (n=4) и ошибка средней.

Экспрессия гена экспансина и увеличение растяжимости листа при действии ПЭГ на растения кукурузы

Известно, что клеточная стенка растений имеет сложную структуру. Основными ее компонентами являются микрофибриллы целлюлозы, гемицеллюлозы, пектины, структурные протеины, ферменты. При росте растяжением клетки происходит разрыхление клеточной стенки, обусловленное действием ферментов, находящихся в матриксе клеточной стенки. Одним из факторов, который способствует разрыхлению клеточной стенки, может быть белок экспансин. Экспансины - это протеины, которые способны изменять механические свойства клеточных стенок. Они вызывают растяжение живых клеток или изолированных клеточных стенок при подкислении pH (McQueen-Mason et al., 1992). Они не обладают гидролитической активностью, а действуют на нековалентные (водородные) связи между микрофибриллами целлюлозы и гемицеллюлозы (Cosgrove, 2000). Показано, что активность экспансинов была высокой в быстро растущих тканях и снижалась по мере снижения скорости роста (McQueen-Mason, Rochange, 1999). Связь между скоростью роста корней и экспансинами обнаружена при действии засухи на растения кукурузы (Wu et al, 1996).

Поскольку в наших экспериментах мы наблюдали увеличение растяжимости в побегах растений твердой пшеницы и ячменя при добавлении ПЭГ, нам захотелось проверить, не связано ли повышение растяжимости клеточных стенок, а, следовательно, и возобновление роста с увеличением экспрессии гена, кодирующего экспансин.

Обращение к данным литературы, показало, что о генах, кодирующих экспансины в растениях твердой пшеницы и ячменя, известно крайне мало. Поэтому мы приняли решение сменить объект наших исследований для проверки этого предположения. Нами была выбрана кукуруза, так как в литературе имеется большое количество данных об экспансинах, идентифицированных в растениях кукурузы (Wu et al., 2001).

Для начала необходимо было проверить, как реагируют растения кукурузы на добавление в питательную среду ПЭГ.

Из рисунка 68 видно, что принципиальных различий в реакции растений кукурузы на водный дефицит по сравнению с растениями пшеницы и ячменя не наблюдается. В первые минуты после добавления осмотика происходит прекращение роста и сжатие листа, затем фаза нулевого роста и через 50 минут - возобновление роста. Торможение роста листа при медленном добавлении ПЭГ в питательный раствор

объясняли увеличением жесткости клеточных стенок (Chazen, Neumann, 1994). В наших условиях механизм первоначального торможения роста был иным. Мы наблюдали сжатие листа, что указывает на падение тургора в клетках, которое очевидно было следствием уменьшения притока воды из корней.

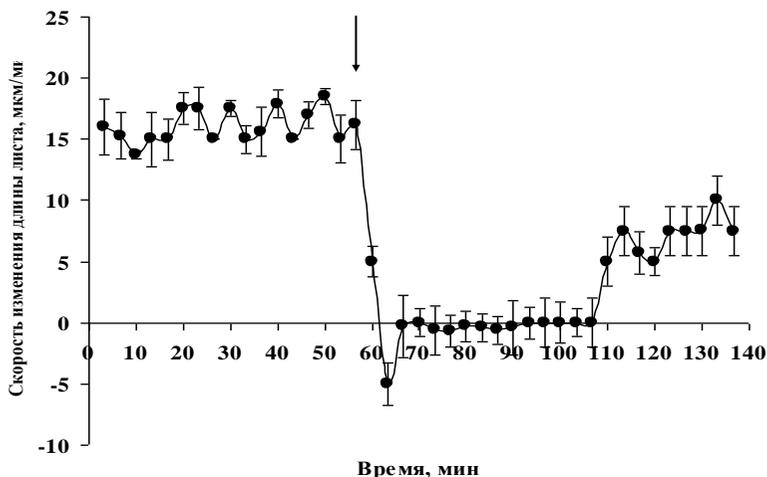


Рис. 68. Скорость роста первого листа 7-суточных растений кукурузы при добавлении ПЭГ в питательный раствор до конечной концентрации 12 %. Стрелкой указано время добавления ПЭГ в питательную среду. На графике представлены средние значения из 5 независимых экспериментов и ошибки средних.

Важно было проверить, как в наших условиях менялась растяжимость листьев. Используя метод Х. Томаса (Thomas et al., 1999) с подвешиванием груза к датчику роста, было установлено, что растяжимость листа растений кукурузы возрастает при действии ПЭГ (рис. 69), и это увеличение по времени совпадает с возобновлением роста побега (рис. 68).

Используя опубликованные ранее данные о последовательности нуклеотидов в гене экспансина α *EXPA1* были подобраны праймеры и получен клон данного гена. Выбор этого гена из семейства экспансинов кукурузы был основан на том, что по данным литературы его экспрессия была характерна для молодых листьев растений (Wu et al., 2001). Сравнение полученной нами последовательности с опубликованной ранее подтвердило, что мы действительно имеем дело с интересующим нас геном (Wu et al., 2001).

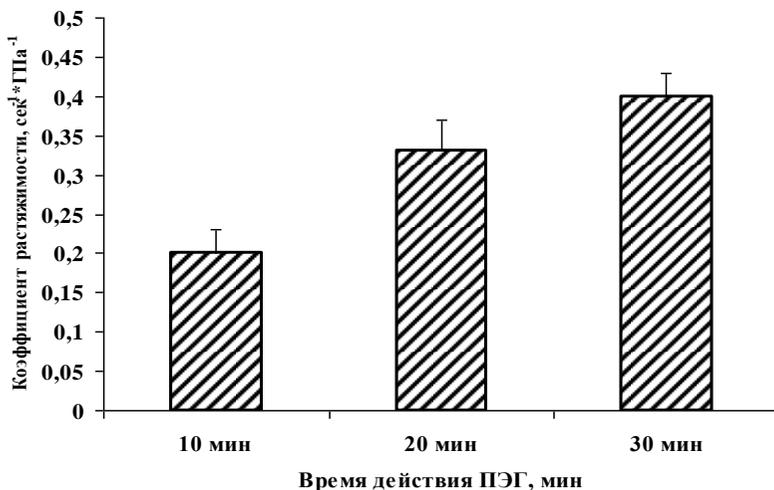


Рис. 69. Коэффициент растяжения (ϵ , сек⁻¹*ГПа⁻¹) первого листа 7-суточных растений кукурузы (гибрид Харьковский-310 МВ), измеренный во время отсутствия роста растений через 10, 20 и 30 минут после добавления ПЭГ в среду до конечной концентрации 12 %. На рисунке представлены средние значения (n=6) и их ошибки.

Используя дот-блот анализ транскриптов мРНК с ³³P-меченой ДНК пробой, мы обнаружили быстрое накопление транскрипта гена α *EXP1* в побегах кукурузы при обработке ПЭГ (рис. 70).

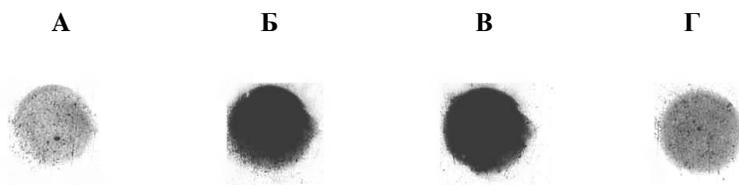
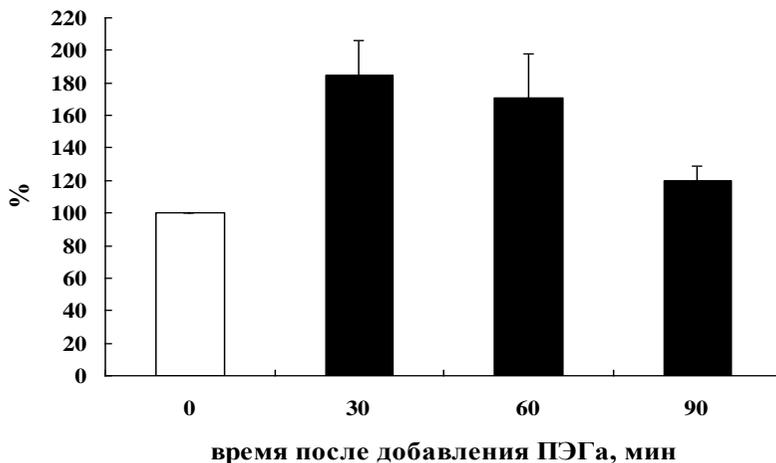


Рис. 70. Результат дот-блот анализа транскриптов мРНК гена экспансина. А- контроль, Б – 30 минут после обработки ПЭГ, В - 60 минут после обработки ПЭГ, Г - 90 минут после обработки ПЭГ.

После проявления рентгеновской пленки проводили денситометрирование и количественную оценку. Полученные результаты показаны в виде гистограммы (рис. 71).

Максимальное накопление транскрипта наблюдалось уже к 30 минутам действия ПЭГ. К 90 минутам происходило снижение содержания транскриптов мРНК, но их уровень оставался по-прежнему высоким. Следовательно, можно предположить, что увеличение растяжимости листа и восстановление роста побега при добавлении ПЭГ связано с повышением экспрессии гена, кодирующего экспансин. Быстро накапливаясь в побеге под действием водного дефицита, экспансины очевидно вызывают разрыхление клеточных стенок, и рост возобновляется.



Р
ис. 71. Результаты дот-блот анализа транскриптов мРНК гена экспансина в листьях 7-суточных растений кукурузы до и после добавления ПЭГ в питательную среду до конечной концентрации 12 %. Денситометрические измерения, представлены как процент от данных, полученных для растений, необработанных ПЭГ. На графике представлены средние значения (n=4) и ошибки средних.

Участие экспансинов в регуляции растяжимости было обнаружено в экспериментах *in vitro*. Подтверждением этому послужили данные о дифференциальной активности и экспрессии генов экспансинов в быстро растущих органах (McQueen-Mason, Rochange, 1999). Недавно были опубликованы данные об экспрессии экспансинов в зоне роста листа кукурузы в норме и при стрессе (Muller et al., 2007). Однако нам не удалось встретить работы, где бы активность экспансинов в листе связывали с быстрым изменением свойств клеточных стенок при внешних воздействиях. В этом новизна полученных нами результатов.

Влияние ИУК на растяжимость листа и экспрессию гена экспансина

Важно было понять, как регулируется растяжимость листьев при осмотическом стрессе. Анализ данных, полученных при изучении действия ПЭГ на растения пшеницы и ячменя, показал накопление ауксинов в зоне роста листьев обработанных растений. Способность ауксинов вызывать разрыхление клеточной стенки за счет активации выброса в апопласт ионов водорода уже обсуждалась. Кроме того, известно, что экспансины - это медиаторы кислого роста, то есть именно при подкислении pH клеточной стенки, они вызывают увеличение ее растяжимости (McQueen Masson and Rochange, 1999). Анализируя эти данные, можно было предположить, что изменение pH клеточной стенки под влиянием ауксинов и действие экспансинов - это два взаимосвязанных процесса, каждый из которых вносит свой вклад в восстановление роста листа при дефиците воды. Кроме того, есть данные о том, что ауксины могут непосредственно влиять на уровень активности экспансинов. Способность гормонов растений влиять на активности экспансинов описана в литературе. Например, обсуждался вопрос о том, что ауксин-индуцированный ростовой ответ может усиливать действие экспансинов при разрыхлении клеточной стенки и росте растяжением (McQueen-Mason et al., 1992; Rayle and Cleland, 1992; Link and Cosgrove, 1998). Известно, что растительные гормоны могут регулировать экспрессию генов, кодирующих экспансины. Например, уровень экспрессии экспансинов томата *LeExp1* и *LeExp2*, экспансина риса *OsExp4* и β -экспансина сои *Cim1* повышается в ответ на обработку этиленом, ауксинами, гиббереллинами и цитокининами, соответственно (Cho and Kende, 1997; Rose et al., 1997; Downes et al., 2001). Вместе с тем, сведения о роли ауксинов в действии экспансинов довольно фрагментарны, и требовалось ее дальнейшее изучение.

Чтобы проверить предположение, о том, что ауксины влияют на экспрессию гена α *EXPA1*, кодирующего α -экспансин, сначала мы должны были убедиться, что побеги кукурузы накапливают ауксины, так же как и побеги пшеницы и ячменя. Анализ содержания ИУК в проростках кукурузы показал, что оно возросло уже через 25 минут действия ПЭГ (рис. 72).

Также важно было проверить, как ауксины влияют на рост листьев кукурузы этого возраста. Оказалось, что скорость роста листа, которую регистрировали с помощью датчика, увеличивалась в полтора раза по сравнению с исходной (с 20 до 30 мкм/мин) через 30 мин после добавления экзогенного гормона (рис. 73). Эти результаты подтвердили 2 важных факта: (1) что ауксины накапливаются в растениях кукурузы при осмотическом стрессе и (2) что они способны

повысить скорость роста листьев кукурузы. Важно было выяснить, есть ли связь между накоплением ауксинов и изменением уровня экспрессии гена экспансина.

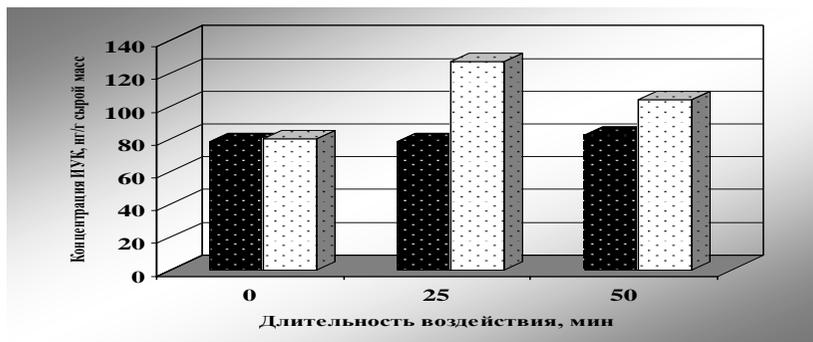


Рис. 72. Влияние добавления в питательную среду ПЭГ до конечной концентрации 12 % на концентрацию ауксинов в побегах 7-суточных растений кукурузы (гибрид Харьковский-310 МВ). Темными столбцами представлено содержание ИУК в контрольных растениях. На графике представлены средние значения (n=5). Ошибка средней не превышала 10%.

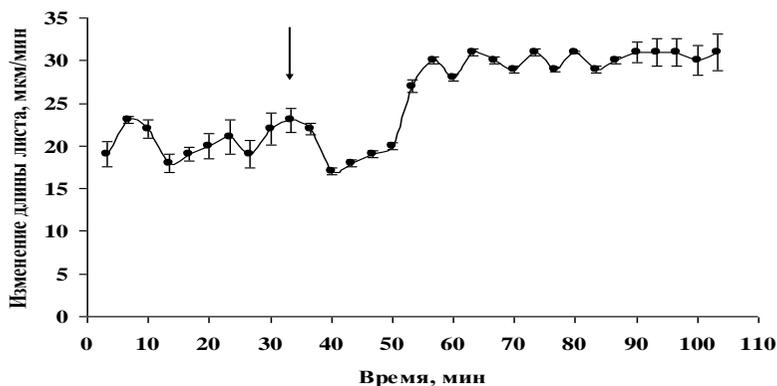


Рис. 73. Влияние экзогенной ИУК на скорость роста первого листа 7-суточных растений кукурузы (гибрид Харьковский-310 МВ). Стрелкой показано время добавления в питательный раствор индолилуксусной кислоты. На графике представлены средние значения из 3 независимых экспериментов и ошибки средней.

В следующем эксперименте мы определяли экспрессию гена, кодирующего экспансин в побегах кукурузы при экзогенной обработке ауксинами. При добавлении в питательную среду ИУК в концентрации 10 мг/л к 60 минутам после начала обработки наблюдалось накопление транскриптов мРНК гена, кодирующего α - экспансин (рис. 74).

Эти результаты подтверждают предположение о связи между экспансинами и уровнем ауксинов, и, что ауксины могут не только регулировать активность экспансинов, изменяя рН клеточной стенки, но и влиять на уровень их экспрессии (Link and Cosgrove, 1998). Вместе с тем, в наших экспериментах накопление транскриптов мРНК при экзогенной обработке ИУК было небольшим, что могло быть связано с быстрой инактивацией ауксинов, поступающих из внешней среды. Концентрация экзогенной ИУК была подобрана таким образом, что суммарное содержание гормона в листьях повышалось в такой же степени, как и при засолении.

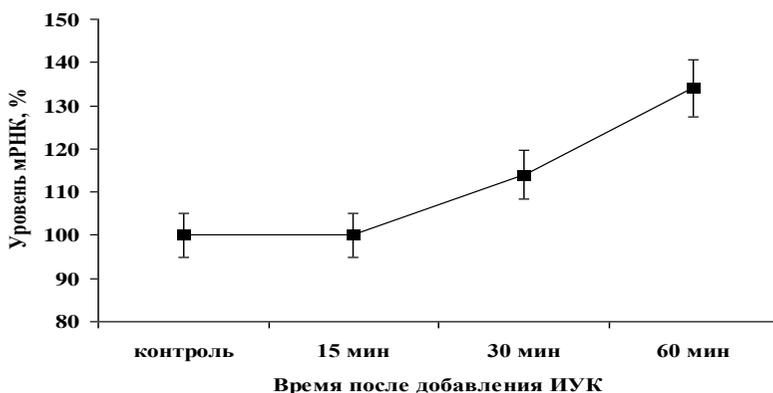


Рис. 74. Результаты дот-блот анализа транскриптов мРНК гена экспансина в листьях 7-суточных растений кукурузы (гибрид Харьковский-310 МВ), до и после добавления ИУК. Денситометрические измерения, представленные как процент от данных, полученных для растений, необработанных ИУК. На графике - средние значения из 3 независимых экспериментов и ошибки средних.

Однако, определение суммарного содержания гормона в тканях листа еще не позволяет судить о его уровне в тех клетках, где гормон мог индуцировать повышению уровня транскрипционной активности генов экспансинов. Хотя степень повышения уровня транскрипта при

действии экзогенной ИУК была ниже, чем при действии ПЭГ, это можно объяснить тем, что повышение содержания гормона при его введении извне было меньше, чем уровень накопления эндогенных ауксинов в случае осмотического стресса.

Полученные нами результаты подтверждают способность экзогенной ИУК повышать как скорость роста листьев кукурузы, так и уровень экспрессии генов экспансинов. Влияние ауксинов на рост клеток растяжением было показано в основном на отрезках колеоптилей или гипокотилей растений (Cleland, 1983). Гораздо меньше в литературе сведений о стимуляции роста листьев под влиянием экзогенной ИУК, хотя их тоже можно встретить (Keller, Volkenburgh, 1997). Как уже неоднократно упоминалось, влияние ИУК на состояние клеточных стенок может реализоваться не только на уровне регуляции экспрессии генов экспансинов. Активность экспансинов повышается в кислой среде (McQueen Masson and Rochange, 1999), а традиционно считалось, что ауксины способствуют закислению апопласта (Полевой, Саламатова, 1977; Cleland, 1983). Следовательно, участие ауксинов в разрыхлении клеточной стенки могло происходить как за счет активации экспрессии генов экспансинов, так и за снижения рН апопласта. Такой интерпретации результатов мешают сведения о том, что дефицит воды сопровождается не снижением, а повышением рН апопласта (Bogoslavsky and Neumann, 1998). Хотя при засолении значения рН могли так же неоднозначно меняться, как и растяжимость клеточных стенок, в наших опытах значения рН апопласта не измерялись, и мы не можем настаивать на роли закисления апопласта в регуляции растяжимости растений. Тем не менее, экзогенные ауксины стимулировали рост и повышали экспрессию экспансинов в наших опытах, а их концентрация повышалась в растениях при засолении, что предшествовало повышению экспрессии экспансинов и возобновлению роста. Эти результаты указывают на возможную роль ауксинов в регуляции роста листьев растений кукурузы на засолении.

Таким образом, показано, что в листьях растений кукурузы происходит быстрое повышение содержания транскрипта гена экспансина α E χ p1, что может быть одним из механизмов, способствующих быстрому разрыхлению клеточной стенки и поддержанию роста клеток листа растяжением в условиях дефицита воды. Накопление ИУК в листьях растений при действии засоления и способность экзогенной ИУК повышать уровень экспрессии генов экспансинов свидетельствуют о возможном участии ИУК в разрыхлении стенок клеток листа при действии дефицита воды.

Суммируя сказанное о влиянии ПЭГ на растяжимость листьев можно сказать следующее. Растения твердой пшеницы и ячменя

сходным образом реагировали на дефицит воды, вызванный ПЭГ. В первую минуту действия стресса наблюдалось снижение скорости роста побега и даже его сжатие, затем после фазы нулевого роста следовало восстановление ростовых процессов. Мы обнаружили относительно быстрое накопление осмотиков в растущей зоне листа и у пшеницы, и у ячменя, и получили экспериментальное подтверждение предположения о возможности осморегуляции за короткий срок действия дефицита воды, что ранее предполагалось, но не было подтверждено экспериментально (Thiel et al, 1988). Увеличение растяжимости листа – является вторым фактором, который может способствовать поддержанию роста листьев при дефиците воды. Возрастание коэффициента растяжения сопровождалось накоплением ауксинов в побегах пшеницы и ячменя, что говорит о возможном участии ИУК в разрыхлении клеточной стенки. Накопление транскриптов мРНК экспансинов в листьях кукурузы при дефиците воды также сопровождалось увеличением растяжимости. Можно предположить, что экспансины участвуют в восстановлении роста во время осмотического стресса не только у растений кукурузы, но и пшеницы и ячменя.

Таким образом, оценка коэффициента растяжения у растений разных видов выявила, что снижение жесткости клеточной стенки является одним из важных факторов, обеспечивающих возобновление роста после его превращения в результате возрастания дефицита воды. Вместе с тем изменение растяжимости не могло быть единственной причиной возобновления роста. Так, при действии засоления на растения пшеницы рост все же возобновлялся, хотя и с меньшей скоростью по сравнению с экспозицией на растворе ПЭГ, хотя коэффициент растяжения не возрастал. Кроме того, сжатие листа, которое мы наблюдали как при действии засоления, так и ПЭГ, свидетельствует о том, тургор листа не просто снижался, а падал до нуля. В этих условиях одного только возрастания растяжимости клеточной стенки, приводящего к снижению пороговых значения тургора, было бы недостаточно для возобновления роста, которое происходит, когда значения тургора превышают пороговые (каким бы низким ни было пороговое значение тургора, при нулевом значении тургора роста не может быть). Для возобновления роста необходимо было возрастание тургора. Поскольку быстрое возрастание тургора не могло происходить за счет осморегуляции, оставалось предположить, что причиной возобновления роста было возрастание водного потенциала. Для того, чтобы выяснить, действительно ли это имело место и за счет чего это могло происходить, необходимо было больше внимания уделить водному обмену при данных воздействиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе выявлена сложная картина разнообразных сочетаний сигналов и соответствующих ответных реакций при воздействии на растения водного дефицита и разного уровня минерального питания. Очевидно, что это разнообразие отражает пластичность растительного организма и обеспечивает адекватное приспособление к изменяющимся условиям внешней среды. В работе было показано, что взаимосвязанное сочетание, как минимум, сигналинга абсцизовой кислоты, индолилуксусной кислоты и цитокининов обеспечивает такой важный для адаптации процесс, как координация роста побега и корня. При воздействиях на корень изменение уровня гормонов в побегах является результатом как изменения их притока из корней (корневой гормональный сигнал), так и изменения метаболизма *in situ*, которое инициируется поступающими из корней сигналами. Так, снижение притока ионов из корней при дефиците питания приводит к снижению скорости фотосинтеза и тургора клеток и тем самым индуцирует синтез АБК в побеге, которая, в свою очередь, снижает уровень цитокининов через активацию цитокиноксидазы (ЦКО). Резкое снижение концентрации ЦК в ксилемном соке приводит к падению активности и снижению уровня экспрессии гена ЦКО. Передача сигналов из корня в побег и обратно в корень обеспечивает согласованность изменений устьичной и гидравлической проводимости. Полученные нами результаты свидетельствуют о способности растений очень быстро реагировать на разнообразные внешние воздействия, нарушающие водный баланс и приводящие к снижению оводненности тканей растений и прекращению роста клеток листа растяжением. Благодаря быстрым реакциям, проявляющимся в первые минуты после воздействия, растения восстанавливают оводненность и рост. Восстановление оводненности и возобновление роста достигается различными способами при разных воздействиях и у разных видов и сортов растений. Так на фоне достаточного количества воды в среде корнеобитания возрастание сухости воздуха может увеличивать приток воды за счет снижения гидравлического сопротивления корней, и оводненность листа возрастает, в то время как устьица остаются открытыми. Снижение доступности воды в зоне корней приводит к быстрому закрытию устьиц. И в том, и другом случае в растении происходит быстрое возрастание содержания АБК. Нами впервые показано, что у однодольных растений наряду с притоком АБК из корней, источником ее быстрого накопления может быть продукция АБК в зоне роста листа. Сжатие клеток в этой области под влиянием гидравлического сигнала стимулирует продукцию АБК. Показана

корреляция между степенью сжатия листа и уровнем накопления АБК у разных сортов растений пшеницы и ячменя. Характер ее распределения между побегом и корнем определяет реакцию растений на возрастание дефицита воды. Накопление АБК в листьях стимулирует закрытие устьиц, а ее распределение в корнях – обеспечивает возрастание гидравлической проводимости.

На фоне снижения доступности воды в зоне корней увеличение растяжимости листьев способствует поддержанию роста листьев у растений пшеницы, кукурузы и ячменя. На примере растений кукурузы нами впервые показано, что постепенное увеличение коэффициента растяжения листа на протяжении первого часа осмотического стресса может быть связано с увеличением уровня экспрессии гена экспансина α *EXPA1*. Сопоставление динамики накопления ауксинов, изменения экспрессии экспансина и растяжимости листа при действии ПЭГ указывает на роль ауксинов в регуляции растяжимости листа и поддержании роста при осмотическом стрессе.

Нами также показано, что накопление осмотически активных веществ под влиянием снижения доступности воды начинается раньше, чем это предполагалось. Начало накопления осмотически активных веществ совпадает с возрастанием уровня цитокининов в побегах растений, что указывает на возможную роль этих гормонов как осмосенсоров. Осмотическое приспособление так же, как и другие перечисленные процессы, способствует поддержанию роста, о чем свидетельствуют наши данные о корреляции относительной (по сравнению с контролем) скорости роста с уровнем накопления осмотически активных веществ при действии ПЭГ на растения разных сортов ячменя.

В начале действия засоления нами выявлена зависимость накопления токсичных ионов от скорости транспирационного потока. Показано, что в этот период способность растений быстро закрывать устьица и снижать тем самым скорость транспирации уменьшает уровень накопления токсичных ионов и повышает солеустойчивость растений. Таким образом, закрытие устьиц под влиянием АБК не только поддерживает водный обмен и рост растяжением в начале действия засоления, но и обеспечивает ионный гомеостаз. На примере действия на растения токсичных ионов кадмия показано, что снижение транспирации может происходить не только за счет накопления АБК, но и уменьшения уровня цитокининов в побеге. Это достигается как за счет ограничения притока цитокининов из корней, так и за счет их инактивации, катализируемой цитокинооксидазой.

Изучение реакции растений кукурузы на действие ПЭГ показало, что транспирация у них снижалась в меньшей степени на фоне

более низкой температуры, при которой в корнях резко возрастала экспрессия генов, кодирующих водные каналы аквапорины и повышалось содержание кодируемых ими белков. На фоне высокой температуры (сочетание засухи в области побегом и корней) повышения содержания аквапоринов не было. Тем не менее, уровень экспрессии генов аквапоринов в этих условиях также возрастал. Очевидно, повышенный уровень экспрессии генов аквапоринов обеспечивал сохранение содержания водных каналов в мембранах на уровне, не уступающем контрольному, в условиях стресса, при котором вероятна инактивация мембранных белков (например, под влиянием активных форм кислорода). Тем не менее, отсутствие повышения уровня аквапоринов при высокой температуре сопровождалось более выраженным снижением транспирации. Эти результаты свидетельствуют о том, что повышение активности водных каналов способствует поддержанию транспирационного потока у растений.

Сравнение экспрессии аквапоринов у растений ячменя и кукурузы при осмотическом стрессе позволяет заметить, что она менялась противоположным образом: снижалась у растений ячменя и повышалась у растений кукурузы. Эти различия соответствуют особенностям транспорта воды у растений этих видов: у кукурузы в нормальных условиях доминирует апопластный транспорт, отличающийся высокой гидравлической проводимостью, а у ячменя – отличающейся большим сопротивлением транспорт через мембраны. Снижение уровня транспирации приводит к резкому падению гидравлической проводимости у растений кукурузы за счет одного только переключения потока воды с апопластного на трансмембранный транспорт. При этом увеличение количества аквапоринов важно для поддержания транспирационного потока. У растений ячменя трансмембранный транспорт воды доминирует как в нормальных условиях, так и при осмотическом стрессе. Поэтому у них снижение количества аквапоринов является механизмом усиления гидравлического сигнала, который обеспечивает ускорение закрытия устьиц.

Высокая отзывчивость растений на внешние воздействия обеспечивает их приспособление к изменению условий обитания. Разнообразие реакций (изменение устьичной и гидравлической проводимости, растяжимости клеток, осмотическое приспособление) достигается изменением концентрации гормонов в разных органах растений (накопление АБК в побегах или корнях, ауксинов – в зоне роста листьев, изменение уровня цитокининов в побеге за счет подавления их притока из корней и скорости их инактивации). Тем самым формируется адекватный ответ растений на внешние воздействия в зависимости от их длительности и интенсивности. Разнообразие

ответных реакций обеспечивает нужный результат: поддержание водности растений, их ионного гомеостаза и роста в условиях нарастания дефицита воды и снижение токсического действия ионов.

Таким образом, сочетание и взаимодействие гормональных, гидравлических и трофических сигналов, передаваемых из корня в побег и из побега в корень, запускает множество реакций, обеспечивающих координацию процессов на уровне целого организма, разнообразие ответов на внешние воздействия и адекватное к ним приспособление.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Ангелова И., Ковачёва Т., Петкова С. Влияние на различные соотношения на нитратния и амониевия азот в хранителния разтвор върху съдържанието на абсцисневата киселина в сълъчогледови растения // Физиология растений. - 1985. – Т. 11, №2. - С.46-50.

Анисимов А.В., Раткович С. Транспорт воды в растениях. Исследование импульсным ЯМР. - М.: Наука, 1992. - 144 с.

Архипова Т. Н., Анохина Н. Л. Влияние инокуляции цитокинин-продуцирующими микроорганизмами на рост растений пшеницы при повышении уровня минерального питания // Физиология растений. – 2009.- Т. 56, №6. –С.899-906.

Блохин В.Г. Концентрационная зависимость влияния 6-бензиламинопурина на рост корней растений разных видов // Физиология растений. - 1986. -Т. 33, № 6. -С.1084-1089.

Булатова Т.А., Анисимов А.А. Транспорт индолилуксусной кислоты в связи с условиями азотно-фосфорного питания растений // Физиология и биохимия культурных растений. - 1978. - Т.10, №4. - С.411-415.

Веселов Д.С., Сабиржанова И.Б., Ахиярова Г.Р. Фархутдинов Р.Г. Веселова С.В., Мустафина А.Р., Митриченко А.Н., Дедов А.В., Веселов С.Ю. Кудоярова Г.Р., Роль гормонов в быстром ростовом ответе растений пшеницы на осмотический и холодовой шок / // Физиология растений. – 2002. – Т. 49, № 6. – С. 572–576.

Веселов Д.С., Веселов С.Ю., Высоцкая Л.Б., Кудоярова Г.Р., Фархутдинов Р.Г. Гормоны растений. Регуляция концентрации, связь с ростом и водным обменом. // М.: Наука. -2007. - 160 с.

Веселов С.Ю., Вальке Р.С., Ван Онкелен Х., Кудоярова Г.Р. Содержание и локализация цитокининов в листьях исходных и трансгенных растений табакам // Физиология растений. - 1999. - Т. 46, № 1.- С. 326-335.

Веселова С.В., Фархутдинов Р.Г., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р. Роль цитокининов в регуляции устьичной проводимости проростков пшеницы при быстром локальном изменении температуры // Физиология растений. - 2006.- Т. 53, № 6. - С.857-862.

Веселова С.В., Фархутдинов Р.Г., Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р. Роль цитокининов в регуляции устьичной проводимости проростков пшеницы при быстром локальном изменении температуры. Физиология растений. 2006. т.53, №6, с. 857-862.

Гамалей Ю.В. Транспортная сосудистая система сосудистых растений. - С.-Петербург.: Издательство С.-Петербургского университета, 2004. - 424 с.

Данилова Н.С. Влияние условий азотного питания на рост корней//Агрехимия. – 1965.- № 6.- С.53-60.

Демченко К.Н., Демченко Н.П., Данилова М.Ф. Инициация и развитие примордиев боковых корней у проростков *Triticum aestivum* (*Poaceae*) и *Cucurbita pepo* (*Cucurbitaceae*)//Ботанический журнал. – 2001.- №1. –С. 14-30.

Демченко Н.П., Демченко К.Н. Возобновление синтеза ДНК и деления клеток в корнях пшеницы в связи с инициацией боковых корней//Физиология растений. - 2001.- Т. 48. -С.869-878.

Дерфлинг К. Гормоны растений. Системный подход. - М.: Мир, 1985. – 206 с.

Донцов М.Б. Ионобменные свойства корней и их связь с минеральным питанием растений // Агрехимия.-1976.-№9.-С.142-151.

Дустмаматов А.Г., Жолкевич В.Н. Изменения основных параметров экссудации отделенной корневой системы кукурузы под влиянием $HgCl_2$ //Физиология растений. – 2008.- Т. 56. – С.901-908.

Егорова Н.Н., Воробьев Л.Н. Мембранная регуляция поступления нитрата и аммония//Экол.проблемы накопления нитратов в окружающей среде /Тез.докл. Всесоюзн.конф.-Пушино: ОНТИ НЦБИ АН СССР,1989.-С.93.

Жолкевич В.Н., Пустовойтова Т.Н. Рост листьев *Cucurbita sativus* L. и содержание в них фитогормонов при почвенной засухе//Физиол. раст. - 1993.- Т.40, № 4. -С.676-680.

Зозикова Е.И., Ковачёва Т.И. Влияние на соотношения на нитратной и аммониевой азот в хранителната среда върху съдържанието на свободните ауксини в слънчогледови растения// Физиол. раст. (НРБ).- 1986.-12, N2.-С.57-62.

Иванов Е.А., Фархутдинов Р.Г., Веселов Д.С., Трапезников В.К., Золотов А.Л., Никонов В.И., Кудоярова Г.Р. Реакция устьиц растений разных сортов пшеницы на увеличение транспирационного запроса как диагностический признак в селекции на засухоустойчивость // Вестник БашГУ. – 2005. – № 1. – С. 65-68.

Иванов Е.А., Фархутдинов Р.Г., Веселов Д.С., Золотов А.Л., Никонов В.И., Трапезников В.К., Фаизов Р.Г., Кудоярова Г.Р. Изменение

устычной проводимости растений разных сортов яровой пшеницы при увеличении дефицита воды в воздухе как диагностический признак в селекции на засухоустойчивость. Сельскохозяйственная биология 2007, № 1 С. 7-12

Иванов И.И. Эндогенные ауксины и ветвление корней при изолированном питании растений пшеницы//Физиология растений. - 2009.- Т. 56. - С.241-246.

Казарян В.О., Геворкян И.А. О роли корневой системы в гормональной регуляции каланхое// Биол. ж.Армении.-1986.-39, N2. - С.119-125.

Казарян Г.Т., Хачатрян Р.И. Взаимодействие фитогормонов с плазматическими мембранами клеток корешков кукурузы // Биол.ж. Армении.-1986.-т.39, №6.-С.497-502.

Кефели В.И., Коф Э.М., Власов П.В., Кислин Е.Н. Природный ингибитор роста – абсцизовая кислота. - М: Наука, 1989. - 488 с.

Кильдибекова А.Р., Безрукова М.В., Авальбаев А.М., Фатхутдинова Р.А., Шакирова Ф.М. Механизмы защитного влияния агглютинина зародыша пшеницы на рост клеток корней проростков пшеницы при засолении // Цитология. - 2004. - Т.46, № 4. - С. 312-316.

Киселева И.С., Каминская О.А. Гормональная регуляция утилизации ассимилятов в листьях ячменя в связи с формированием донорной функции//Физиология растений. - 2002.- Т. 49, №4. -С.596-602.

Клюйкова А.И., Алёхина Н.Д. Использование нитратного азота проростками пшеницы, растущими при разной температуре в зоне корней // Вестн. Моск. ун-та.Сер.Биология.-1983.-№1.-С.35-39.

Клюйкова А.И., Алехина Н.Д. Определение активности нитратредуктазы у пшеницы: сравнение методов и оценка результатов// Вести. Моск. ун-та. Сер.биология.-1991.-№3.- С.55-60.

Ктитрова И.Н., Скобелева О.В. Снижение гидравлической проводимости мембран клеток ризодермы при дефиците нитрата связано с закислением у поверхности корня//Физиология растений. – 2008.- Т. 55, №5. –С. 690-698.

Кудоярова Г.Р., Усманов И.Ю., Гюли-Заде В.З., Иванов И.И., Трапезников В.К. Влияние уровня минерального питания на рост, концентрацию цитокининов и ауксинов в проростках пшеницы//Физиология растений. - 1989.- Т. 36. -С.1012-1015.

Кудоярова Г.Р., Усманов И.Ю., Гюли-Заде В.З., Фаттахутдинов Э.Г., Веселов С.Ю. Взаимодействие пространственно разобщенных органов. Соотношение электрических и гормональных сигналов//Доклады АН СССР. - 1990.- Т. 310, №6. -С.1511-1514.

Кудоярова Г.Р., Докичева Р.А., Веселов С.Ю., Трапезников В.К., Иванов И.И. БАП-индуцированная ростовая реакция растений пшеницы и эндогенное содержание гормонов, обусловленное уровнем минерального питания//Физиология растений. - 1993.- Т. 40. -С.893-897.

Кудоярова Г.Р., Фархутдинов Р.Г., Митриченко А.Н. Теплова И.Р.,Веселов С.Ю., Кулаева О.Н. Быстрые изменения скорости роста и содержания цитокининов в надземных органах растений пшеницы в ответ на резкое охлаждение корней / // Доклады Академии наук. – 1999. – Т. 365, № 2. – С. 260–262.

Кудоярова Г.Р., Дедов А.В., Фархутдинов Р.Г., Веселова С.В. Передача сигналов и быстрая стрессовая реакция растений// Вестник Нижегород. ун-та им. Н.И. Лобачевского / Серия Биология /: Материалы выездной сессии ОФР РАН по проблемам биоэлектrogenеза и адаптации у растений, 11–12 окт. 2000 г. – С. 83–85.

Кудоярова Г.Р., Веселов Д.С., Фаизов Р.Г., Веселова С.В., Иванов Е.А. Фархутдинов Р.Г. Реакция устьиц на изменение температуры и влажности воздуха у растений сортов пшеницы, районированных в контрастных климатических условиях //Физиология растений. - 2007, Вып. 31, т.54. с. 54-58.

Кудоярова Г.Р. , Холодова В.П., Веселов Д.С. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды // Физиология растений. - 2013. - Т. 60. - С. 165–175.

Кудоярова Г.Р., Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Ахиярова Г.Р., Dodd I.C., Веселов С.Ю. Водный обмен и рост исходных и дефицитных по АБК мутантных растений ячменя при повышении температуры воздуха.// Физиология растений,. - 2014. – Т. 61, № 2. - С. 207–213.

Кузнецов В.В., Кузнецов Вл.В., Кулаева О.И. Влияние нитрата и цитокинина на стабильность нитратредуктазы в изолированных зародышах куколя// Доклады АН СССР. - 1977. – Т. 231, №1.- С.245-248.

Кузнецов В.В., Шимеин И., Заальбах И., Кулаева О.Н. Нитратредуктазы зародышей куколя, индуцированное цитокинином и нитратом: очистка, характеристика, возможные функции//Физиология растений.-1986. – Т. 33,№2. - С.234-243.

Кузнецова Л.Г., Головина Е.В., Новичкова Н.С. и др. Влияние избытка нитрата на рост, фотосинтез клевера в зависимости от освещенности//Физиология растений.-1987. – Т.34, №4. - С.823-831.

Кулаева О.Н. Влияние корней на обмен веществ листьев в связи с проблемой действия на лист кинетина//Физиология растений. - 1962.- Т. 9. -С.229-239.

Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функции. - М.: Наука, 1973. – 263 с.

Кулаева О.Н., Кузнецов В.В. Новейшие достижения и перспективы в области изучения цитокининов//Физиология растений. - 2002.- Т. 49. -С.626-640.

Медведев С.С. Физиология растений. С-Пб.: Изд-во С.-Петербургского университета, 2004. 336 с.

Митриченко А.Н., Фархутдинов Р.Г., Теплова И.Р., Веселов С. Ю. Кудоярова Г.Р. Динамика и распределение цитокининов в проростках пшеницы при изменении температуры // Физиология растений. – 1998. – Т. 45, № 3. – С. 468–471.

Митриченко А.Н. Динамика содержания гормонов в проростках пшеницы при изменении температуры. Автореф. дисс. кандидата биол. наук. 1999, Уфа. 24 с.

Мункоев А.К. Влияние абсцизовой кислоты на рост изолированных зародышей куколя и развития активности нитратредуктазы//Физиология растений.-1981.-Т.28, №.5.- С. 918-925.

Опритов В.А., Крауз В.О., Треушников В.М. Роль электрической реакции возбуждения в осуществлении функциональной связи между надземной частью и корнями при действии на верхушки проростков внешних раздражителей//Физиология растений. - 1972.- Т. 19. -С.961-967.

Площинская М.Е., Иванов В.Б., Салмин С.А., Быстрова Е.И. Анализ возможных механизмов регуляции ветвления корня//Журн. общей биологии. - 2002.- Т. 63. -С.68-74.

Полевой А.В., Танкелюн О.В., Полевой В.В. Быстрая дистанционная передача сигнала о локальном стрессовом воздействии у проростков кукурузы//Физиология растений. - 1997.- Т. 44, № 5. -С.645-651.

Полевой В.В. Физиология растений. М.: Высшая школа, 1989. 464 с.

Полевой В.В., Саламатова Т.С. Растяжение клеток и функции ауксинов. // Рост растений и природные регуляторы / Под ред. Кефели В.И. – М.: Наука, 1977. С. 171-192.

Прянишников Д.Н. Азот в жизни растений и в земледелии СССР. – М.Л.:Изд-во АН СССР,1945.-199 с.

Пузина Т.И. Значение гормонального баланса в реакции растений картофеля на условия минерального питания//Агрохимия. - 2000.- №4. -С.27-32.

Пустовойтова Т.Н., Баврина Т.В., Ложникова В.Н., Жданова Н.Е. Использование трансгенных растений для выяснения роли цитокининов в устойчивости к засухе//Доклады РАН. - 1997.- Т. 354. - С.702-704.

Пятыгин С.С. Распространяющиеся электрические сигналы в растениях//Цитология. – 2008.- Т. 50, №2. –С.154-160.

Рахманкулова З.Ф., Рамазанова Г.Ф., Усманов И.Ю. Рост и дыхание растений разных адаптивных групп при дефиците элементов минерального питания //Физиология растений. – 2001. – Т.48. – С.75-80.

Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку//Физиология растений. - 2009.- Т. 56, № 2. -С. 295-319.

Сарсенбаев Б., Добрунов Л.Г. Влияние аммонийного и нитратного азота на формирование и деятельность корней риса // Физиология и биохимия культурных растений.-1980.-Т.12,№6.-С.584-587.

Сахабутдинова А.Р., Масленникова Д.Р., Авальбаев А.М., Нургалиева Р.В., Фатхутдинова Р.А., Чанышева К.В., Токунова Э.Ф., Хлебникова Т.Д., Шакирова Ф.М. Механизмы защитного действия Фэтила на проростки пшеницы при засолении // Агрохимия. - 2005. - № 4. - С. 48-52.

Семенов В.М., Соколов О.А. Пути поступления азота в растения// Агрохимия.-1983.-№4.-С.127-136.

Соколов О.А., Семенов В.М., Агаев В.А. Нитраты в окружающей среде.- Пушкино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1988.-316 с.

Таланова В.В., Титов А.Ф., Минаева С.В., Солдатов С.Е. Раздельное и комбинированное действие засоления и закаливающих температур на растения // Физиология растений. – 1993. – Т. 40. – С. 584 – 588.

Теплова И.Р., Фархутдинов Р.Г., Митриченко А.Н., Иванов И.И., Веселов С.Ю., Вальке Р.Л., Кудоярова Г.Р. Реакция на повышенную

температуру у трансформированных растений табака, содержащих иртенген//Физиология растений. - 2000.- Т. 47. -С.416-419.

Тимергалина Л.Н., Исхакова В.М., Высоцкая Л.Б., Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р. Содержание гормонов, водный обмен и рост листьев растяжением у растений пшеницы при повышении освещенности // Физиология растений. - 2007. - Т. 54. - № 5. - С. 715-721.

Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука, 2006. 143 с.

Титов А.Ф., Таланова В.В. Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. - 206 с.

Ткачук Е.С., Кузьменко Л.М., Нижко В.Ф. и др. Регуляция минерального питания и продуктивность растений.-Киев: Наукова думка,1991-172с.

Фархутдинов Р.Г., Кудоярова Г.Р. Сравнение действия нитратной и аммонийной форм азота на рост корней проростков пшеницы и содержание в них ауксинов при различных температурных режимах // Агрохимия. – 1997. – № 3. – С. 41–43.

Фархутдинов Р.Г., Веселова С.В., Веселов Д.С., Митриченко А.Н., Дедов А.В., Кудоярова Г.Р. Регуляция скорости роста листьев пшеницы при быстром повышении температуры//Физиология растений. - 2003.- Т. 50, №2. -С.275-279.

Фархутдинов Р.Г., Теплова И.Р., Митриченко А.Н. Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю. Влияние высокой температуры воздуха на содержание АБК и цитокининов и водный обмен проростков пшеницы // Известия РАН. Серия Биология. – 2003. – № 2. – С. 195–200.

Фархутдинов Р.Г. , Веселова С.В. , Золотов А.Л. Леонтьев И.П., Кудоярова Г.Р. Изучение гидравлической и устьичной проводимости для проверки засухоустойчивости проростков пшеницы при повышении температуры // Агрохимия. – 2004. – № 7. – С. 53–57.

Фархутдинов Р.Г. , Кудоярова Г.Р., Веселов Д.С., Веселова С.В., Фаизов Р.Г. Способ диагностики засухоустойчивости и продуктивности злаковых сельскохозяйственных культур. Патент на изобретение № 2339215 от 27.11.08 приоритет изобретения от 23.10.2006, заявка № 2006137551/12(040873).

Харитонашвили Е.В., Черный С.Г., Алехина Н.Д. Формирование запасного пула нитрата в корнях проростков пшеницы//Физиология растений. - 1993.- Т. 40, № 3. -С.443-447.

Холодова В.П., Мещеряков А.Б., Ракитин В.Ю., Карягин В.В., Кузнецов В.В. Гидравлический сигнал как "первичный мессенджер водного дефицита" при солевом стрессе у растений//ДАН. - 2006.- Т. 407, № 2. -С.282-285.

Черкозьянова А.В. и др. Гормональная регуляция соотношения побег/корень не связана с водным обменом при дефиците минерального питания у растений пшеницы //Физиология растений - 2005. - Т.52 -№5. - С.708-711.

Чернядьев И.И. Регуляция фотосинтеза синтетическими цитокининами// Фотосинтез и продуктив.раст./ВАСХНИЛ.Всерос. отд. НИИ с.х. Юго-Востока.-Саратов,1990.-С.184-187.

Чернядьев И.И., Образцов А.С., Козловских А.Л., Доман Н.Г. Цитокинины как регуляторы фотосинтеза, дыхания и продуктивности некоторых многолетних злаков// Прикладная биохимия и микробиология.- 1987.-Т.23, №5.-С.647-656.

Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. - Уфа: Гилем, 2001. - 160 с.

Шарипова Г.В., Фархутдинов Р.Г. Реакция различных по засухоустойчивости сортов ячменя на воздушную засуху. //Агрохимия, 2009, № 12, С. 39-43.

Шарипова Г.В., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р., Тимергалин М.Д., Wilkinson S. Влияние ингибитора рецепции этилена на рост, водный обмен и содержание абсцизовой кислоты у растений пшеницы при дефиците воды.// Физиология растений. - 2012. - Т. 59, № 4,. - Сс. 619–626.

Ширшова Е.Д., Ключикова А.И., Алекина Н.Д. Усвоение нитратов и аммония и активность ферментов ассимиляции азота у проростков пшеницы // Биологические науки.-1986.-№1.-С.76-82.

Acevedo E., Hsiao T.C., Henderson D.W. Immediate and subsequent growth responses of maize leaves to changes in water status // Plant Physiol. - 1971. - V. 48. - P. 631-636.

Aharon R., Shahak Y., Wininger S., BendovR., Kapulnik Y., Galili. G. Overexpression of a plasma membrane aquaporin in transgenic tobacco

improves plant vigor under favorable growth conditions but not under drought or salt stress.// *The Plant Cell*. - 2003.- V. 15. - P. 439–447.

Aloni R., Langhans M., Aloni E., Dreieicher E., Ullrich C. Root-synthesized cytokinin in *Arabidopsis* is distributed in the shoot by the transpiration stream//*J. Exp. Bot.* - 2005.- V.56. - P.1535-1544.

Anderson. B.E., Ward J.M., Schroeder J. Evidence for an extracellular reception site for abscisic acid in *Commelina cuard* cells//*Plant Physiol.* - 1994.- V. 104. -P.1177-1183.

Aroca R., Ferrante A., Vernieri P., Chispeels M. J. Drought, abscisic acid and transpiration rate effects on the regulation of PIP aquaporin gene expression and abundance in *Phaseolus vulgaris* plants // *Ann. Bot.* - 2006. - V. 98.- P. 1301–1310.

Astot C., Dolezal K., Nordstrom A., Wang Q., Kunkel T., Moritz T., Chua N., Sandberg G. An alternative cytokinin biosynthesis pathway//*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2000.- V. 97. -P.14778-14783.

Bacon M.A., Wilkinson S., Davies W.J. pH-regulated leaf cell expansion in droughted plants is abscisic acid dependent//*Plant Physiol.* - 1998.- V. 118. -P.1507-1515.

Baker D. Vascular transport of auxins and cytokinins in *Ricinus*// *Plant Growth Regul.* – 2000.- V. 32. -P.157–160.

Bano A., Dorffling K., Bettin D., Hahn H. Abscisic acid and cytokinins as possible root-to-shoot signals in xylem sap of rice plants in drying soil//*Australian J. Plant Physiol.* - 1993.- V. 20. -P.109-115.

Barcelo J., Poschenrieder C., Gunze B. Effects of low pH on water transport of *Zea mays* roots // *Plant Physiol. Biochem.* - 1996. - SI.- P. 233.

Beck E. Regulation of the shoot/root ratio by cytokinins in *Urtica dioica*: Opinion//*Plant Soil.* - 1996.- V. 185. -P. 3-12.

Benkova E., Witters T., van Dongen W., Kolar J., Motyka V., Brzobohaty B., van Onckelen H.A., Machackova I. Cytokinins in tobacco and wheat chloroplasts. Occurrence and changes due to light/dark treatment//*Plant Physiol.* - 1999.- V. 121. -P.245-251.

Beveridge C.A., Murfet I.C., Kerhoas L., Sotta B., Miginiac E., Rameau C. The shoot controls zeatin riboside export from pea roots. Evidence from the branching mutant *rms4*//*Plant J.* – 1997.- V. 11. –P.339–345.

Bhalerao R.P., Eklof E., Ljung K., Marchant A., Bennett M., Sandberg G. Shoot-driven auxin is essential for early lateral root emergence in *Arabidopsis* seedlings//*Plant J.* - 2002.- V. 29. -P.325-332.

Blackman P.G., Davies W.J. Root to shoot communication in maize plants and the effects of soil drying//J. Exp. Bot. - 1985.- V. 36. -P.39-48.

Blackman P.G., Davies W.J. The effects of cytokinins and ABA on stomatal behaviour of maize and *Commelina* // J. Exp. Bot. - 1983. - V. 34. № 149.- P.1619-1626.

Blakesley D., Weston G.D., Hall J.F. The role of endogenous auxin in root initiation. Part I: Evidence from studies on auxin application, and analysis of endogenous levels//Plant Growth Regul. - 1991.- V. 10. -P.341-353.

Blatt M.R. & Armstrong F. Potassium channels of stomatal guard cells: abscisic acid-evoked control of the outward rectifier mediated by cytoplasmic pH // Planta. - 1993. - V. 191. - P. 330–341.

Blatt M.R. Potassium channel currents in intact stomatal guard cells // Planta - 1990.- V. 180. - P. 445 – 455.

Blokhina O., Verolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review // Ann Bot. - 2003. - V. 91. - P. 179-194.

Bogeat-Triboulot M.B., Brosche M., Renaut J., Jouve L., Le Thiec D., Fayyaz P., Vinocur B., Witters E., Laukens K., Teichmann T. Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions//Plant Physiol. - 2007.- V. 143. -P.876–892.

Bogoslavsky L., Neumann PM. Rapid regulation by acid pH of cell wall adjustment and leaf growth in maize plants responding to reversal of water stress // Plant Physiol. - 1998. - V. 118. - P. 701–709.

Borel C., Simmoneau T. Is the ABA concentration in the sap collected by pressurizing leaves relevant for analyzing drought effects on stomata? Evidence from ABA-fed leaves of transgenic plants with modified capacities to synthesize ABA//J. Exp. Bot. - 2002.- V.53. -P.287-296.

Boudsocq M., Lauriere C. Osmotic signaling in plants. Multiple pathways mediated by emerging kinase families//Plant Physiology. - 2005.- V. 138. -P.1185-1194.

Bramley H., Turner N.C., Turner D.W., Tyerman S.D. Comparison between gradient-dependent hydraulic conductivities of root using the root pressure probe: the role of pressure propagation and implication for the relative roles of parallel radial pathways//Plant, Cell Environ. - 2007.-V. 30. – P.861-874.

Brenner W.G., Romanov G.A., Kollmer I., Burkle L., Schumling T. Immediate-early and delayed cytokinin response genes of *Arabidopsis*

thaliana identified by genome-wide expression profiling reveal novel cytokinin-sensitive processes and suggest cytokinin action through transcriptional cascades//Plant J. - 2005.- V. 44. -P.314-333.

Brewitz E., Larsson C-M., Larsson M. Influence of nitrate supply on concentrations and translocation of abscisic acid in barley (*Hordeum vulgare*)//Physiologia Physiol Plantarum. - 1995.- V. 95. -P.499-506.

Brouwer R.. The regulation influence of transpiration and suction tension on the water and salt uptake by roots of intact *Vicia faba* plants // Acta Bot. Neerl. -1954.- V. 3. - P. 264-312.

Brovko F.A., Vasil'eva V.S., Shepelyakovskaya A.O., Selivankina S.Y., Kudoyarova G.R., Nosov A.V., Moshkov D.A., Laman A.G., Boziev K.M., Kusnetsov V.V., Kulaeva O.N. Cytokinin-binding protein (70 kDa): localization in tissue and cells of etiolated maize seedlings and its putative function//J. Exp. Bot. - 2007.- V. 58. -P.2479-2490.

Brugiere N., Jiao S., Hantke S., Zinselmeier C., Roessler J.A., Niu X., Jones R.J. and Habben J.E. Cytokinin oxidase gene expression in maize is localized to the vasculature, and is induced by cytokinins, abscisic acid, and abiotic stress//Plant Physiol. - 2003.- V. 132. -P.1228-1240.

Burkle L., Cedzich A., Dopke C., Stransky H., Okumoto S., Gillissen B., Kuhn C., Frommer W.B. Transport of cytokinins mediated by purine transporters of the PUP family expressed in phloem, hydathodes and pollen of *Arabidopsis*//The Plant J. - 2003.- V. 34. -P.13-26.

Calain M., Khodre E., Atry M. Effect of nitrate concentration on the root: shoot ratio in *Dactylis glomerata* L. and on the kinetics of growth in the vegetative phase // Ann.Bot.-1980.-V.46,N2.-P.165-173.

Canny M.J. Ashby's law and the pursuit of plant hormones: a critique of accepted dogmas, using a concept of variety//Austral. J. Physiol. – 1985.- V. 12. –P. 1-7.

Carabelli M., Possenti M., Sessa G., Ciolfi A., Sassi M., Morelli G., Rubertil I. Canopy shade causes a rapid and transient arrest in leaf development through auxin-induced cytokinin oxidase activity//Genes and Development. - 2007.- V. 21. -P. 1863–1868.

Carimi F., Terzi M., De Michele R., Zottini N., Lo Schiavo F. High levels of the cytokinin BAP induce PCD by acceleration senescence//Plant Sci. - 2004.- V. 166. -P. 963-969.

Carvajal M., Cooke D.T., Clarkson D.T. Responses of wheat plants to nutrition deprivation may involve the regulation of water-channel function // Planta- 1996. – V. 199. - P. 372–381.

Cary A.J., Liu W., Howell S. H. Cytokinin action is coupled to ethylene in its effects on the inhibition of root and hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings//Plant Physiol. - 1995.- V. 107. - P. 1075-1082.

Casimiro I., Marchant A., Bhalerao R.P., Beeckman T., Dhooge S., Swarup R., Graham N., Inzer D., Sandberg G., Casero P.J., Bennett M. Auxin transport promotes *Arabidopsis* lateral root initiation//Plant Cell. - 2001.- V. 13. - P.843–852.

Casson S.A., Lindsey K. Genes and signaling in root development//New Phytol. - 2003.- V. 158. - P. 11-38.

Chaillan S., Mort-Gaudry J.-F., Lesaint C., Salsac L., Yolivet E. Nitrate or ammonium nutrition in trench bean// Plant and Soil.- 1986.- V. 91,N3.- P. 363-365.

Chapin F.S. Effects of nutrient deficiency on plant growth: evidence for a centralized stressresponse system//Importance of root to shoot communication in the response to environmental stress/Eds. Davies W.J., JEFFEVAT B. Bristol: British Society for Plant Growth Regul. 1990. - P. 135-148.

Chapin F.S. III, Walter C.H.S., Clarkson D.T. Growth response of barley and tomato to nitrogen stress and its control by abscisic acid, water relations and photosynthesis//Planta. - 1988. - V. 173. - P. 352-366.

Chaumont F., Barrieu F., Wojcik E., Chrispeels M.J., Jung R. Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize // Plant Physiology. -2001. - V. 125,. - P. 1206–1215.

Chaves M.M., Francisco Z.R., Costa J.M., Santos T., Regalado A.P., Rodrigues M.L., Lopes C.M. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data//Ann. Bot. - 2010. - V. 105. - P. 661–676.

Chazen O., Hartung W., Neumann P.M. The different effects of PEG 6000 and NaCl on leaf development are associated with differential inhibition of root water transport // Plant Cell Environ. - 1995. - V. 18. - P. 727–735.

Chazen O., Neumann P.M. Hydraulic signals from the roots and rapid cell – wall hardening in growing maize (*Zea mays* L.) leaves are primary responses to polyethylene glycol – induced water deficits // Plant Physiol. - 1994. - V. 104. –

Chen C.M., Erti J.R., Leisner S.M. Localisation of cytokinin biosynthetic sites in pea plants and carrot roots//Plant Physiol. - 1985. - V. 78. -P.510-513.

Cho H.T., Kende H. Expansins in deepwater rice internodes // Plant Physiol. -1997. - V. 113. - P. 1137–1143.

Choat B., Cobb A. R., Jansen S. Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function//New Phytologist. - 2007, doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02317.

Christmann A., Weiler E.W., Steudle E., Grill E. A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage//The Plant J. - 2007. - V. 52. - P.167–174.

Clarkson D.T., Carvajal M., Henzler T., Waterhouse R.N., Smyth A.J., Cooke D.T., Steudle E. Root hydraulic conductance: diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress//J. Exp. Bot. - 2000. - V. 51. - P. 61-70.

Clarkson D.T., Scattergood C.B. Growth and phosphate transport in barley and tomato plants during the development of, and recovery from, phosphate-stress//J. Exp. Bot. - 1982. - V. 33. - P. 865-875.

Cleland R.E. The capacity for acid-induced wall loosening as a factor in the control of Avena coleoptile cell elongation // J Exp Bot. - 1983. - V. 34. - P. 676–680.

Cochard H., Coll L., Le Roux X., Améglio T. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal conductance during water stress in walnut//Plant Physiol. - 2002.- V. 128. - P. 282–290.

Comstock J.P. Hydraulic and chemical signaling in the control of stomatal conductance and transpiration//J. Exp. Bot. - 2002. - V. 53. - P. 195-200.

Conde C, Agasse A, Glissant D, Tavares R, Gero's H, Delrot S (2006) Pathways of glucose regulation of monosaccharide transport in grape cells. Plant Physiol 141: 1563–1577

Cosgrove D.J. Expansive growth of plant cell walls // Plant Physiol. Biochem. - 2000. - V. 38. - P. 109–124.

Cosgrove D.J., Li L.C., Cho H.-T., Hoffmann-Benning S., Moore R.C., Blecker D. The growing world of expansins//Plant Cell Physiology. – 2002. – V.43. – P. 1436-1444.

Cramer GR, Quarrie SA. Abscisic acid is correlated with the leaf growth limitation of four genotypes differing in their response to salinity // *Func Biol.* - 2002. - V. 29. - P. 111-115.

Daeter W., Slovik S., Hartung W. The pH gradients in the root system and the abscisic acid concentration in xylem and apoplastic saps//*Philosophical Transactions of the Royal Society of London B.* - 1993. - V. 341. – P. 49–56.

Davey J.E., Van Staden J. Cytokinin translocation-changes in zeatin and zeatin-riboside levels in root exudate of tomato plants during their development//*Planta.* - 1976. - V. 130. - P. 69-72.

Davies W.J., Kudoyarova G.R., Hartung W. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought//*J. Plant Growth Regul.* - 2005. -V. 24. - P. 285-295.

Davies W.J., Metcalfe J., Lodge T.A., Da Costa A.R. Plant growth substances and the regulation of growth under drought//*Australian J. Plant Physiol.* - 1986.- V. 13. -P. 105-125.

Davies W.J., Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil // *Annual. Rev. Plant Pilsiol. Plant Mol. Biol.* - 1991. – V. 42. – P. 55-76.

De Costa W., Zo`rb C., Hartung H., Schubert S. Salt resistance is determined by osmotic adjustment in newly developed maize hybrids in the first phase of salt stress // *Physiol Plant.* 2007. V. 131. P. 311–321.

De Greef J.A., Caubergs R., Verbelen J.P., Moereels E. Phytochromemediated inter-organ dependence and rapid transmission of the light stimulus//In: Smith, H. (Ed.), *Light and Plant Development.* Butterworths, London. 1976.

Deak K.I., Malamy J.E. Osmotic regulation of root system architecture//*Plant J.* - 2005. - V. 43. - P. 17-28.

Debi B.R., Taketa S., Ichii M. Cytokinin inhibits lateral root initiation but stimulates lateral root elongation in rice (*Oryza sativa*)//*J. Plant Physiol.* - 2005.- V. 162. - P. 507-515.

Dieleman J.A., Verstappen F.W.A., Nicander B., Kuiper D., TillbergE., Tromp J. Cytokinins in *Rosa hybrida* in relation to bud break//*Physiol. Plant.*- 1997.- V. 99. - P. 456-464.

Dodd I., Munns R., Passioura J. Dose shoot water status limit leaf expansion of nitrogen deprived barley//*J Exp Bot.* - 2002.- V. 53. - P. 1765-1770.

Dodd I., Tan L. P., He J. Do increases in xylem sap pH and/or ABA concentration mediate stomatal closure following nitrate deprivation?//J. Exp. Bot. - 2003.- V. 54, № 385. - P. 1281-1288.

Dodd I.C. Root-to-shoot signaling: assessing the roles of 'up' in the up and down world of long-distance signaling in planta//Plant and Soil. - 2005. - V. 274. -P. 251-270.

Dodd I.C., Beveridge C.A. Xylem-borne cytokinins: still in search of a role?//J. Exp. Bot. – 2006.- V. 57. – P. 1-4.

Dodd I.C., Ngo C., Turnbull C.G.N., Beveridge C.A. Effects of nitrogen supply on xylem cytokinin delivery, transpiration and leaf expansion of pea genotypes differing in xylem cytokinin concentration//Func. Plant Biol. - 2004. - V. 31. - P. 903-911.

Doi M., Shimazaki K. The stomata of the fern *Adiantum capillus-veneris* do not respond to CO₂ in the dark and open by photosynthesis in guard cells//Plant Physiol. - 2008. - V. 147. - P. 922–930.

Downes P.B. Steinbaker C.R. Crowell D.N. Expression and processing of a hormonally regulated β - expansin from soybean // Plant Physiol. - 2001. - V. 126. - P. 244–252.

El-Antably Hamed M. M. Studies on the Physiology of Shedding of Buds, Flowers and Fruits of *Vicia faba* Journal Article Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 1976. — V. 80.(1) – P. 21-28

Else M.A., Hall K.C., Arnold G.M., Davies W.J., Jackson M.B.. Export of ABA, ACC, phosphate and nitrate from roots to shoots of flooded tomato plants. Accounting for effects of xylem sap flow rate on concentration and delivery//Plant Physiology. – 1995. - V. 107. - P. 377-384.

Else M.A., Taylor J.M., Atkinson C.J. Anti-transpirant activity in xylem sap from flooded tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants is not due to pH-mediated redistributions of root- or shoot-sourced ABA//J. Exp. Bot. – 2006.– V. 57. –P. 3349-3357.

Evans M.L. Functions of hormones at the cellular level of organization//In: Encyclopedia of Plant Physiology, New Series / ed. T.K.Scott. Berlin: Springer-Verlag, 1984. - V.10., - Pp. 23-79.

Faiss M., Zalubilova J., Strnad M., Schumling T. Conditional transgenic expression of the *ipt* gene indicates a function for cytokinins in paracrin signaling in whole tobacco plants//Plant J. - 1997.- V. 12. - P. 401-415.

Farkhutdinov R.G., Veselov S.U., Kudoyarova G.R., Valcke R. Influence of temperature increase on evapotranspiration rate and cytokinin content in wheat seedlings//*Biologia Plantarum*. – 1997. - V. 39. – P. 289-291.

Fetter K., Van Wilder V., Moshelion M., Chaumont F. Interactions between plasma membrane aquaporins modulate their water channel activity // *Plant Cell*. - 2004. - V. 16. - P. 215- 228.

Foo E., Morris S.E., Parmenter K., Young N., Wang H., Jones A., Rameau C., Turnbull C.G., Beveridge C.A. Feedback regulation of xylem cytokinin content is conserved in pea and *Arabidopsis*//*Plant Physiology*. – 2007. - V. 143. – P. 1418–1428.

Forde B.G. Local and long-range signaling pathways regulating plant responses to nitrate//*Ann. Rev. Plant Biol.* - 2002. - V. 53. - P. 203–224.

Forsyth Clare and Van Staden J. The effects of root decapitation on lateral root formation and cytokinin production in *Pisum sativum*// *Physiologia Plantarum* 1981. – V. 51, Issue 4., - P. 375–379.,

Franco-Zorrilla J.M., Gonzalez E., Bustos R., Linhares F., Leyva A., Paz-Ares J. The transcriptional control of plant responses to phosphate limitation//*J. Exp. Bot.* – 2004. - V. 55. - P. 285-293.

Frensch J., Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution//*J. Exp. Bot.* - 1997. - V. 48. - P. 985-999.

Fricke W. Biophysical limitation of Cell Elongation in Cereal Leaves // *Ann Bot.* - 2002. - V. 90. - P. 157-167.

Fricke W. Cell turgor, osmotic pressure and water potential in the upper epidermis of barley leaves in relation to cell location and in response to NaCl and air humidity//*J. Exp. Bot.* - 1997.- V. 48. - P. 45-58.

Fricke W., Akhiyarova G., Veselov D., Kudoyarova G. Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves//*J. Exp. Bot.* - 2004.- V. 55. - P. 1115-1123.

Fricke W., Akhiyarova G., Wei W., Alexandersson E., Miller A., Kjellbom P.O., Richardson A., Wojciechowski T., Schreiber L., Veselov D., Kudoyarova G., Volkov V. The short-term growth response to salt of the developing barley leaf // *J Exp Bot.* - 2006. - V. 57. - P. 1079-1095.

Fromm J., Lauter S. Electrical signals and their physiological significance in plants//*Plant, Cell Environ.* - 2007. - V. 30. - P. 249–257.

Fukaki H., Tasaka M. Hormone interactions during lateral root formation//*Plant Mol. Biol.* — 2009. - V. 69. - P. 437–449.

Galmes J., Pou A., Alsina M.M., Tomas M., Medrano H., Flexas J. Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in Richter-110 (*Vitis* sp.): relationship with ecophysiological status // *Planta*. - 2007. - V. 226. - P. 671–681.

Garnier E., Salager J.L., Laurent G., Sonie L. Relationships between photosynthesis, nitrogen and leaf structure in 14 grass species and their dependence on the basis of expression//*New Phytologist*. - 1999. - V. 143. - P. 119-129.

Gasco A., Nardini A., Gortan E., Salleo S. Ion-mediated increase in the hydraulic conductivity of Laurel stems: role of pits and consequences for the impact of cavitation on water transport//*Plant, Cell Environ.* - 2006. - V. 29. - P. 1946–1955.

Gashaw L., Mugwira L.M. Ammonium-N and nitrate-N effects on the growth and mineral compositions of triticale, wheat and rye//*Agronomy J.* - 1981. - V. 73. - P. 47-51.

Gilbert S.M., Clarkson D.T., Cambridge M., Lambers H., Hawkesford M.J. SO₄²⁻ deprivation has an early effect on the content of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase in young leaves of wheat//*Plant Physiol.* - 1997. - V. 115. - P. 1231-1239.

Gollan T., Schurr U., Schulze E.D. Stomatal response to drying soil in relation to changes in xylem sap composition of *Helianthus annuus*. I. The concentration of cations, anions, amino acids in, and pH of the xylem sap//*Plant, Cell Environ.* - 1992. - V. 15. - P. 551–559.

Gomez – Caderas A., Tadeo F.R., Primo – Millo E., Talon M. Involvement of abscisic acid and ethylene in the responses of citrus seedlings to salt shock // *Physiol. Plant.* - 1998. - V. 103. - P. 475 – 484.

Gordon I., Intyre Mc. Control of plant development by limiting factors: A nutritional perspective//*Physiologia Plantarum*. - 2001. - V. 113. - P. 165–175.

Gowing D.J.G., Davies W.J., Jones H.G. A positive root-coursed signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus domestica* Borkh//*J. Exp. Bot.* - 1990. - V. 41. - P. 1535-1540.

Gowing D.J.G., Davies W.J., Trejo C.L., Jones H.G. Xylem-transported chemical signals and the regulation of plant growth and physiology//*Phyl. Trans. R. Soc. Lond. B.* - 1993. - V. 341. -P. 41-47.

Gray W.M., Ostin A., Sandberg G., Romano C.P., Estelle M. High temperature promotes auxin-mediated hypocotyl elongated in *Arabidopsis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* - 1998. - V. 95. - P. 7197 – 7202.

Griffiths A., Parry A.D., Jones H.G., Tomos A.D. Abscisic acid and turgor pressure regulation in tomato roots // *J. Plant Physiol.* 1996. – V. 149. – P. 372 - 376.

Groot C., Marcelis L.F. M., van den Boogaard R., Kaiser W. M., Lambers H. Interaction of nitrogen and phosphorus nutrition in determining growth//*Plant and Soil.* – 2010. - V. 248. – P. 257-268, DOI: 10.1023/A:1022323215010.

Günes A., Inal A., Aktas M. Reducing nitrate content of NFT grown winter onion plants (*Allium cepa* L.) by partial replacement of NO₃ with amino acid in nutrient solution//*Scientia Horticulturae.* - 1996. - V. 65. - P. 203-208.

Hachez C., Veselov D., YE Q., Reinhardt H., Knipfer T., Fricke W., Chamout F. Short-term control of maize cell and root water permeability through plasma membrane aquaporin isoforms.//*Plant, Cell and Environment.* - (2012). – V. 35., – P. 185–198. (ИФ-5,2)

Hager A. Role of the plasma membrane H⁺-ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects//*J Plant Res.* - 2003. - V. 116. -P.483–505.

Hager A., Menzel H., Krauss A. Versuche Rheological properties of expansion zones of leaves // *Planta.* - 1971. - V. 100, № 1. - P. 47–75.

Hanba Y.T., Shibasaka M., Hayashi Y., Hayakawa T., Kasamo K., Terashima I., Katsuhara M. Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants // *Plant Cell Physiol.* - 2004. - V. 45, № 5. - P. 521–529.

Hansen H., Dorffling K. Root-derived trans-zeatin riboside and abscisic acid in drought-stressed and rewatered sunflower plants: interaction in the control of leaf diffusive resistance?//*Func. Plant Biol.* - 2003. - V. 30. - P. 365-375.

Hare P.D., Cress W.A., van Staden J. The involvement of cytokinins in plant responses to environmental stress // *Plant Growth Regul.* - 1997. - V. 23. -P.79-103.

Hare P.D., Van Staden J. Cytokinin oxidase: biochemical features and physiological significance//*Physiol. Plant.* - 1994. - V. 91. - P. 128-136.

Harris M.J., Dugger W.M. The Occurrence of abscisic acid and abscisyl-fl-D-glucopyranoside in developing and mature citrus fruit as determined by enzyme immunoassay // *Plant Physiol.* - 1986. - V. 82. - P. 339-345.

Hartig K., Beck E. Crosstalk between auxin, cytokinins and sugars in the plant cell cycle//Plant Biol. - 2006. - V. 8. - P. 389–396.

Hartung W. The site of action of abscisic acid at the guard cell plasmalemma of *Vaierianella locusla*//Plant, Cell Environ. - 1983. - V. 6. -P. 427-428.

Hartung W., Sauter A., Hose E. Abscisic acid in the xylem: where does it come from, where does it go?//J. Exp. Bot. - 2002. - V. 53. - P. 27-32.

Heilmeier H., Schulze E.D., Jiang F., Hartung W. General relations of stomatal responses to xylem sap abscisic acid under stress in the rooting zone: a global perspective//Flora. - 2007. - V. 202. - P. 624–636.

Hendricks SB1, Taylorson RB. Promotion of seed germination by nitrate, nitrite, hydroxylamine, and ammonium salts// Plant Physiol. – 1974. – Sep;V. 54(3):. - P. 304-3099.

Henzler T., Waterhouse R. N., Smyth A. J., Carvajal M., Cooke D.T., Schaffner A.R., Steudle E., Clarkson D.T. Diurnal variations in hydraulic conductivity and root pressure can be correlated with the expression of putative aquaporins in the roots of *Lotus japonicus*//Planta. - 1999. - V. 210. - P. 50-60.

Henzler T., Ye Q., Steudle E. Oxidative gating of water channels (aquaporins) in *Chara* by hydroxyl radicals // Plant Cell Environ. – 2004. - V. 27.- P. 1184–1195.

Higuchi M., Pischke M.S., Mahonen A.P., Miyawaki K., Hashimoto Y., Seki M., Kobayashi K., Tabata K.S., Helariutta Y., Susman M.R., Kakimoto T.//In Planta function of the Arabidopsis cytokinin receptor family//Proceedings of the National Academy of Sciences USA. - 2004. - V. 101. - P. 8821-8826.

Hill A.E., Shachar-Hill B., Shachar-Hill Y. What are aquaporins For? // J Membrane Biol. - 2004. - V. 197., - P. 1–32.

Hirose N., Takei K., Kuroda T., Kamada-Nobusada T., Hayashi H., Sakakibara H. Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation//J. Exp. Bot. - 2008. - V. 59. - P. 75–83.

Hoad G.V. Effect of water stress on abscisic acid levels in white lupin (*Lapinus albus* L.) fruit, leaves and phloem exudates// Planta.- 1978. - V. 142. - P. 287-290.

Hodge A. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients//New Phytologist. - 2004. - V. 162. - P. 9-24.

Holbrook N. M., Zwieniecki M.A. Water gate. Flooding reduces the ability of roots to absorb water. The molecular basis for this paradox involves the regulation of water-channel proteins by the pH inside root cells//*Nature*. – 2003. - V. 425. – P. 361. doi:10.1038/425361a.

Holbrook N.M., Shashidhar V.R., James R.A., Munns R. Stomatal control in tomato with ABA-deficient roots: response of grafted plants to soil drying//*J. Exp. Bot.* - 2002.- V. 53. - P.1503-1514.

Hooker T.S., Thorpe T.A. Effects of fluridone and abscisic acid on lateral root initiation and root elongation of excised tomato roots cultured in vitro//*Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. - 1998. - V. 52. - P. 199–203.

Horgan R.// *Physiology and biochemistry of cytokinins in plants*/ Eds. Kaminek M., Mok D.W.S., Zazimalova E., The Hague:Academic Publishing, 1992. - P. 3-12.

Hose E., Steudle E., Hartung W. Abscisic acid and hydraulic conductivity of maize roots: a root cell- and pressure probe study // *Planta*. - 2000. - V. 211. - P. 874-882.

Hsiao T.C., Frensch J., Rojas-Lara B.A. The pressure – jump technique shows maize leaf growth to be enhanced by increases in turgor only when water status too high // *Plant Cell and Environ.* - 1998. - V. 21. - P. 33 – 42.

Hsiao T.C., Xu L.K. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport//*J. Exp. Bot.* - 2000. - V. 51. - P. 1595-1616.

Hwang I., Sakakibara H. Cytokinin biosynthesis and perception//*Physiol. Plant.* - 2006. - V. 126. - P. 528-538.

Incoll I.D., Roy J.P., Jewer P.C. Do cytokinins act as root to shoot signals//*In Importance of root to shoot communication in the responses to environmental stress*/Eds. Davies W.J., Jeffcoat B. /Monograph No. 21, Long Aston, Bristol, UK: British Society for Plant Growth Regulation. - 1990. - P. 185-199.

Incoll L.D., Jewer P.C. Cytokinins and stomata//*In Stomatal Function*/Eds. Zeiger E., Farquhar G.D., Cowan I.R. Stanford: Stanford University Press, 1987. - P. 281-292.

Iwanov L. Zur Methodic der Transpirations-bestimmung am Standort Ber//*Deutsch Bot. Geselee.* - 1928. - V. 46. - P. 306-310.

Jackson M. Are plants hormones involved in root to shoot communication?//Advanced in Botanical Research/Ed. J.A.Callow. Academic Press, 1993. - V. 19. - P. 103-187.

Jackson M.B. Ethylene-promoted Elongation: an adaptation to submergence stress//Ann. Bot. - 2008. - V. 101. – P. 229–248.

Jackson M.B. Long-distance signaling from roots to shoots assessed: the flooding story//J. Exp. Bot. - 2002. - V. 53. - P. 175-181.

James R.A., Munns R., von Caemmerer S., Trejo C., Miller C., Condon A.G. Photosynthetic capacity is related to the cellular and subcellular partitioning of Na⁺, K⁺ and Cl⁻ in salt-affected barley and durum wheat // Plant Cell Environ. - 2006. - V. 29. - P. 2185–2197.

Janicka-Russak M., Klobus G. Modification of plasma membrane and vacuolar H⁺-ATPases in response to NaCl and ABA // J Plant Physiol. - 2007. - V. 164. - P. 295—302.

Jarvis A.J., Davies W.J. Whole-plant ABA flux and the regulation of water loss in *Cedrella odorata* // Plant Cell Environ. – 1997. – Vol. 20. – P. 521-527.

Javot H., Lauvergeat V., Santoni V., Martin-Laurent F., Güçlü J., Vinh J., Heyes J., Franck K.I., Schäffner A.R., Bouchez D., Maurel C. Role of a single aquaporin isoform in root water uptake // Plant Cell. - 2003. - V. 15. - P. 509–522.

Jeschke W.D., Hartung W. Root-shoot interactions in mineral nutrition//Plant and Soil. – 2000. – V.226. – P. 57-69.

Jeschke W.D., Peuke A.D., Pate J.S., Hartung W. Transport, synthesis and catabolism of abscisic acid (ABA) in intact plants of castor bean (*Ricinus communis* L.) under phosphate deficiency and moderate salinity//J. Exp. Bot. - 1997.- V. 48. - P. 1737-1747.

Jia W., Zhang J., Liang J. Initiation and regulation of water deficit-induced abscisic acid accumulation in maize leaves and roots: volume and water relations // J Exp Bot. - 2001. - V. 52. - P. 295-300.

Jiang F., Hartung W. Long-distance signalling of abscisic acid (ABA): the factors regulating the intensity of the ABA signal//J. Exp. Bot. - 2008. - V.- 59. - P. 37–43.

Jiang F., Veselova S., Veselov D., Kudoyarova G., Jeschke W.D., Hartung W. Cytokinin flows from *Hordeum vulgare* to the hemiparasite *Rhinanthus minor* and the influence of infection on host and parasite cytokinins relations//Funct. Plant Biol. - 2005. - V. 32. - P. 619-629.

Johanson I., Larson C., Ek B., Kjellbom P. The major integral proteins of spinach leaf plasma membranes are putative aquaporins and are phosphorylated in response to Ca²⁺ and apoplastic water potential // *Plant Cell*. - 1996. - V. 8. - P. 1181-1191.

Jones H., Tomos A.D., Leith R.A., Jones R.G.W. Water relations of epidermal and cortical cells of the primary root of *Triticum aestivum* L.//*Planta*. - 1983. - V. 158. - P. 230-236.

Jones H.G. *Plants and microclimate* (2nd edition). – Cambridge: Cambridge university press, 1992.

Jones R., Schreiber B. Role and function of cytokinin oxidase in plants//*Plant Grow. Regul.* - 1997. - V. 23. - P. 123-134.

Kaiser W.M., Hartung W. Uptake and release of abscisic acid by isolated photoautotrophic mesophyll cells, depending on pH gradients//*Plant Physiol.* - 1981.- V. 68. - P. 202-206.

Kaldenhoff R., Fischer M. Aquaporins in plants // *Acta Physiol.* - 2006. - V. 187. - P. 169–176.

Kaldenhoff R., Fischer M. Functional aquaporin diversity in plants//*Biochimica et Biophysica Acta*. - 2006. - V. 1758. - P.1134–1141.

Kaldenhoff R., Ribas-Carbo M., Flexas J., Lovisoló C., Heckwölfl M., Uehlein U. Aquaporins and plant water balance//*Plant Cell Environ.* - 2008. - V. 31. -P. 658–666.

Karmoker J. L. Hormonal Regulation of Ion Transport in Plants. / *Hormonal Regulation of Plant Growth and Development // Advances in Agricultural Biotechnology Volume 16, 1985, pp 219-263*

Karmoker J. L. Van Steveninck R. F. M. The Effect of Abscisic Acid on the Uptake and Distribution of Ions in Intact Seedlings of *Phaseolus vulgaris* cv. Redland Pioneer // *Physiologia Plantarum*. – 1979. – V. 45., – I 4, P. 453–459.,

Karmoker J.L., Clarkson D.T., Saker L.R., Rooney J.M., Purves J.V. Sulphate deprivation depresses the transport of nitrogen to the xylem and the hydraulic conductivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) roots//*Planta*. - 1991. - V. 185. - P. 269-278.

Kefu Z, Munns R, King RW Abscisic acid levels in NaCl treated barley, cotton, and saltbush.// *Aust J Plant Physiol.* – 1991. – V. 18., - P. 17-26.

Keller C. P., Van Volkenburgh E. Evidence that auxin-induced growth of tobacco leaf tissues does not involve cell wall acidification // *Plant Physiol.* - 1998. - V. 118. - P. 557–564.

Keller C.P., Volkenburgh E. Auxin-induced epinasty of tobacco leaf tissues. a nonethylene-mediated response // *Plant Physiol.* - 1997. - V. 113. - P. 603-610.

Kiba T., Kudo T., Kojima M., Sakakibara H. Hormonal control of nitrogen acquisition: roles of auxin, abscisic acid, and cytokinin//*J. Exp. Bot.* - 2011. - V. 62. - P. 1399–1409.

Kiba T., Naitou T., Koizumi N., Yamashino T., Sakakibara H., Mizuno T. Combinatorial microarray analysis revealing Arabidopsis genes implicated in cytokinin responses through HisAsp phosphorelay circuitry//*Plant and Cell Physiol.* - 2005.- V. 46. - P. 339–355.

Kjellbom P., Larsson C., Johansson I. et al. Aquaporins and water homeostasis in plants//*Trends in Plant Sci.* - 1999. - V.4. - P. 308–314.

Krol E., Trebacz K. Ways of Ion Channel Gating in Plant Cells//*Ann. Bot.* - 2000. - V. 86. - P. 449-469.

Krouk G, Ruffel S., Gutierrez R.A., Gojon A., Crawford N.M., Coruzzi G.M., Lacombe B. (2011) A framework integrating plant growth with hormones and nutrients.// *Trends Plant Sci.* – 2011. - V. 16:. - P. 178–182.

Kuderova A., Urbankova I., Valkova M., Malbeck J., Brzobohaty B., Nemethova D., Hejatk J. Effects of conditional IPT-dependent cytokinin overproduction on root architecture of arabidopsis seedlings//*Plant Cell Physiol.* - 2008. - V. 49. - P. 570–582.

Kudo T., Kiba T., Sakakibara H. Metabolism and long-distance translocation of cytokinins//*J. Integr. Plant Biol.* - 2010. - V. 52. - P. 53–60.

Kudoyarova GR, Farkhutdinov RG, Veselov SY. 1997. Comparison of the effects of nitrate and ammonium forms of nitrogen on auxin content in roots and the growth of plants under different temperature conditions.// *Plant Growth of Regulation.* - 1997. – V. 23:. - P. 207–208.

Kudoyarova G.R., Farhutdinov R.G., Mitrichenko A.N. Veselova S.V., Dedov A. V. Effect of temperature increase on transpiration, leaf growth and hormone content in wheat seedlings /, // *Plant Physiol.* – 2000. – Vol. 38. – S08-36.

Kudoyarova G., Dedov A., Farhutdinov R., Veselova S. Fast changes in leaf growth rate of wheat plants as an indicator of water relations at increased temperature// *J. Experim. Botany.* – 2001. – Vol. 52. – P. 27.

Kudoyarova G., Veselova S., Hartung W., Farhutdinov R., Veselov D., Sharipova G. Involvement of root ABA and hydraulic conductivity in the control of water relations in wheat plants exposed to increased evaporation demand// *Planta*. - 2011. - V. 233. -P. 87-94.

Kudoyarova G.R., Korobova A.V., Akhiyarova G.R., Arkhipova T.N., Zaytsev D.Yu, Prinsen E., Egutkin N.L., Medvedev S.S. , Veselov S.Yu. 2014. Accumulation of cytokinins in roots and their export to the shoots of durum wheat plants treated with the protonophore carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone (CCCP)// *Journal of Experimental Botany*. – 2014. - V. 65, № 9.. – P. 2287-2294.

Kuiper D., Schuit J., Kuiper P.J.C. Effects of internal and external cytokinin concentrations on root growth and shoot to root ratio of *Plantago major* ssp *pleiosperma* at different nutrient conditions//*Plant and Soil*. - 1988. - V. 111. -P. 231-236.

Kuiper D., Staal M. The effects of endogenously applied plant growth substances on the physiological plasticity in *Plantago major* ssp. *pleiosperma*: responses of growth, shoot to root ratio and respiration//*Physiol. Plant*. - 1987. - V. 69. - P. 651-658.

Kurakawa T., Ueda N., Maekawa M., Kobayashi K., Kojima M., Nagato Y., Sakakibara H., Kyojuka J. Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin-activating enzyme//*Nature*. - 2007. - V. 445. - P. 652–655.

Kuroha T., Kato H., Asami T. Yoshida S., Kamada H., Satoh S. A trans-zeatin riboside in root xylem sap negatively regulates adventitious root formation on cucumber hypocotyls//*J. Exp. Bot*. – 2002. - V. 53. – P. 2193-2200.

Kusnetsov V. V., Oelmueller R., Sarwat M.J., Porfirova S.A., Cherepneva G.N., Herrmann R.G., Kulaeva O.N. Cytokinins, abscisic acid and light affect accumulation of chloroplast proteins in *Lupinus luteus* cotyledons without notable effect on steady-state mRNA levels//*Planta*. - 1994. - V. 194. - P. 318-327.

Kusnetsov V., Landsberger M., Meurer J., Oelmuller R. The assembly of the CAAT-box binding complex at a photosynthesis gene promoter is regulated by light, cytokinin, and the stage of the plastids//*J. Biological Chemistry*. - 1999. - V. 274. - P. 36009-36014.

Lafitte H.R., Yongsheng G., Yan S., Li Z.K. Whole plant responses, key processes, and adaptation to drought stress: the case of rice//*J. Exp. Bot*. - 2007.- V. 58. - P. 169–175.

LeNoble M.E., Spollen W.G., Sharp R.E. Maintenance of shoot growth by endogenous ABA: genetic assessment of the involvement of ethylene suppression//Journal of Experimental Botany. – 2004. – V. 55. – P. 237-245.

Leopold A.C., Noodén, L.D. Hormonal regulatory systems in plants//In Hormonal Regulation of Development II, Encyclopedia of Plant Physiology. New Series/Edited by Scott T.K. Springer-Verlag, Berlin. - 1984. - V. 10. -P. 4–22.

Letham D.S., Palni L.M.S. The biosynthesis and metabolism of cytokinins//Ann. Rev. Plant Physiol. - 1983. - V.34. - P. 163-197.

Lewis OAM, James DM, Hewitt EJ. 1982. Nitrogen assimilation in barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Mazurka) in response to nitrate and ammonium nutrition//. Annals of Botany. - 1982. – V. 49,. P. 39-49.

Lian H.-L., Yu X., Ye Q., Ding X.-S., Kitagawa Y., Kwak S.-S., Su W.-A, Tang Z.-C. The role of aquaporin RWC3 in drought avoidance in rice // Plant Cell Physiol. - 2004. - V. 45. - № 4. P. 481–489.

Liang J., Zhang J., Wong M.H. How do roots control xylem sap ABA concentration in response to soil drying// Plant And Cell Physiology. - 1997.- V.38.- P. 10-16.

Link B.M., Cosgrove D.J. Acid – growth response and α - expansins in suspension cultures of bright – yellow 2 tobacco // Plant Physiol. - 1998. - V. 118. - P. 907 – 916.

Lips S.H. The role of inorganic nitrogen ions in plant adaptation processes//Russian J. Plant Physiol. - 1997. - V. 44. - P. 421-431.

Liu F., Jensen C.R., Andersen M. N. Pod set related to photosynthetic rate and endogenous ABA in soybeans subjected to different water regimes and exogenous ABA and BA at early reproductive stages//Ann. Bot. - 2004.- V. 94. - P. 405-411.

Liu X.H., Huang B.R. Cytokinin effects on creeping bent grass response to heat stress. II. Leaf senescence and bent grass response and antioxidant metabolism//Crop Sci. - 2002. - V. 42. - P. 466-472.

Ljung K., Hull A. K., Celenza J., Yamada M., Estelle M., Normanly J., Sandberg G. Sites and regulation of auxin biosynthesis in Arabidopsis roots//The Plant Cell. - 2005. - V. 17. - P. 1090-1104.

Lopez F., Bousser A., Sissoëff I., Gaspar M. , Lachaise B., Hoarau J., Mahé A. Diurnal regulation of water transport and aquaporin gene expression in maize roots: contribution of PIP2 proteins // Plant Cell Physiol. - 2003. - V. 44. № 12.- P. 1384–1395.

Loveys B.R., During H. Diurnal changes in water relations and abscisic acid in field grown *Vitis vinifera* cultivars. II. Abscisic acid changes under semiarid conditions//*New Phytol.* - 1984. - V. 97. - P. 37-47.

Lu J, Ertl JR, Chen C. (1992) Transcriptional regulation of nitrate reductase mRNA levels by cytokinin-abscisic acid interactions in etiolated barley leaves.// *Plant Physiol.* – 1992. – V. 98:. – P. 1255–1260.

Lu Z., Neumann P. Water-stressed maize, barley and rice seedlings show species diversity in mechanisms of leaf inhibition // *Journal of Experimental Botany.* - 1998. - V. 49. - P. 1945-1952.

Luan S. Signalling drought in guard cells// *Plant, Cell Environ.* - 2002. - V. 25. - P. 229–237.

Makela P., Munns R., Colmer T.D., Peltonen-Sainio P. Growth of tomato and an ABA-deficient mutant (*sitiens*) under salinity // *Physiol Plant.* – 2003. - V. 117. - P. 58–63.

Malone M. Hydraulic signals//*Phil. Trans. R. Soc Lond.* - 1993. - V. 341. - P. 33-39.

Mansfield T.A., Hetherington A.M., Atkinson C.J. Some current aspects of stomatal physiology//*Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* - 1990.- V. 41. - P. 55-75.

Mansfield T.A., McAinsh M.R. Hormones as regulators of water balance//*In Plant Hormones/Ed. P. J. Davies, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht Berlin London.* - 1995. - P. 598-616.

Markhart, A. Penetration of Soybean soybean Root root Systems systems by Abscisic abscisic Acid acid Isomers isomers// *1 Plant Physiol.* - Jun 1982;. – V. 69.(6): – P. 1350–1352.

Marschner H, Kirkby EA, Engels C. 1997. Importance of cycling and recycling of mineral nutrients within plants for growth and development.// *Botanica Acta* 1997. – V. 110:. – P. 265–273.

Martin T., Oswald O., Graham I.A. Arabidopsis seedling growth, storage mobilization, and photosynthetic gene expression are regulated by carbon: nitrogen availability//*Plant Physiol.* - 2002. - V. 128. - P. 472-481.

Martin-Vertedor A., Dodd I. Root-to-shoot signalling when soil moisture is heterogeneous: increasing the proportion of root biomass in drying soil inhibits leaf growth and increases leaf abscisic acid concentration//*Plant, Cell Environ.* – 2011. - V. 34. – P. 1164-1175.

Matsuda K., Riazi A. Stress-induced osmotic adjustment in growing regions of barley leaves//Plant Physiology. - 1981. - V. 68. - P. 571-576.

Matthews M.A., Van Volkenburgh E., Boyer J.S. Acclimation of leaf growth to low water potentials in sunflower // Plant Cell Environment. - 1984. - V.7. - P. 199-206.

Maurel C. Aquaporins and water permeability of plant membranes // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. - 1997. - V. 48. - P. 399-429.

Maurel C., Verdoucq L., Luu D-T., Santoni V. Plant Aquaporins/aquaporins: Membrane membrane Channels channels with Multiple multiple Integrated integrated Functions functions // Annu. Rev. Plant Biol.- 2008. - V. 59. - P. 595-624.

McGow B.A. Cytokinin Metabolism//Cytokinins: plant hormones in search of a role/Eds Horgan R., Jeffcoat B. Bristol: British Plant Growth Regulator Group. - 1995. - P. 9-17.

McKenzie M.J., Mett V., Hugh P., Reynolds S., Jameson P.E. Controlled cytokinin production in transgenic tobacco using a copper-inducible promoter//Plant Physiol. - 1998.- V. 116. - P. 969-977.

McQueen-Masson S.J., Rochange F. Expansins in plant growth and development: an update on an emerging topic // Plant Biol. - 1999. - V. 1. - P. 1-7.

McQueen-Mason S., Durachko D.M., Cosgrove D.J., Two endogenous proteins that induce cell wall expansion in plants // Plant Cell. - 1992. - V. 4. - P. 1425-1433.

McQueen-Mason S.J. Expansins and cell wall expansion // J Exp Bot. - 1995. - V. 46. № 292.- P. 1639-1650.

Mees G.C., Weatherley P.E. The mechanism of water absorption by roots//Proceedings of The Royal Society of London, Series B. - 1957. - V. 147. - P. 367-380.

Meinzer F.C. Co-ordination of vapour and liquid phase water transport properties in plants//Plant, Cell Environ. - 2002. - V. 25. - P. 265-274.

Meychik N.R., Yermakov I.P. A new approach to the investigation on the ionogenic groups of root cell walls//Plant Soil. - 1999. - V. 217. - P. 257-264.

Miller C. O., Skoog F., Okumura F. S., Von Saltza M., Strong F.W. Isolation, structure and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division//J. American Chemical Society. - 1956. - V. 11. - P. 118-131.

Mingo D.M., Theobald J.C., Bacon M.A., Davies W.J., Dodd I.C. Biomass allocation in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown under partial rootzone drying: enhancement of root growth//Func. Pl. Biol. - 2004. - V. 31. - P. 971-978.

Miyawaki K., Matsumoto-Kitano M., Kakimoto T. Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in *Arabidopsis*: tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate//Plant J. - 2004. - V. 37. - P. 128-138.

Mok D.W.S., Mok M.C. Cytokinin metabolism and action//Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. - 2001. - V. 52. - P. 89-118.

Moons A., Bauw C., Prinsen E., Van Montagu M., Van Der Straeten D. Molecular and physiological responses to abscisic acid and salts in roots of salt-sensitive and salt-tolerant indica rice varieties // Plant Physiol. - 1995. - V. 107. - P. 177-186.

Morillon R., Chrispeels M.J. The role of ABA and the transpiration stream in the regulation of the osmotic water permeability of leaf cell // PNAS USA. - 2001. - P. 14138-14143.

Morris P. C. MAP kinase signal transduction pathways in plants//New Phytologist. - 2001.- V. 151. - P. 67-89.

Motyka V., Faiss M., Strnad M., Kaminek M., Schmulling T. Changes in cytokinin content and cytokinin oxidase activity in response to derepression of *ipt* gene transcription in transgenic tobacco calli and plants//Plant Physiol. - 1996. - V. 112. - P. 1035-1043.

Muller B., Bourdais G., Reidy B., Bencivenn C., Massonneau A., Condamine P., Rolland G., Conejero G., Rogowsky P., Tardieu F. Association of specific expansins with growth in maize leaves is maintained under environmental, genetic, and developmental sources of variation // Plant Physiol. - 2007. - V. 143. - P. 278-290.

Munns R. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses // Plant Cell Environ. - 1993. - V. 16. - P. 15-24.

Munns R., Husain S., Rivelli AR., James RA., Condon AG., Lindsay MP, Lagudah ES., Schachtman DP., Hare RA. Avenues for increasing

salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits // *Plant and Soil*. - 2002. - V. 247. - P. 93-105.

Munns R., Passioura J.B., Guo J., Chazen, Gramer G.R. Water relations and leaf expansion: importance of time scale//*J. Exp. Bot.* - 2000.- V. 51. - P. 1495–504.

Neuman D.S., Rood S.B., Smit B.A. Does cytokinin transport from root-to-shoot in the xylem sap regulate leaf responses to root hypoxia?//*J. Exp. Bot.* - 1990.- V. 41. - P. 1325-1333.

Neumann P. Salinity resistance and plant growth revisited // *Plant Cell Environ.* - 1997. - V. 20. - P. 1193-1198.

Niinemets U., Tenhunen J.D. A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*//*Plant, Cell Environ.* - 1997. - V.20. - P.845-866.

Nishiyama R, Watanabe Y, Fujita Y, Le DT, Kojima M, Werner T, Vankova R, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Kakimoto T, et al. (2011) Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis.// *Plant Cell*. – 2011. – V. 23:.. – P. 2169–2183.

Nonami H., Boyer J.S. Primary events regulating stem growth at low water potentials // *Plant Physiol.* - 1990. - V. 94. - P. 1601-1609.

Nooden L.D., Guiamet J.J., Singh S., Letham D.S., Tsui J., Schneider M.J. Hormonal control of senescence//*Plant Growth Substances*/Eds Pharis R.P., Rood S.B. Springer-Verlag, New York. - 1990. - P. 537-546.

Nooden, L.D., Guiamet J.J., John I. Senescence mechanisms // *Physiol. Plant.* - 1997. - V. 101. - V. 746-753.

Nordstrom A., Tarkowski P., Tarkowski D., Norbaek R., Astot C., Dolezal K., Sandberg G. Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin-cytokinin-regulated development//*Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. - 2004.- V. 101. - P. 8039-8044.

Outlaw W.H., Hite D.R., Zhang S.Q. Molecular, cellular, and plant mechanisms of ABA control of stomatal aperture size// *Karssen C.M., van Loon L.C. and Vreugdenhil D. Progress in Plant Growth Regulation*. - Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1992. - P. 474-485.

P. 1385-1392.

Palmer J.D. Comparative organization of chloroplast genomes.// *Annu Rev Genet.* – 1985. – V. 19.: – P. 325–354.

Palmer S., Berridge D., Mac Donald A., Davies W. Control of leaf expansion in sunflower by nitrogen nutrition//*J. Exp. Bot.* - 1996.- V. 47. - P. 359-368.

Parent B., Hachez C., Redondo E., Simonneau T., Chaumont F., Tardieu F. Drought and abscisic acid effects on aquaporin content translate into changes in hydraulic conductivity and leaf growth rate: a trans-scale approach//*Plant Physiol.* - 2009.- V. 149. - P. 2000–2012.

Parry A.D., Griffiths A., Horgan R. Abscisic acid biosynthesis in roots. II. The effects water-stress in wild-type and abscisic acid-deficient mutant (*notabilis*) plants of *Lycopersicon esculentum* Mill. // *Planta.* - 1992. - V. 187. - P. 192-197.

Passioura J.B. Water transport in and to roots//*Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* - 1988. - V. 39. - P. 245-256.

Pastor A., Lopez – Carbonell M., Alegre L. Abscisic acid immunolocalization and ultrastructural changes in water – stressed lavender (*Lavandula stoechas* L.) plants // *Physiologia Plantarum.* - 1999. - V. 105. - P. 272-279.

Paul M.J., Driscoll S.P. Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signaling nitrogen deficiency through source:sink imbalance//*Plant, Cell Environ.* - 1997. - V. 20. - P. 110-116.

Paul M.J., Pellny T.K. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development//*J. Exp. Bot.* - 2003. - V. 54. - P. 539-547.

Peña T.C., Cárcamo C.B., Almonacid L., Zaballos A., Lucas M.M., Balomenos D., Pueyo J.J.A Salt stress-responsive cytokinin receptor homologue isolated from *Medicago sativa* nodules // *Planta.* - 2008. - V. 227. - P. 769–779.

Pierce M., Raschke K. Correlation between loss of turgor and accumulation of abscisic acid in detached leaves // *Planta.* - 1980. - V. 148. - P. 174-182.

Pierik R., Sasidharan R., Voesenek L.A.C.J. Growth control by ethylene: adjusting phenotypes to the environment//*J. Plant Growth Regul.* - 2007. - V. 26. -P. 188–200.

Pilet P.E., MC Elliorr, MM Moloney Endogenous and exogenous auxin in the control of root growth// *Planta*. – 1979. – V. 146. – P. 405-408.

Poorter H., Nagel O. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review// *Aust. J. Plant Physiol.* - 2000. - V. 27. - P. 595-607.

Popova L.P., Outlaw W.H., Aghoram K., Hite D. R. C. Abscisic acid – an intraleaf water-stress signal// *Physiologia Plantarum*. - 2000. - V. 108. - P. 376–381.

Popova L.P.; Tsonev T.D.; Lazova G.N.; Stoinova Z.G. Drought- and ABA-induced changes in photosynthesis of barley plants// *Physiologia Plantarum*. - 1996. - V. 96, №. 4. -P. 623-629.

Preston G.M., Carroll T.P., Guggino W.B., Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein// *Science*. - 1992. - V. 256. - P. 385–387.

Proseus T.E., Boyer J.S. Identifying cytoplasmic input to the cell wall of growing *Chara corallina* // *J. Exp. Bot.* - 2006. - V. 57., - №. 12. P. 3231–3242.

Puig J, Pauluzzi G, Guiderdoni E, Gantet P. 2012. Regulation of shoot and root development through mutual signalling// *Molecular Plant*. - 2012. V. 5., – P. 974–983.

Quarrie S.A., Whitford, P.N., Appleford, N.E.J., Wang, T.L., Cook, S.K., Henson, I.E. and Loveys, B.R. A monoclonal antibody to (S)-abscisic acid: its characterisation and use in a radioimmunoassay for measuring abscisic acid in crude extracts of cereal and lupin leaves // *Planta*. - 1988. - V. 173. - P. 330–339.

Radin J.W., Ackerson R.C. Water relations of cotton plants under nitrogen deficiency// *Plant Physiology*. - 1981. – V.67. – P. 115-119.

Radin J.W., Boyer J.S. Control of leaf expansion by nitrogen nutrition in sunflower plants// *Plant Physiol.* - 1982. - V. 69. - P. 771-775.

Radin J.W., Eidenbock M.P. Hydraulic conductance as a factor limiting leaf expansion of phosphorus-deficient cotton plants// *Plant Physiol.* - 1984. - V. 75. - P. 372-377.

Radin J.W., Matthews M.A. Water transport properties of cortical cells in roots of nitrogen- and phosphorus-deficient cotton seedlings// *Plant Physiol.* - 1989. - V. 89. - P. 264-268.

Rahayu Y.S., Walch-Liu P., Neumann G., Romheld V., von Wiren N., Bangerth F. Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO₃-induced stimulation of leaf growth//*J. Exp. Bot.* - 2005.- V. 56. - P. 1143–1152.

Rayle D.L., Cleland R.E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well // *Plant Physiol.* - 1992. - V. 99. - P. 1271 - 1274.

Redig P., Shaul O., Inz D., Van Montagu M., Van Onckelen H. Levels of endogenous cytokinins, indole-3-acetic acid and abscisic acid during the cell cycle of synchronized tobacco BY-2 cells//*FEBS Letters.* - 1996. - V. 391. - P. 175–180.

Reich P.B., Kloeppel B.D., Ellsworth D.S., Walters M.B. Different photosynthesis-nitrogen relations in deciduous hardwood and evergreen coniferous tree species//*Oecologia.* - 1995. - V.104. - P. 24-30.

Reich P.B., Walters M.B., Ellsworth D.S. From tropics to tundra: global convergence in plant functioning//*Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* - 1997. - V. 94. -P. 13730-13734.

Reinecke, D.M. R.S. Bandurski. 1987. Auxin biosynthesis and metabolism. In *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development*. Ed. P.J. Davies. Martinus Nijhoff Publ. pp 24-42.

Reski R. Small molecules on the move: homeostasis, crosstalk, and molecular action of phytohormones//*Plant Biol.* - 2006. - V.8. - P. 277-280.

Ribaut G-M., Pilet P-E. Effects of water stress on growth osmotic potential and abscisic acid content of maize roots // *Plant Physiol.* - 1991. - V. 81, N 1. - P. 156-162.

Riefler M., Novak O., Strnad M., Schmulling T. Arabidopsis cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism//*The Plant Cell.* - 2006. - V. 18. - P. 40-54.

Roelfsema M.R.G., Hedrich R. In the light of stomatal opening: newinsights into 'the watergate'//*New Phytol.* - 2005. - V. 167. - P. 665–691.

Roelfsema M.R.G., Konrad K.R., Marten H., Psaras G.K., Hartung W., Hedrich R. Guard cells in albino leaf patches do not respond to photosynthetically active radiation, but are sensitive to blue light, CO₂, and abscisic acid//*Plant Cell Environ.* - 2006. - V. 29. - P. 1595–1605.

Rolland F., Baena-Gonzalez E., Sheen J. Sugar sensing and signalling in plants: conserved and novel mechanisms//Ann. Review Plant Biol. - 2006. - V. 57. - P. 675–709.

Romanov G.A., Lomin S.N., Schmulling T. Biochemical characteristics and ligand-binding properties of Arabidopsis cytokinin receptor ANK3 compared to CRE1/ANK4 as revealed by a direct binding assay//J. Exp. Bot. – 2006.– V. 57. – P. 4051-4058.

Romanto C.P., Robson P.R.H., Smith H., Estelle M., Klee H.J. Transgene mediated auxin overproduction in Arabidopsis // Plant. Mol. Biol. - 1995. - V. 27. - P. 1071- 1083.

Saab I.N., Sharp R.E., Pritchard J., Voetberg G.S. Increased endogenous abscisic acid maintains primary root growth and inhibits shoot growth of maize seedlings at low water potentials//Plant Physiol. - 1990.- V. 93. - P. 1329-1336.

Saha, K. C., Sannigrahi, S., Mandal, L. N. Effect of review/synthèse inoculation of Azospirillum lipoferum on nitrogen fixation in rhizosphere soil, their association with roots, yield and nitrogen uptake by mustard (Brassica juncea). // Plant Soil,. - 1985. – V. 87. -: P. 273-280.

Sakakibara H, Takei K, Hirose N. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development.// Trend Plant Sci. - 2006. – V. 11. - P. 440–448.

Sakakibara H. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation//Ann. Rev. Plant Biol. - 2006. - V. 57. – P. 431–449.

Salah H, Tardieu F. Quantitative analysis of the combined effects of temperature, evaporative demand and light on leaf elongation rate in well-watered field and laboratory-grown maize plants // J. Exp. Bot. - 1996. - V. 47. - P. 1689-1698.

Salama A., Wareing P.F. Effects of mineral nutrition on endogenous cytokinins in plants of sunflower (*Helianthus annuus* L.)/J. Exper. Bot. – 1979. – V. 30. – P.971-981.

Salisbury F.B., Marinos N.G. The ecological role of plant growth substances//Hormonal regulation of development. III. Berlin etc.: Springer-Verlag, 1985. - P. 707-764.

Salisbury F.J., Hall A., Grierson C.S., Halliday K.J. Phytochrome coordinates Arabidopsis shoot and root development//Plant J. - 2007.- V. 50. - P. 429–438.

Salopek-Sondi B, Šamec D, Mihaljević S, Smolko A, Pavlović I, Janković I, Ludwig-Müller J. Influence of stress hormones on the auxin homeostasis in *Brassica rapa* seedlings.// *Plant Cell Rep.* – 2013. - V.(7).: – P. 1031-1042.

Santamaria P., Elia A. Producing nitrate-free endive heads: effect of nitrogen form on growth, yield, and ion composition of endive//*Journal of the American Society for Horticultural Science.* – 1997. – V.122. – P.140-145.

Sattelmacher B., Gerendas J., Thoms K., Bruck H., Bagdady N.H. Interaction between root growth and mineral nutrition//*Environmental and Experimental Botany.* – 1993. – V.33. – P. 63-73.

Sauter A., Dietz K.J., Hartung W A possible stress physiological role of abscisic acid conjugates in root to shoot signaling//*Plant, Cell Environ.* - 2002. - V. 25. - P. 223-228.

Sauter A., Hartung W. Radial transpora of abscisic acid conjugates in maize roots: its implication for long distance stress signals//*J. Exp Bot.* - 2000. - V. 51. -P. 929-935.

Scheible W.R., Gonzalez-Fontes A., Lauerer M., Müller-Röber B., Caboche M., Stitt M. Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco//*The Plant Cell.* - 1997. – V. 9. – P. 783-798.

Serpe M.D., Matthews M.A. Rapid changes in cell wall yielding of elongating *Begonia argenteo-gutta* L. leaves in response to changes in plant water status // *Plant Physiol.* - 1992. - V. 100. - P. 1852-1857.

Sharp R. E. Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress//*Plant cell Environment.* - 2002. - V. 25. - P. 211-222.

Sharp R., LeNoble M. ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress//*J. Exp. Bot.* - 2002. - V. 53. – P. 33-37.

Shashidhar V.R., Prasad T.G., Sudharshan L. Hormone signals from roots to shoots of sunflower (*Helianthus annuus* L). Moderate soil drying increases delivery of abscisic acid and depresses delivery of cytokinins in xylem sap//*Annals Bot.* - 1996. - V. 78. - P. 151-155.

Siefritz F., Tyree M.T., Lovisollo C., Schubert A., Kaldenhoff R. PIP1 plasma membrane aquaporins in tobacco: from cellular effects to function in plants // *Plant Cell.* - 2002. - V. 14. - P. 869.-876.

Signora L., Smet I. De, Foyer C.H., Zhang H. ABA plays a central role in mediating the regulatory effects of nitrate on root branching in *Arabidopsis*//*Plant J.* – 2001.- V. 28. – P. 655–662.

Silva T., Davies P.J. Elongation rates and endogenous indoleacetic acid levels in roots of pea mutants differing in internode length// *Physiologia Plantarum.* – 2007. -V. 129:.- P. 804–812. 2007

Singh S., Letham D.S., Zhang X., Palni I.M.S. Cytokinin biochemistry in relation to leaf senescence. VI. Effect of nitrogenous nutrients on cytokinin levels and senescence of tobacco leaves//*Physiol. Plant.* - 1992. - V. 84. - P. 262-268.

Siopongco J.DLC, Sekiya K., Yamauchi A., Egdane J., Ismail A.M., Wade L.J. Stomatal responses in rainfed lowland rice to partial soil drying; Evidence for root signals//*Plant prod. Sci.* – 2008. - V. 11. – P. 28-41.

Slovik S., Daeter W., Hartung W. Compartmental redistribution and long-distance transport of abscisic acid (ABA) in plants as influenced by environmental changes in the rhizosphere —a biomathematical model//*J. Exp. Bot.* - 1995.- V. 46. – P. 881-894.

Smith H., Whitelam G.C. The shade avoidance syndrome: multiple responses mediated by multiple phytochromes//*Plant, Cell Environ.* - 1997. - V. 20. – P. 840-844.

Sobeih W.Y., Dodd I.C., Bacon M.A., Grierson D., Davies W.J. Long-distance signals regulating stomatal conductance and leaf growth in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants subjected to partial root zone drying//*J Exp. Bot.* - 2004.- V.55. -P. 2353-2363.

Sobrado M. A. Relationship of water transport to anatomical features in the mangrove *Laguncularia racemosa* grown under contrasting salinities//*New Phytologist.* – 2007. - V. 173. - P. 584–591.

Sohan D., Jasoni R., Zajicek J. Plant – water relations of NaCl and calcium – treated sunflower plants// *J. of Exp. Bot.*- 1999.- V. 42.- P. 105-111.

Sotta B., Sossountzov L., Maldiney R., Sabbagh I., Tachon P., Miginiac E. Abscisic acid localization by light microscopic immunohistochemistry in *Chenopodium polyspermum* L. Effect of water stress // *J. Histochem. Cytochem.* -1985. - V. 33. - P. 201-208.

Spichal L., Rakova N.Y., Riefler M., Mizuno T., Romanov G.A., Strand M., Schmullig T. Two cytokinin receptors of *Arabidopsis thaliana*, CRE1/ANK4 and ANK3, differ in their ligandspecificity in a bacterial assay//*Plant and Ccell Pphysiology.* – 2004. - V. 45. – P. 1299-1305.

Spollen W.G., LeNoble M.E., Samuels T.D., Bernstein N., Sharp R.E. Abscisic acid accumulation maintains maize primary root elongation at low water potentials by restricting ethylene production//Plant Physiology. - 2000. - V. 122. -P. 967-976.

Srivastava H S Regulation of nitrate reductase activity in higher plants.// Phytochemistry. – 1980. – V. 19,. – P. 725-733.

Steudle E, Peterson C.A How Does Water Get Through Roots? // J Exp Bot. - 1998. - V. 49. - P. 775-788.

Steudle E. Water uptake by roots: effects of water deficit // J. Exp. Bot. - 2000. - V. 51. - P. 1531-1542.

Steudle E., Jescke WD. Water transport in barley roots // Planta. - 1983. - V. 177. - P. 281-295.

Stitt M., Feil R. Lateral root frequency decreases when nitrate accumulates in tobacco transformants with low nitrate reductase activity: consequences for the regulation of biomass partitioning between shoots and root//Plant and Soil. - 1999. - V. 215. - P. 143-153.

Stitt M., Müller C., Matt P., Gilbon Y., Carillo P., Morcuende R., Scheible W.-R., Krapp A. Steps towards an integrated view of nitrogen metabolism//J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53. – P. 959-970.

Studer C., Hu Y., Schmidhalte U. Evaluation of the differential osmotic adjustments between roots and leaves of maize seedlings with single or combined NPK-nutrient supply//Func. Plant Biol. – 2007.- V. 34. – P. 228-236.

Suga S., Komatsu S., Maeshima M. Aquaporin isoforms responsive to salt and water stresses and phytohormones in radish seedlings // Plant Cell Physiol. -2002. - V. 43. № 10.- P. 1229-1237.

Takahashi K., Hirata S., Kido N., Katou K. Wall-yielding properties of cell walls from elongating Cucumber hypocotyls in relation to the action of expansin//Plant Cell Physiol. – 2006.- V. 47, №11. – P. 1520-1529.

Takei K., Sakakibara H., Taniguchi M., Sugiyama T.A. Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: implication of cytokinin species that induced gene expression of Maize response regulator//Plant Cell Physiol. - 2001.- V. 42. - P. 85-93.

Takei K., Ueda N., Aoki K., Kuromori T., Hirayama T., Shinozaki K., Yamaya T., Sakakibara H. AtIPT3 is a key determinant of nitrate-

dependent cytokinin biosynthesis in Arabidopsis//Plant and Cell Physiol. - 2004.- V. 45. - P. 1053-1062.

Tallman G. Are diurnal patterns of stomatal movement the result of alternating metabolism of endogenous guard cell ABA and accumulation of ABA delivered to the apoplast around guard cells by transpiration?//J. Exp. Bot. – 2004.- V. 55, № 405. –P. 1963–1976.

Tanaka M., Takei K., Kojima M., Sakakibara H., Mori H. Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance//Plant J. - 2006.- V. 45. - P. 1028-1036.

Tanaka Y., Sano T., Tamaoki M., Nakajima N., Kondo N., Hasezawa S.. Ethylene inhibits abscisic acid-induced stomatal closure in Arabidopsis//Plant Physiol. – 2005. - V. 138. - P. 2337–2343.

Tang A., Boyer J.S. Growth-induced water potentials and the growth of maize leaves//J. Exp. Bot. – 2002. - V. 53. – P. 489-503.

Taniguchi H., Kiba T., Sakakibara T., Ueguchi C., Siguyama T. Expression of Arabidopsis response regulator homologs is induced by cytokinins and nitrate//FESB Letters. - 1998. - V. 429. – P. 259-262.

Tardieu F. Plant tolerance to water deficit: physical limits and possibilities for progress // Geoscience. - 2005. - V. 337. - P. 57–67.

Tardieu F., Davies W.J. Stomatal response to ABA is a function of current plant water status // Plant Physiol. – 1992. – V. 92. – P. 540-545.

Tardieu F., Parent B., Simonneau T. Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non-hydraulic processes?//Plant, Cell Environ. – 2010. - V. 33. –P. 636–647.

Teplava I., Veselov S., Kudoyarova G. Changes in ABA and IAA content in the roots and shoots of wheat seedlings under nitrogen deficiency//Root Demographics and Their Efficiencies in Sustainable Agriculture, Grasslands and Forest Ecosystems/Ed. J.E.Box, Jr., 1998. - P. 599-605.

Tester M., Davenport R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants // Ann. Bot. - 2003. - V. 91. - P. 503-527.

Thiel G., Lynch J., Lauchli A. Short – term effects of salinity stress on the turgor and elongation of growing barley leaves // J. Plant Physiol. - 1988. - V. 132. - P. 38 – 44.

Thomas H, James A.R., Humphreys M.W. Effects of water stress on leaf growth in tall fescue, Italian ryegrass and their hybrid: rheological

properties of expansion zones of leaves, measured on growing and killed tissue // *J. Exp. Bot.* -1999. - V. 50. - P. 221-231.

Thomas J.C., McElwain E.F., Bohnert H.J. Convergent induction of osmotic stress-responses: abscisic acid, cytokinin, and the effect of NaCl // *Plant Physiol.* - 1992. - V. 100. - P. 416 - 423.

Torrey J. G. Root hormones and plant growth// *Ann. Rev. Plant Physiol.* - 1976. – V. 27: – P. 435-459.

Trejo C.L., Davies W.J. Drought induced closure of *Phaseolus vulgaris* L. stomata precedes leaf water deficit and any increase in xylem ABA concentration//*J Exp Bot.* – 1991. - V. 42. – P. 1507–1515.

Trewavas A. How do plant growth substances work? // *Plant Cell Environ.* - 1981. - V. 4, № 1. - P. 203-228.

Tyree M.T., Ewers F.W. The hydraulic architecture of trees and other woody plants//*New Phytologist.* – 1991. - V. 119. – P. 345–360.

Van der Boon J., Steenhuizen J.W., Steingröver E.G. Growth and nitrate concentration of lettuce as affected by total nitrogen and chloride concentration, NH₄/NO₃ ratio and temperature of the recirculating nutrient solution//*Journal of Horticultural Science.* – 1990. – V. 65. – P. 309-321.

Van Der Werf A., and Nagel O.W. 1996. Carbon allocation to shoots and roots in relation to nitrogen supply is mediated by cytokinins and sucrose: Opinion// *Plant and Soil.* - 1996. – V. 185: – P. 21–32.

Vandeleur R., Christa Niemietz C., Joanne Tilbrook J., Stephen D., Tyerman S.D. Roles of aquaporins in root responses to irrigation // *Plant Soil.* - 2005. - V. 274. - P. 141–161.

Veselova S.V., Farhutdinov R.G., Veselov S.Yu., Kudoyarova G.R., Veselov D.S., Hartung W. The effect of root cooling on hormone content, leaf conductance and root hydraulic conductivity of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L.)//*J. Plant Physiol.* - 2005. - V. 162. - P. 21–26.

Vickova A., Spundova M., Kotabova E., Novotny R., Dolezal K., Naus J. Protective cytokinin action switches to damaging during senescence of detached wheat leaves in continuous light//*Physiol. Plant.* - 2006. - V. 126. - P. 257-267.

Vysotskaya L., Hedley P.E., Sharipova G., Veselov D., Kudoyarova G., Morris J., Jones H.G. Effect of salinity on water relations of wild barley plants differing in salt tolerance// *AoB Plants.* – (2010.) - Vol. 2010 plq006.

Vysotskaya L.B., Arkhipova T.N., Timergallina L.N., Dedov A.V., Veselov S.U., Kudoyarova G.R. Effect of partial root excision on transpiration, root hydraulic conductance and leaf growth in wheat seedlings // *Plant Physiol. Biochem.* - 2004. - V. 42. - P. 251-255.

Vysotskaya L.B., Korobova A.V., Veselov S.Y., Dodd I.C., Kudoyarova G.R. ABA mediation of shoot cytokinin oxidase activity: assessing its impacts on cytokinin status and biomass allocation of nutrient deprived durum wheat // *Func. Plant Biol.* - 2009. - V. 36. - P. 1–7.

Vysotskaya L.N., Timergalina L.N., Simonyan M.V., Veslov S.U., Kudoyarova G.R. Growth rate, IAA and cytokinin content of wheat seedlings after root pruning. // *Plant Grow Regul.* - 2001. - V. 33. - P. 51–57.

Walch-Liu P, Ivanov II , Filleur S, Gan Y, Remans T, Forde BG. 2006. Nitrogen regulation of root branching.// *Annals of Botany.* - 2006. - V. 97., – P. 875–881.

Walch-Liu P, Filleur S., Gan Y., Forde B.G. Signaling mechanisms integrating root and shoot responses to changes in the nitrogen supply//*Photosynthesis Research.* – 2005. -V. 83. – P. 239–250.

Wallace A., Frohlich A. Phosphorus deficiency symptoms in tobacco versus transpirational water loss//*Nature.* – 1965. – V. 208. – P. 123-124.

Wang YY, Hsu PK, Tsay YF. 2012. Uptake, allocation and signaling of nitrate.//*Trends in Plant Science.* – 2012. – V. 17., – P. 458–467.

Warren C.R. Stand aside stomata, another actor deserves centre stage: the forgotten role of the internal conductance to CO₂ transfer//*J. Exp. Bot.* - 2008. - V. 59, № 7. – P. 1475–1487.

Wartinger A., Heilmeyer H., Hartung W., Schulze E.D. Daily and seasonal courses of leaf conductance and abscisic acid in the xylem sap of almond trees [*Prunus dulcis* (Miller) D.A.Webb] under desert conditions//*The New Phytol.* - 1990. - V. 116. - P. 581-587.

Wasilewska A., Florina Vla, Caroline Sirichandr, Yulia Redko, Fabien Jammesc, Christiane Valona, Nicolas Frei dit Freya and Jeffrey Leunga. An update on abscisic acid signaling in plants and more...//*Molecular Plant.* - 2008. - V. 1. – P. 198–217.

Webb A.A.R., Baker A.J. Stomatal biology: new techniques, new challenges // *New Phytol.* - 2002. - V. 153 - P. 365 –370.

Wilkinson S., Bacon M.A., Davies W.J. Nitrate signalling to stomata and growing leaves: interactions with soil drying, ABA and xylem sap pH in maize//*J. Exp. Bot.* – 2007. - V. 58. – P. 1705–1716.

Wilkinson S., Clephan A.L., Davies W.J. Rapid low temperature-induced stomatal closure occurs in cold-tolerant *Commelina communis* leaves but not in cold-sensitive tobacco leaves, via a mechanism that involves apoplastic calcium but not abscisic acid // *Plant physiol.* - 2001. - V. 126. - P. 1566-1578.

Wilkinson S., Corlett J.E., Oger L., Davies W.J. Effects of xylem pH on transpiration from wild-type and flacca tomato leaves: a vital role for abscisic acid in preventing excessive water loss even from well-watered plants//*Plant Physiology.* – 1998. – V.117. – P. 703-709.

Wilkinson S., Davies W.J. Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community//*Plant Cell Environ.* – 2010. - V. 33. – P. 510–525.

Wilkinson S., Davies W. J. ABA-based chemical signalling: the coordination of responses to stress in plants//*Plant Cell Environ.* – 2002. - V. 25. – P. 195–210.

Wolf O., Jeschke W.D., Hartung W. Long distance transport of abscisic acid in NaCl – treated plants of *Lupinus albus* // *J Exp Bot.*- 1990.- V. 41.- P. 593-600.

Wright S.T., Hiron R.P. (+) Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting//*Nature.* - 1969. - V. 224. - P.719-720.

Wu Y., Meeley R.B., Cosgrove D.J. Analysis and expression of the alpha-expansin and beta-expansin gene families in Maize // *Plant Physiol.* - 2001. - V. 126. - P. 222 – 232.

Wu Y., Sharp R., Durachko D., Cosgrove D. Growth maintenance of the Maize primary root at low water potentials involves increases in cell wall extension properties, expansin activity, and wall susceptibility to expansins // *Plant Physiol.* - 1996. - V. 111. - P. 765-772.

Xiao-Ping S., Xi-Gui S. Cytokinin- and auxin-induced stomatal opening is related to the change of nitric oxide levels in guard cells in broad bean//*Phiologia Physiol Plantarum.* - 2006. - V. 128. - P. 569–579.

Xiong L., Zhu J.-K. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress// *Plant, Cell Environ.* - 2002. - V. 25. – P. 131–139.

Yamagami M., Haga K., Napier R.M., Iino M. Two distinct signaling pathways participate in auxin-induced swelling of pea epidermal Protoplasts // *Plant Physiol.* - 2004. - V. 134. - P. 735–747.

Yamaguchi M., Sharp R.E. Complexity and coordination of root growth at low water potentials: recent advances from transcriptomic and proteomic analyses//*Plant, Cell Environ.* - 2010. - V. 33. – P. 590–603.

Yang J., Zhang J., Wang Z., Zhu Q., Liu L. Abscisic acid and cytokinins in the root exudates and leaves and their relationship to senescence and remobilization of carbon reserves in rice subjected to water stress during grain filling//*Planta.* - 2002. - V. 215. – P. 645–652.

Yin C., Duan B., Wang X., Li C. Morphological and physiological responses of two contrasting Poplar species to drought stress and exogenous abscisic acid application//*Plant Science.* – 2004. - V. 167. - P. 1091-1097.

Zeevaart J.A.D., Creelman R.A. Metabolism and physiology of abscisic acid//*Annual Review of Plant Physiology.* - 1988. - V. 39. – P. 439-473.

Zhang H., Rong H., Pilbeam D. Signalling mechanisms underlying the morphological responses of the root system to nitrogen in *Arabidopsis thaliana*//*J. Exp. Bot.* – 2007. - V. 58. – P. 2329-2338.

Zhang J., Davies W.J. Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil//*Plant Cell Envir.* - 1989. - V. 12. -P. 73-81.

Zhang J., Davies W.J. Does ABA in the xylem control the rate of leaf growth in soil-dried maize and sunflower plants?// *J Exp. Bot.* - 1990.- V. 41. - P. 1125-1132.

Zhang R., Letham D.S., Willcocks D.A. Movement to bark and metabolism of xylem cytokinins in stems of *Lupinus angustifolius*//*Phytochemistry.* – 2002. - V. 60. –P. 483-488.

Zhu C., Schraut D., Hartung W., Schaffner A.R. Differential responses of maize MIP genes to salt stress and ABA // *J. Exp. Bot.* - 2005. - V. 56. - P. 2971 –2981.

Zubo Y.O., Yamburenko M.V., Selivankina S.Y., Shakirova F.M., Avalbaev A.M., Kudryakova N.V., Zubkova N.K., Liere K., Kulaeva O.N., Kusnetsov V.V., Borner T. Cytokinin stimulates chloroplast transcription in detached barley leaves//*Plant Physiol.* - 2008.- V. 148. - P. 1082–1093.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВОДНОГО ОБМЕНА И РОСТА РАСТЕНИЙ	6
Обмен сигналами между органами растения	6
Влияние гормональных и гидравлических сигналов на водный обмен растений	11
Регуляция роста растений при дефиците воды	24
Регуляция роста растений при дефиците питания	37
Регуляция ветвления корней	41
2. ГОРМОНАЛЬНЫЙ БАЛАНС И ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ ПРИ РАЗНЫХ УРОВНЯХ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ	45
Роль гормональной системы в формировании ростового ответа при разных концентрациях элементов минерального питания в среде	45
Роль субстратных, гидравлических и гормональных сигналов в регуляции ответа растений пшеницы при дефиците минерального питания	50
3. РОЛЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В АДАПТАЦИИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ К РАЗНЫМ ФОРМАМ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ	91
4. РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНОГО ОБМЕНА ПРИ ВОЗРАСТАНИИ ДЕФИЦИТА ВОДЫ В РАСТЕНИИ	102
Роль АБК в регуляции устьичной проводимости при возрастании дефицита воды	113
Источник быстрого накопления АБК при резком возрастании дефицита воды	119
Регуляция гидравлической проводимости при возрастании дефицита воды в растениях	136
Связь уровня гидравлической проводимости растений ячменя с экспрессией гена аквапорина на фоне водного дефицита, создаваемого умеренным засолением	142
Участие аквапоринов в ответной реакции растений кукурузы на водный дефицит	147
5. ГОРМОНАЛЬНЫЕ И ГИДРАВЛИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И УСТЬИЧНОЙ ПРОВОДИМОСТИ ПРИ ЗАСУХЕ	162
Гормональные и гидравлические сигналы в регуляции роста и устьичной проводимости у растений томатов при частичной засухе в области корней	162

Сигнальная роль корневых цитокининов в регуляции устьичной проводимости у <i>ipt</i> -трансгенных растений табака в условиях локального действия температуры	177
Растяжимость клеток как фактор, способствующий поддержанию роста при кратковременном действии дефицита воды в питательном растворе	182
Изменение содержания ИУК в листьях при действии ПЭГ и его потенциальная роль в регуляции растяжимости	186
Экспрессия гена экспансина и увеличение растяжимости листа при действии ПЭГ на растения кукурузы	188
Влияние ИУК на растяжимость листа и экспрессию гена экспансина	192
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	197
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	201

Научное издание

ВЫСОЦКАЯ Лидия Борисовна
ВЕСЕЛОВ Дмитрий Станиславович
ФАРХУТДИНОВ Рашит Габдулхаевич
ВЕСЕЛОВ Станислав Юрьевич

**ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ
ВОДНОГО ОБМЕНА И РОСТА РАСТЕНИЙ
НА РАЗНЫХ ФОНАХ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ
И ПРИ ДЕФИЦИТЕ ВОДЫ**

Монография

Редактор Д.В. Зинатуллина
Корректор А.И. Николаева

*Лицензия на издательскую деятельность
ЛР № 021319 от 05.01.99 г.*

Подписано в печать 20.10.2014. Формат 60x84/16.
Усл. печ.л. 14,03. Уч.-изд.л. 14,64.
Тираж 100 экз. Изд. №. Заказ.463

*Редакционно-издательский центр
Башкирского государственного университета
450076, РБ, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.*

*Отпечатано на множительном участке
Башкирского государственного университета
450076, РБ, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.*