

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКЗОГЕННЫМ ЦИТОКИНИНОМ АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ У РАСТЕНИЙ

Блохин В.Г.

В стратегии адаптации у растений к неблагоприятным условиям выделяют генетическую или эволюционную адаптацию, формирующуюся в онтогенезе под действием неблагоприятного фактора и адаптацию, обеспечивающую выживание от внезапного действия фактора высокой интенсивности [11]. При внезапном воздействии неблагоприятной температуры включается быстрый физиолого-биохимический механизм, процессы которого изменяются согласно законам термодинамики [24]. При более длительном действии неблагоприятного фактора включается главный, достаточно медленный молекулярно-генетический механизм регуляции, связанный с активацией и репрессией генов [11,20].

В регуляции адаптивных реакций в клетке важное место занимают фитогормоны. Ответ на гормональный сигнал относится к быстрым механизмам регуляции адаптации и осуществляется через специфические рецепторы, которые находятся в различных компартментах клетки и на мембране [19]. Образуется гормонрецепторный комплекс, который оказывает влияние на мембраны и геном [13]. В мембране происходят структурные изменения в липидном и белковом [8] составе под влиянием условий окружающей среды и экзогенных фитогормонов. Эти изменения быстро доходят по цитоскелету в ядро [22], соответствующие области хроматина, в котором находятся в преактивном состоянии, а в промоторной гиперчувствительной зоне генов стрессовых белков не имеется интронов [13,16]. Это обеспечивает быструю скорость ответной реакции на неблагоприятный фактор или гормон с синтезом или репрессией соответствующих белков [5].

Местом первичного действия фитогормона в растении является плазмалемма, где происходят гормониндуцированные изменения в структурной организации, которые приводят к усилению параметрических показателей в клетке (катионов, рН) в результате усиления транспортных функций [17].

На нормальном калиевом фоне экзогенный цитокинин в неблагоприятных условиях роста вызывает быструю гиперполяризацию мембраны [26], увеличивает активность Н - АТФазы плазмалеммы [1,9], увеличивает количество сульфо- и фосфолипидов мембран и насыщенность их жирнокислотного состава, как индикаторов устойчивости растений к неблагоприятным условиям Среды [14]. Эти изменения в составе липидов под действием фитогормона снимают экзосмос электролитов в раствор при охлаждении [3].

В ядре гормонрецепторный комплекс влияет на матричную активность хроматина, стимулирует ядерные РНК-полимеразы и синтез всех видов РНК и белка в клетке [12,13].

В условиях экстремальных температур цитокинин продолжает стимулировать различные физиолого-биохимические процессы, в том числе и связанные с адаптацией [22]. Цитокинин в стрессовых условиях также увеличивает содержание углеводов [4,23], свободных аминокислот и особенно пролина [2].

Целью данной работы было продолжение изучения механизмов регуляции цитокинином некоторых физиолого-биохимических процессов у растений в нормальных и экстремальных условиях роста. опыты проводили на кафедре физиологии и биотехнологии. Растения выращивали в лабораторно-вегетационном опыте в водной культуре с добавлением цитокинина (6-БАП) (опыт) в концентрации 5-10 мкг/л и без него (контроль). Неблагоприятные условия создавали путем помещения растений в инкубационный раствор в стакане, содержащий 1мМ КС1 и 0,1 мМ Са и выдерживали 4 часа при температуре 5<sup>0</sup>С (холод), 40<sup>0</sup>С (жара) и с

добавлением маннита 0,8М (засуха). Исследования проводили по общепринятым в физиологии растений и биохимии методам на стандартных лабораторных приборах отечественного производства [6,15]. Повторность анализов 3-6-кратная, цифровой материал обработан методом условных отклонений для малых выборок и среднее статистическое значение со стандартной ошибкой приводится в таблицах. В растениях определяли активность ферментов фенилаланинаминиакилазы, кислой фосфатазы, аскорбатоксидазы, глицеролатоксидазы, пероксидазы, глутаматдегидрогеназы, аспаратаминотрансферазы, поглощение калия, ортофосфата, нитратов корнями растений, выделение калия и нингидринпозитивных веществ корнями растений, измеряли электропроводность инкубационного раствора, определяли катионную и анионную адсорбционную емкость тканей, количество фенолов и биоэлектрическую реакцию листьев на термоимпульс.

Из приведенных данных в табл.1 видно, что в нормальных условиях роста растений экзогенный цитокинин в малых концентрациях и в очень узком диапазоне оказывает стимулирующее действие на активность ряда ферментов. Он повышает в листьях тыквы активность фенилаланинаминиакилазы, результатом деятельности которой явилось повышение содержания фенолов, выполняющих защитную роль в неблагоприятных условиях [18]. Увеличивалась активность кислой фосфатазы за счет изменения ее изоферментного спектра, способствуя благоприятному обмену фосфорных соединений в клетке. Цитокинин стимулирует также аскорбатоксидазу у кукурузы, поддерживает общий редуцирующий уровень в метаболизме клетки.

С увеличением функции глицеролатоксидазы в фотодыхании под влиянием фитогормона сопряжен биосинтез хлорофилла [10], для которого необходим глицин, образующийся из глицилата в реакции переаминирования. В результате увеличивается содержание хлорофилла в листьях. Стимуляция цитокинином фотодыхания увеличивает также активность пероксидазы, которая устраняет ядовитую  $H_2O_2$ , образующуюся при окислении глицеролатоксидазой в пероксисомах. У пероксидазы, по нашим данным, повышается и оксидазная функция с флороглюцином под действием экзогенного цитокинина. При этом фитогормон в листьях индуцировал появление новой электрофоретической фракции, по сравнению с контролем, в листьях которого обнаружены две изоформы.

Цитокинин стимулирует также активность ферментов азотного метаболизма, повышая функцию глутаматдегидрогеназы и аспаратаминотрансферазы. При этом активность последней возрастает в несколько раз по сравнению с необработанными фитогормоном растениями.

Существенные изменения вызывает цитокинин в проницаемости мембран клеток корня, связанной с активностью  $H^+$ -АТФазы [1,7], активность которой повышается [9], выброс протонов увеличивается. Это обуславливает повышение поглощения калия, ортофосфата и нитратов корнями растений через сутки после внесения фитогормона в питательный раствор.

Структурно-функциональные изменения в мембранах плазмалеммы под влиянием цитокинина [14] оказались благоприятными в условиях действия на вегетирующие растения стрессовых температур и водного дефицита (табл.2).

Фитогормон, как видно из таблицы, снижает экзосмос электролитов (калия и нингидринпозитивных веществ-НПВ) растениями огурцов и кукурузы, уменьшается электропроводность инкубационного раствора при действии холода, жары и засухи. В этих условиях, как отмечалось выше, возрастает активность ферментов каталазы и пероксидазы. В наших опытах активность пероксидазы возрастала под действием цитокинина в 1,5 раза в листьях и на 25% в корнях кукурузы.

Таблица 1

**Влияние цитокинина на некоторые физиолого-биохимические показатели  
в нормальных условиях роста растений**

Показатели	Вариант		
	контроль	цитокинин	% к контр
1	2	3	4
Фенилаланинаммиаклаза, мкг коричной кислоты на мг белка	13,3+-0,1	23,5+-0,4	177
Фенолы, мкг/г сырых листьев общие	457,5+-12,3	779,0+-15,2	164
феруловая кислота	9,5+-0,3	55,1+-0,7	580
нарингенин	9,9+-0,4	11,6+-0,6	117
Кислая фосфатаза, мкМ на мг белка корней кукурузы	1,2+-0,05	2,7+-0,04	226
Аскорбатоксидаза кукурузы, отн. ед. в корнях через 48ч.	5,7+-0,5	5,4+-0,2	146
в листьях через 72ч.	2,8+-0,2	6,3+-0,7	227
Гликолатоксидаза, отн. ед. в листьях кукурузы	6,7+-0,5	10,0+-0,3	148
Хлорофилл а+в, мг/г в листьях ячменя	1,46+-0,04	1,91+-0,02	131
Пероксидаза, отн. ед. кукурузы в корнях	32,9+-1,5	43,7+-1,1	133
с бензидином в листьях	4,3+-0,3	7,6+-0,2	177
Пероксидаза с флороглюцином, отн. ед. в корнях	3,7+-0,7	6,8+-0,3	183
в листьях	5,9+-0,1	11,6+-0,7	196
H <sup>+</sup> -АТФаза, Р <sub>и</sub> мкг на мг белка в корнях	6,0+-0,1	11,0+-0,2	183
Глутаматдегидрогеназа корней кукурузы, мг формазана на 1г	11,7+-2,0	39,4+-4,0	336
Аспаратаминотрансфераза, мкг пирувата на мг белка корней	24,5+-1,2	132,6+-1,6	541
Поглощение ионов, мкг/см <sup>3</sup> корня гороха калий	98,1+-4,8	133,1+-3,7	136
фосфор	24,5+-1,2	78,9+-5,4	322
кукурузы нитраты, мкМ	79,5+-3,0	85,1+-0,7	107
КОЕ, мк*экв/100г сухой массы корни	46,9+-1,5	56,0+-2,2	119
стебель	45,6+-1,5	52,6+-1,2	115
листья	41,9+-1,2	32,9+-2,7	78
АОЕ в тех же ед. корни	11,1+-1,2	14,3+-1,1	128
стебель	9,0+-1,0	12,8+-0,6	142
листья	12,9+-1,2	11,1+-1,2	86

Таблица 2

**Влияние цитокинина на некоторые физиолого-биохимические  
процессы в неблагоприятных условиях роста**

Показатели	Условия	Вариант		
		контроль	цитокинин	% к контр
1	2	3	4	5
Экзосмос калия мк*экв на 1г корней огурца	холод (4 <sup>0</sup> С 4ч)	355.4±1.3	329.2±2.7	93
корни кукурузы	жара (40 <sup>0</sup> С 4ч)	64.5±2.0	35.6±0.4	55
	засуха (0.8 М)	60.2±1.0	11.2±0.2	19
Выделение НРВ мк*экв на 1г корней огурца	холод	95.6±1.3	57.5±2.5	60
	жара	16.0±0.4	14.9±0.2	93
кукуруза	засуха	22.0±0.4	19.3±0.3	88
	жара	9.1±1.1	1.6±0.3	18
Электропроводность растворов Ом <sup>-1</sup>	засуха	4.9±0.4	0.3±0.1	6
	жара	183.77±2.1	227.4±4.1	124
Пероксидаза с бензидином корни кукуруза	засуха	256.3±3.0	320.8±5.3	125
	жара	14.3±0.1	21.3±0.3	150
листья	засуха	14.1±0.1	20.7±0.4	147
	жара	34.3±0.3	57.3±1.7	167
БЭР, мв кукуруза	холод 7 сек			

У пероксидазы наблюдалось увеличение активности мало- и среднеподвижных изоформ по сравнению с контролем, под влиянием цитокинина. Отмечалось также увеличение

ответной биоэлектрической реакции (БЭР) листьев кукурузы на низкотемпературный термоимпульс через сутки после внесения фитогормона в питательный раствор. Изменяется характер амплитуды ответных реакций и стабильность ее на повторяющийся термоимпульс по сравнению с листьями контрольных растений. Таким образом, наши исследования дополняют данные (2,21) о стимуляции цитокинином различных физиолого-биохимических процессов, повышающих общий окислительно-восстановительный потенциал в клетках и ускоряющих адаптивные возможности растений одновременно к различным неблагоприятным условиям роста [21], т.е. повышение устойчивости растений к стрессу, обусловленное действием экзогенного цитокинина, носит сопряженный характер.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Блохин В.Г. Влияние различных концентраций экзогенного цитокинина на активность АТФазы корней ячменя //Деп.рукопись ОНП НПЭЦ "Верас-Эко" из АН Белоруси. - 1992 - 200-9с.
2. Блохин В.Г. Некоторые механизмы регуляции цитокинином устойчивости культурных растений к неблагоприятным экологическим факторам //Актуальные вопр. экологии Азово-Черном. региона и Средизем. Симферополь. -1993. -с.144-148.
3. Блохин В.Г. Влияние экзогенного цитокинина на холодостойкость растений //2 Съезд Укр.о-ва физиологии растений: Тез.докл. Т.1.-Киев.-1993.-С.20-21.
4. Бочарова М.А., Трунова Т.И., Шаповалов А.А, Баскаков Ю.А. Влияние картолина на морозостойкость оз.пшеницы //Физиол. растений. -1983.-30,N2.-С360-364.
5. Войников В.К. Стрессовые белки растений при действии высокой и низкой температуры //Стрессовые белки раст. - Новосибирск: Наука, 1989.-С.5-20.
6. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. -М.: Высшая школа, 1975.-392 с.
7. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивых растений. -М.: Наука, 1982.-280 с.
8. Жибоедов П.М., Жиров В.К., Руденко С.М. Белковый состав и мембранные липиды интродуцированных растений в Заполярье.-Апатиты: КФ АН СССР, 1987.- 114 с.
9. Зауралов О.А., Лукатин А.С. Роль фитогормонов и ферментов в регуляции устойчивости растений //Регул.фермент.активн. у растений -Горький.-1986.-С.69-73.
10. Калер В.Л., Клигер Ю.У., Локтев А.В., Вечер А.С. Сопряжение метаболизма гликолата с биосинтезом хлорофилла в растениях //Физиол. растений.-1977.-24, N1.-С.30-34.
11. Кузнецов В.В. Системы "шоковой" реакции и выживание растений //Съезд Укр. о-ва физиол. растений: Тез.докл.Т.1.-Киев.-1993.-С.120.
12. Кулаева О.Н. Гормональная регуляция физиологических процессов у растений на уровне синтеза РНК и белка //41-е Тимирязевское чтение.-М.: Наука,1982.-83с.
13. Кулаева О.Н., Селванкина С.Ю., Каравайко Н.Н., Переверзева И.И. Цитокининсвязывающие белки и протеинкиназы в ответе клеток на цитокинин //Новые методы биотехнол. растений: Тез.докл.-Пушино.-1993.-С.66.
14. Мануильская С.В., Мануильский В.Д., Махно Л.И. Изменение липидного состава мембран хлоропластов кукурузы при снижении температуры в зависимости от фитогормонального статуса //2 Съезд Укр. о-ва физиол. растений: Тез. докл. Т.1. -Киев.-1993.С.147.
15. Методы биохимического исследования растений. -Л.: Колос, 1972.-345.
16. Мирзабеков Л., Карпов В., Преображенская Е. Структура активного и неактивного в транскрипции хроматина //Тез.докл. 16 конференции ФЕБО.-М.-1984. С.59.
17. Молотковский Ю.Г. Механизм структурных и функциональных переходов мембран //Новые напр. в физиол. растений. -М.: Наука,1985.-С.62-81.

18. Пустовойтова Т.Н., Жолкевич В.Н. Основные направления в изучении влияния засухи на физиологические процессы у растений. // Физиол. и биохимия культ. растений. -1992 24, N1.С.14-27.
19. Романов Г.А. Гормоносвязывающие белки растений и проблема рецепции фитогормонов // Физиол. растений.-1989.- 36, N1.-С.166-177.
20. Титов А.Ф. Молекулярно-генетический подход к проблеме терморезистентности растений // Эколого-физиол.механ. уст. растений к дейст. экстрем. темпер.-Петрозаводск.- 1978.-С.-14-29.
21. Титов А.Ф., Дроздов С.Н., Критенко С.П., Таланова В.В., Шерудило Е.Г. Влияние цитокининов на холодо- и теплоустойчивость активно вегетирующих растений // Физиол. и биохимия культ. растений.-1986.-18, N1.-С.64-69.
22. Титов А.Ф., Акимова Т.Ф., Крупнова И.В. Формирование устойчивости в начальный период закалывания растений при действии ингибиторов белкового синтеза и цитокинина // Физиол. и биохимия культ.растений.-1992.-24, N4.-С. 367-372.
23. Туманов И.И. Физиология закалывания и морозостойкости растений. - М.: Наука, 1979.-350с.
24. Хачачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. -М.: Мир, 1977.-398с.
25. Шевелуха В.С., Кулаева О.Н., Шакирова Ф.М. и др. Влияние картолина на белоксинтезирующий аппарат листьев ячменя в условиях засухи // Докл. АН СССР. -1983. -271, N4.-С.1022-1024.
26. Юрин В.М., Галактионов С.Г. Биоэлектрическая реакция мембран поглотительных клеток растений на химические стимулы. // Регуляция функц. мембран раст. клеток.-Минск:Наука и техника, 1979.-С. 38-42.