

КАК РЕГУЛИРУЕТСЯ ЖИЗНЬ РАСТЕНИЙ

О.Н.КУЛАЕВА

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Фитогормоны играют важную роль в регуляции жизни растений. В статье рассмотрены фитогормоны, обсуждены физиологические программы, в регуляции которых они принимают участие, а также их практическое применение. Приведены последние достижения в области изучения механизма действия фитогормонов. Представлены данные автора по выделению и характеристике рецептора цитокинина из листьев ячменя.

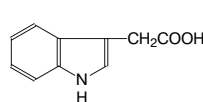
Phytohormones play very important role in plant life regulation. The main phytohormones and the physiological processes regulated by these phytonormones are considered in this paper. The latest evidence on the mechanism of phytohormone action is discussed. Authors data on cytokinin receptor isolation from barley leaves and its characterization are presented.

ВВЕДЕНИЕ

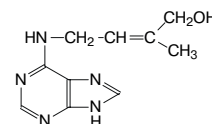
Всем известно, что жизнь животных контролируется нервной системой и гормонами, но далеко не все знают, что жизнь растений тоже контролируется гормонами, которые называют фитогормонами. Они регулируют жизнь каждого растения на всех ее этапах, начиная от формирования семени и включая его прорастание, рост, развитие и плодоношение растения и, наконец, его старение и отмирание.

В настоящее время активно исследуются следующие группы фитогормонов: ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовая кислота и этилен (рис.1). Кроме того, в последнее время в растениях открыты также стероидные гормоны, салициловая и жасминовая кислоты, отвечающие всем критериям фитогормонов. Очевидно, со временем список фитогормонов будет увеличиваться, и это расширит наши представления о том, как гормональная система регулирует онтогенез растений и как она участвует в ответе растений на различные внешние воздействия.

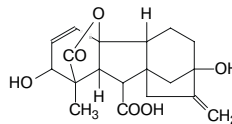
Все фитогормоны объединяют некоторые общие свойства: они синтезируются в самом растении и являются высокоэффективными регуляторами физиологических программ. Их действие проявляется в крайне низких концентрациях (10^{-5} — 10^{-12} М) ввиду исключительно высокой чувствительности к ним растительных клеток. С помощью фитогормонов одни типы клеток и тканей растений регулируют физиологические процессы в других типах клеток и тканей [1].



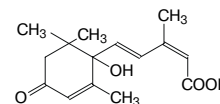
β-индолилуксусная кислота



цитокинин (зеатин)



гибберелловая кислота



абсцизовая кислота



этилен

Рис. 1. Структурные формулы основных фитогормонов.

К числу физиологических программ, регулируемых фитогормонами, относится развитие и созревание семян, их прорастание, рост и морфогенез растений, переход растений к цветению, плодоношение, старение растений, опадение листьев, покой клубней, почек, семян и многое другое.

В последние годы наука достигла больших успехов в понимании того, как гормоны регулируют жизнь растений, вызывая переключение генетических программ, определяющих последовательность этапов развития, а также ответ растений на внешние воздействия.

Все, что известно сегодня о механизме действия фитогормонов, крайне важно для того, чтобы понять, как происходит рост и развитие растений, то есть как реализуется их онтогенетическая программа, а также как растение реагирует на стрессы в течение своей жизни. Эти знания крайне важны для решения практических задач сельского хозяйства и биотехнологии, то есть для получения полезных продуктов растительного происхождения в поле, в лаборатории и в заводских условиях. Однако многие вопросы о действии фитогормонов остаются еще не выясненными и представляют собою увлекательные задачи для будущих исследований.

Учение о гормонах растений ведет свое начало с 1880 года, когда была опубликована работа великого Чарльза Дарвина и его сына, доказавших, что росточки канареечной травки, изгибаясь в сторону света, воспринимают его своей верхушкой, а реагируют на него изгибом ниже расположенной части. Они сделали вывод о существовании в растении сигнальной системы, которая воспринимает сигнал в одном участке и передает его в другой участок, где и осуществляется ответ на принятый сигнал. Дальнейшее развитие эти идеи получили в 20–30-е годы нашего столетия, когда Ф.Вент в Америке и Н.Г.Холодный в нашей стране независимо и одновременно разработали основные положения теории гормональной регуляции роста растений, которая во всем мире называется теорией Вента–Холодного.

АУКСИН

Химическая структура первого открытого гормона растений — ауксина была установлена в 1934 г. Он представляет собою β-индолилуксусную кислоту или сокращенно ИУК (рис. 1). Этот фитогормон активирует рост клеток, вызывает образование корней и регулирует многие другие процессы. Его способность вызывать корнеобразование широко используется для укоренения черенков. Образование корней под действием ауксина легко продемонстрировать ученикам — нужно опустить, например, черешок листа фасоли в раствор ауксина и через неделю вы покажете школьникам, что он покрыт щеткой корней.

В растении ауксин образуется в верхушке стебля

и движется в нижерасположенные части, достигая корневой системы, где он обеспечивает нормальный рост корней. На своем пути вниз по растению ауксин задерживает рост боковых почек, расположенных в пазухах листьев. Если срезать верхушку стебля, поступление ауксинов к пазушным почкам прекратится и начнется их рост. При этом получится растение с боковыми побегами. Ауксины необходимы для клеточных делений, однако это их свойство мы рассмотрим в разделе о цитокининах.

ЦИТОКИНИНЫ

Цитокинины были открыты Ф.Скугом и его сотрудниками в США в 1955 г. Ф.Скуг изучал рост изолированных тканей растений в стерильных условиях на питательной среде. Он помещал на агаровую среду, содержащую сахарозу, витамины, аминокислоты, минеральные элементы, а также ауксин, кусочки изолированной сердцевинки стебля табака и хотел вызвать переход их клеток к делению с образованием каллуса — бесформенной массы недифференцированных клеток. Однако это ему не удалось — клетки не делились. Ф.Скуг и К.Миллер вызвали деление клеток с помощью открытого ими кинетина — вещества, образующегося при деградации ДНК. Кинетин является не природным цитокинином, а его аналогом, однако благодаря его открытию основные свойства цитокининов были изучены за 10 лет до выделения природного цитокинина — зеатина.

Как показали Скуг и Миллер, для деления клеток необходимы два фитогормона: ауксин и цитокинин. В их опытах было также установлено, что корнеобразование у каллуса вызывает ауксин, а дифференцировку побегов цитокинин. На рис. 2 показано, что в отсутствие кинетина (одного из цитокининов) у отрезков сердцевинки стеблей табака клеточное деление не происходит (а), добавление кинетина в питательную среду вызывает деление клеток и бурный рост каллуса (б), увеличение концентрации кинети-

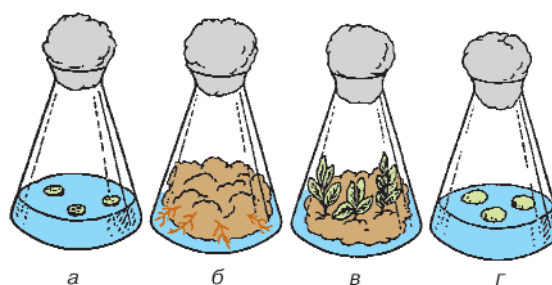


Рис. 2. Схема совместного действия ауксина и кинетина на рост и процессы дифференцировки у каллуса сердцевинки стебля табака. Концентрация ауксина во всех колбах — 2 мг/л. Содержание цитокинина: а — 0; б — 0,02 мг/л; в — 0,5–1 мг/л; г — 5 мг/л.

на вызывает образование стеблей (в), но дальнейшее повышение концентрации кинетина приводит к подавлению роста каллуса (з).

Так в опытах Скуга и Миллера были разработаны основы современной культуры изолированных клеток и тканей растений и найдены пути регенерации целых растений из недифференцированных клеток каллуса.

Природный цитокинин, зеатин (рис. 1), был выделен значительно позже, в 1964 году, Д.Литамом в Австралии. Чтобы выделить 1 мг вещества и установить его структуру, было переработано 60 кг семян кукурузы в стадии молочной спелости, когда семена особенно богаты цитокининами. Этот пример показывает, насколько малы концентрации природных гормонов в клетках растений. Именно в крайне низких концентрациях гормоны и осуществляют свое регуляторное действие. Если действовать фитогормоном на растительные ткани или органы, которые сами его не синтезируют и поэтому дают на него четкий ответ, легко выяснить, что уловить действие гормона удастся в пределах его концентрации 10^{-7} — 10^{-8} М, а иногда даже 10^{-10} М. Пропорциональное увеличение реакции растений на гормон обычно обнаруживается в пределах концентрации гормона от 10^{-8} до 10^{-5} М. На этом основаны биотесты определения фитогормонов.

Возвращаясь к обсуждению биологической активности цитокининов, важно подчеркнуть, что кроме установленной в опытах Скуга способности вызывать деление клеток и индуцировать дифференцировку побегов, цитокинины активируют рост листьев и семядолей двудольных растений (рис. 3), стимулируют формирование хлоропластов, задерживают старение листьев [1, 2]. Если раствором цитокинина опрыснуть одну половину листа, это задержит ее пожелтение и старение, тогда как другая половина по-

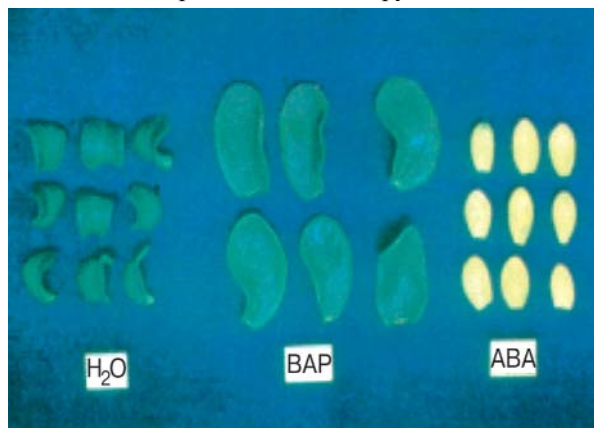


Рис. 3. Влияние цитокинина и абсцизовой кислоты на изолированные семядоли тыквы.

Слева направо: 1 — контрольные семядоли на воде; 2 — на растворе синтетического цитокинина (BAP 5×10^{-6} М); 3 — на растворе абсцизовой кислоты (10^{-5} М).



Рис. 4. Задержка старения половины листа махорки в результате ее опрыскивания раствором цитокинина (кинетин 20 мг/л).

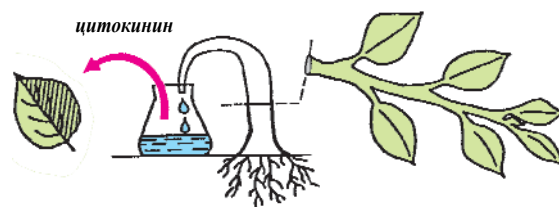


Рис. 5. Обнаружение в пасоке веществ с цитокининовой активностью.

желтеет (рис. 4). Цитокинины вызывают приток питательных веществ к месту их нанесения.

В целом растении цитокинины синтезируются в растущих кончиках корней, а затем по сосудам ксилемы поступают вместе с пасокой (раствором, который корни нагнетают в побеги) в надземные органы, где и принимают участие в регуляции различных физиологических процессов.

Снабжение побегов цитокининами из корней было открыто автором этой статьи в 1962 г. [3]. Если срезать растение и надеть на перерезанный стебель стерильный приемник для сбора пасоки (рис. 5), можно обнаружить, что корень продолжает нагнетать воду и растворенные в ней минеральные вещества, поглощенные из почвы, а также органические вещества, которые синтезируются в корнях. Как выяснил автор, корневая система посылает в побеги и цитокинины, т.е. гормональный сигнал, с помощью которого корни контролируют процессы, протекающие в надземных органах. Возможно, многие из вас обращали внимание на то, какие крупные листья бывают на прикорневых побегах деревьев. Это объясняется тем, что в них поступает из корней много цитокининов, активирующих рост листьев.

ГИББЕРЕЛЛИНЫ

Открытие гиббереллинов берет свое начало из другой области исследований — науки о болезнях растений — фитопатологии. Болезнь риса, вызываемая грибом *Gibberella fujikuroi*, сопровождается

резким вытягиванием стебля. Исследование этой болезни в 20-е годы нашего века в Японии привело к выделению вещества, с помощью которого грибок усиливает рост стебля зараженного растения. Структура этого вещества, названного гиббереллином, была установлена в 1955 г. Б.Кроссом (рис. 1). Было доказано, что гиббереллин представляет собою гормон растений, который активизирует рост стебля и вызывает цветение. С его помощью можно вызвать пробуждение из состояния покоя клубней и семян растений. Паразитический грибок, синтезируя гиббереллин в больших количествах, использует его в своих целях для поражения больного растения.

Как выяснилось, очень многие паразиты растений, как грибного, так и бактериального происхождения, используют различные фитогормоны, которые они активно синтезируют, для “химической атаки” на растение-хозяина. Такие грибы культивируют в промышленных условиях для выделения и получения в чистом виде фитогормонов, в частности, гиббереллина.

Гиббереллины представлены в растениях большим семейством соединений. Как выяснилось, гиббереллины играют крайне важную роль в переходе растений к цветению, или, как принято говорить, в индукции цветения у растений, называемых длиннодневными, потому что весной в условиях короткого дня они не зацветают даже при наступлении теплых дней. Эти растения умеют “определять” длину дня и “отсчитывать” количество длинных дней, после которых переходят к цветению. Это приспособление выработалось эволюционно как защита цветков и развивающихся плодов от весенних заморозков. Теплые дни могут смениться холодными, а удлинение дня с переходом от зимы к лету абсолютно стабильным фактором. Поэтому отбор в эволюции растений, которые зацветают только по прошествии определенного числа длинных дней, обеспечил северным растениям стабильное воспроизведение потомства.

Гипотеза о гормональной регуляции цветения растений была выдвинута М.Х.Чайлахяном еще в 1937 году на основании большого экспериментального материала. Еще гипотетический в то время гормон цветения был назван им флоригеном [4]. Как показали два крупнейших физиолога растений — А.Ланг (в США) и М.Х.Чайлахян в нашей стране, переход длиннодневных растений к цветению вызывает гиббереллин. Именно его синтез в листьях растений задерживается в условиях короткого дня и происходит в условиях длинного дня. Образовавшийся в листьях гиббереллин транспортируется в точку роста и вызывает рост стебля и формирование цветков. В условиях короткого дня такие растения остаются в форме розетки, но если на их точку роста капать раствором гиббереллина, начнется рост стебля, а затем формирование цветочных зачатков, и растение зацветает [4].

Химическая природа индуктора цветения короткодневных растений — антезина остается до сих пор не установленной.

Следует упомянуть, что исследования гормональной регуляции роста и развития растений заторможены в нашей стране на долгие годы в период господства в биологической науке Т.Д.Лысенко, который объявил несуществующими не только гены и хромосомы, но и гормоны растений. Это прервало классические опыты Н.Г.Холодного и М.Х.Чайлахяна по гормональной регуляции роста и цветения растений. После окончания этого позорного и трагического периода в биологической науке нашей страны опыты М.Х.Чайлахяна были продолжены, их результаты суммированы в монографии [4].

Возвращаясь к обсуждению роли гиббереллина в регуляции жизни растений, необходимо отметить, что поскольку этот фитогормон активизирует рост стебля, с его помощью удается получать гигантские растения. Способность гиббереллина пробуждать клубни из состояния покоя находит применение на юге для получения двух урожаев картофеля в год. Гиббереллин применяют также для увеличения урожая бескосточковых сортов винограда.

АБСЦИЗОВАЯ КИСЛОТА

К числу гормонов растений относится абсцизовая кислота (АБК), выделенная в 1963 г. одновременно и независимо Ф.Уорингом из листьев березы и явора и Ф.Эддикотом, Б.Милборроу и К.Окумой из молодых коробочек хлопчатника [5]. Ее формула была установлена в 1965 г. Дж.Корнфордом и К.Окумой (рис. 1).

АБК подавляет ростовые реакции растений, вызванные ауксином, цитокинином и гиббереллином, она тормозит дифференцировку хлоропластов, активизируемую цитокинином. Например, на рисунке 3 показано угнетение роста и позеленения изолированных семядолей тыквы под действием абсцизовой кислоты. АБК вызывает покой клубней, семян, почек растений. Именно ее накопление в созревающих семенах, почках деревьев осенью и в клубнях растений обеспечивает состояние покоя их клеток в течение зимнего периода. Снижение содержания АБК служит условием их пробуждения и роста с наступлением весны.

Фитогормоны регулируют не только рост и процессы дифференцировки новых органов у растений, но также и многие другие физиологические процессы, не имеющие отношения к росту. Например, с помощью АБК можно закрыть устьица растений — специализированные отверстия, через которые лист растений испаряет воду, поглощает CO_2 для фотосинтеза или выделяет CO_2 за счет дыхания, а также, соответственно, выделяет или поглощает O_2 . В регуляции движения устьиц, как и во многих других физиологических процессах, у растений четко прослеживается антагонизм двух гормонов: АБК закрывает усть-

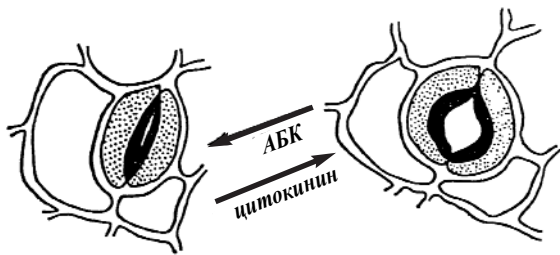


Рис. 6. Влияние цитокинина и АБК на состояние устьиц.

ица при недостатке воды и тем самым сохраняет ее резерв в растении, а поступающий из корней с пасокой цитокинин при восстановлении водоснабжения вызывает открывание устьиц (рис. 6). Открытые устьица обеспечивают поступление CO_2 в листья, необходимое для фотосинтеза, а также поддерживают испарение воды (транспирацию), обеспечивающее ее передвижение вверх по растению и поступление с ней из корней в побеги элементов минерального питания и различных органических веществ, синтезируемых в корнях, включая цитокинины.

АБК не только ингибирует процессы, вызываемые другими гормонами, но и играет важную роль в индукции ряда физиологических программ, например, синтеза запасных белков семян, формирования клубней, дифференцировки зимующих почек ряски. Поэтому далеко не правы авторы, называющие ее природным ингибитором. Как и все другие гормоны, она представляет собою регулятор физиологических программ у растений, который ингибирует одни и активирует другие физиологические процессы.

АБК играет крайне важную роль в ответе растений на стрессовое воздействие — обезвоживание, засоление, действие низких температур. В ответ на перечисленные воздействия в растениях начинается усиленный синтез АБК, которая в свою очередь резко изменяет экспрессию генетических программ в клетках: подавляет синтез мРНК и соответствующих им белков, характерных для нормальных условий, и индуцирует работу генов и, следовательно, синтез специфических белков, называемых белками ответа на АБК. Их довольно много, их свойства сейчас усиленно изучаются. По-видимому, эти белки защищают клетку от гибели в условиях глубокого обезвоживания. Интересно, что эти белки при нормальном развитии растений синтезируются в период позднего эмбриогенеза, когда происходит естественное обезвоживание семян. Синтез этих белков в позднем эмбриогенезе также индуцируется АБК, которая накапливается в семенах перед началом их обезвоживания. В листьях эти белки не обнаруживаются в нормальных условиях. Засуха вызывает накопление в листьях АБК, и она индуцирует синтез белков позднего эмбриогенеза, необходимых для выживания клеток листа во время засухи. Исследование этих белков и их генов крайне

важно для создания устойчивых к засухе сортов сельскохозяйственных растений. На помощь здесь может прийти генная инженерия, которая позволяет трансформировать растения нужными генами, т.е. вводить эти гены в их ДНК и создавать новый генотип. С этой точки зрения большой интерес представляет поиск в природе растений-рекордсменов по устойчивости к неблагоприятным условиям, в частности, к засухе. Один из таких рекордсменов — *Craterostigma plantagineum*. Ее листья высыхают при глубоком обезвоживании до воздушно-сухого состояния, но через несколько часов после предоставления им воды снова восстанавливают нормальное функционирование. Обезвоживание листьев индуцирует синтез в них АБК, а она в свою очередь индуцирует синтез *de novo* ряда белков.

ЭТИЛЕН

К числу гормонов растений относится также этилен. Это было открыто в 1901 году в Санкт-Петербургском Университете Д.Н.Нелюбовым. Он показал, что светильный газ (в который входит этилен) оказывает тройное воздействие на проростки гороха: подавляет рост стебля, вызывает его утолщение и изменяет ориентацию стебля в пространстве. Это открытие хотя и было опубликовано, но долго оставалось не оцененным научной общественностью. Этилен, как гормон растений, ускоряющий созревание плодов, снова был «открыт» в 20-х годах. В последующем было показано, что растения синтезируют этилен, и был установлен путь его биосинтеза [6]. Этилен, как и все другие гормоны растений, обладает широким спектром регуляторного действия. Он вызывает укорочение и утолщение стебля, изменяя направление роста клеток. Это свойство этилена крайне важно для борьбы с полеганием хлебов. В районах с плодородной почвой и влажным климатом стебель не выдерживает тяжести колоса и ложится на землю. Хлеба «полегают». Это наносит огромный ущерб сельскому хозяйству. Для борьбы с этим явлением существует три подхода: 1) обработка растений этилен-продуцентами, в частности этифоном, который легко разлагается с образованием этилена, вызывающего укорочение и утолщение стебля; 2) обработка растений ретардантами, подавляющими биосинтез гиббереллина — в результате тоже получают короткостебельные, устойчивые к полеганию растения; 3) создание сортов низкорослых растений с прочным и толстым стеблем. Последний путь предпочтителен, т.к. он избавляет сельское хозяйство от внесения химических соединений, ухудшающих экологические условия. Получение низкорослых сортов, в частности, связано с изменением гормональных характеристик растений, обеспечивающих формирование короткого, прочного стебля.

Этилен вызывает опадение листьев и плодов растений. Обработка этилен-продуцентами помогает

удалить листья хлопчатника для последующего машинного сбора созревших коробочек. Этилен вызывает старение листьев и ускоряет созревание плодов. Этим объясняется тот факт, что завернутые плоды помидоров или бананов быстрее дозревают, чем находящиеся на воздухе, т.к. выделяемый ими этилен сохраняется в атмосфере хранения плодов и ускоряет их созревание. Выращивание томатов в условиях короткого лета основано на сборе зеленых плодов и их последующей обработке этилен-продукентами. При транспортировке плодов на далекие расстояния встает другая задача — задержать быстрое дозревание плодов. Здесь также на помощь растениеводам приходит наука о гормонах растений. Ученые изучили путь биосинтеза этилена и деградации его прямого предшественника, 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК). В США получен трансформант (генетически измененная линия) томатов с усиленным окислением АЦК, что задерживает биосинтез этилена и благодаря этому продляет хранение томатов в свежем виде на целый месяц. Другой путь продления срока хранения плодов, а также сохранности в свежем виде срезанных цветов, например, гвоздики, основан на получении соединений, которые блокируют рецептор этилена и не дают проявляться его действию.

Заканчивая рассмотрение вопроса о роли этилена в регуляции жизни растений, я хотела бы еще подчеркнуть, что он принимает участие в ответе растений на различные патогены грибного, бактериального и вирусного происхождения. Растение воспринимает сигнал патогена и включает в ответ синтез этилена, а тот в свою очередь запускает сложную программу химической защиты растений, в которую, в частности, входит синтез фитоалексинов, играющих роль растительного противоядия против паразитов.

Интересно, что в систему защиты растений входит также салициловая кислота (вспомните, что аспирин — производное салициловой кислоты). По многим признакам ее можно рассматривать в качестве еще одного гормона растений, участвующего не только в антипатогенных реакциях, но и в регуляции онтогенетических программ. Возвращаясь к этилену, важно добавить, что он играет важную роль при затоплении растений, индуцируя развитие аэренхимы — специальной ткани, обеспечивающей поступление кислорода из надземных частей растения в находящиеся под водой корни, — и тем самым спасает их от гибели в результате кислородного голодания.

ФИТОГОРМОНЫ В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ

Особо следует подчеркнуть, что все теоретические исследования, проводимые на стерильной культуре клеток и тканей растений, а также их прак-

тическое применение в биотехнологии, основаны на использовании фитогормонов, которые представляют собою главные химические средства воздействия на растительные культуры. Так, размножение клеток *in vitro* (т.е. вне растения) основано на индукции клеточных делений ауксином и цитокинином (иногда лишь синтетическим аналогом ауксина). Это позволяет культивировать в заводских условиях клетки-продуценты ценных лекарственных препаратов.

Регенерация целых растений основана на индукции образования побегов под действием цитокининов с их последующим укоренением под действием ауксина. (Существует еще путь образования эмбриоидов — эмбрионоподобных структур в суспензионной культуре клеток.)

Регенерация растений особенно важна при получении трансформированных (генетически измененных) растений. Эта техника позволяет выяснить — как, где, в какое время в растении происходит экспрессия гена, интересующего исследователя. Кроме этого, это путь получения растений с новым генотипом, содержащим чужеродные, притом, как принято говорить, хозяйственно ценные гены, например, гены устойчивости к вирусам, к грибным патогенам, к листогрызущим насекомым, даже к колорадскому жуку.

С помощью цитокининов осуществляется техника микрклонального размножения растений. При этом на питательную среду помещают изолированную стеблевую точку роста растения, которая дает под действием цитокининов образование не одного, а нескольких побегов. При этом растения размножаются без изменения генотипа, и, кроме того, обеспечивается получение безвирусного материала. Этот метод применяется также для сохранения и размножения исчезающих видов растений.

ПАЗИТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ РАСТЕНИЙ — ПРИРОДНЫЕ ГЕННЫЕ ИНЖЕНЕРЫ

Крайне интересно, что гормоны растений используют природные генные инженеры — паразитические бактерии *Agrobacterium tumefaciens* и *Agrobacterium risogenes*. В клетках *A. tumefaciens* обнаружены мини-кольцевые ДНК, называемые плазмидами (Ti-плазмиды), которые содержат гены, отвечающие за синтез ауксина (1-й и 2-й ген) и за синтез цитокинина (4-й ген). При проникновении бактерии в клетку часть плазмидной ДНК встраивается в растительную ДНК. В результате зараженные клетки содержат в геноме бактериальные гены синтеза ауксина и цитокинина и еще гены, обеспечивающие синтез специфических питательных веществ для бактерий. В клетках начинается усиленный синтез ауксина и цитокинина — двух необходимых индукторов клеточных делений. В результате этого клетки переходят к делению и

образуется опухоль. Таким образом, бактерия поступает так же, как исследователь, который для размножения клеток растений в культуре добавляет туда ауксин и цитокинин. Методами генной инженерии можно повредить в Ti-плазмиде гены синтеза ауксина, тогда в зараженных клетках будут работать только гены биосинтеза цитокинина, и вместо образования опухоли возникнет пучок дифференцирующихся побегов. Если же повредить ген биосинтеза цитокинина, то в трансформированных клетках будут работать гены биосинтеза ауксина и вместо опухоли получится "борода" корней. Другая бактерия, *A. gisogenes*, трансформирует растение иным образом: образуется огромная масса корней. Ее Ri-плазида приносит в ДНК зараженных клеток гены, повышающие чувствительность клеток к ауксинам в 10 000 раз. Таким образом, оба типа бактерий трансформируют растения, модифицируя их гормональные свойства.

ПОСЛЕДНИЕ ДОСТИЖЕНИЯ В ИЗУЧЕНИИ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ФИТОГОРМОНОВ

В последние годы в центре внимания науки о гормональной регуляции жизни растений стоит вопрос о механизме действия фитогормонов: как воспринимается гормональный сигнал клеткой и как он передается на генетический аппарат, вызывая включение, подавление или переключение генетических программ? В связи с этим особый интерес вызывает вопрос о рецепторах фитогормонов в клетках растений, которые специфически узнают гормональный сигнал, образуют гормон-рецепторный комплекс, который в свою очередь определяет цепь событий в клетке, необходимых для ее высокоспецифичного ответа на фитогормон [7]. Чем глубже идут исследования рецепторов гормонов растений, тем больше общего обнаруживается в их свойствах с рецепторами гормонов животных, которые к настоящему времени хорошо изучены. Роль рецептора в восприятии и передаче гормонального сигнала может быть представлена следующим образом:

$G + P \rightleftharpoons GP \rightarrow$ система трансформации и передачи сигналов в клетке \rightarrow индукция физиологических программ.

Для гормонов животных установлены рецепторы двух основных типов:

1) Рецепторы гормонов, не проникающих в клетку, расположены в мембране. Они узнают молекулу гормона на внешней поверхности мембраны и в результате взаимодействия с ним изменяют свое конформационное состояние (пространственную структуру); это изменение передается через специальные белки (G-белки) ферментам, участвующим в синтезе вторичных посредников (ферментам-эффекторам). Посредники же участвуют в усилении (размножении) сигнала и его передаче к различным компонентам клетки, в част-

ности, ферментам, называемым протеинкиназами, которые фосфорилируют клеточные белки и в результате изменяют их свойства. Так происходит изменение функциональной активности ферментных, регуляторных и структурных белков клетки. Волна этих изменений передается на генетический аппарат, и происходит включение (выключение) характерных для действия гормона программ.

2) Рецепторы второго типа, к которым относятся рецепторы стероидных гормонов, взаимодействуют с гормонами в цитоплазме или ядре, и гормон-рецепторный комплекс непосредственно участвует в регуляции генетических программ, индуцируя или репрессируя экспрессию генов (рис.7).

Большие успехи генной инженерии позволили с помощью генетических зондов обнаружить в геноме растений гены, ответственные за все основные звенья каскада размножения и передачи гормонального сигнала по первому типу. Локализованные в мембране гормон-связывающие белки — вероятные кандидаты на рецепторы первого типа — обнаружены для ауксина, этилена, гиббереллина. М.Венис в Великобритании секвенировал (установил аминокислотную последовательность) белок со свойствами рецептора ауксина. Коллективные усилия ученых из разных стран, включая Францию, Германию, Англию, Нидерланды, делают вероятным, что этот белок функционирует по типу мембранных рецепторов животных гормонов с использованием вторичных посредников.

В Уэльском Университете в Великобритании М.Холлом и в Висконсинском Университете в

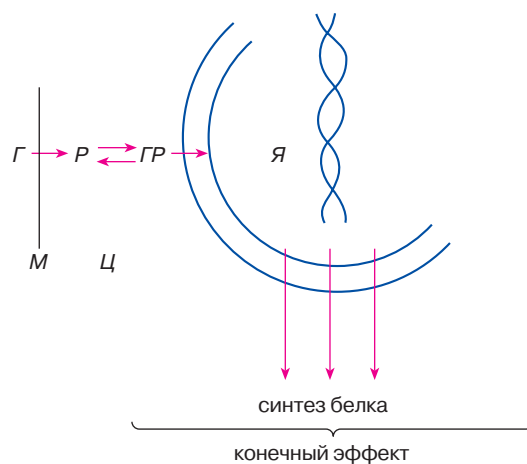


Рис. 7. Схема прямой регуляции экспрессии генома гормон-рецепторным комплексом: Г — гормон, Р — рецептор, М — мембрана, Я — ядро, Ц — цитоплазма.

Таблица

Влияние зеатин-связывающего белка с молекулярной массой 67 кДа из цитозоля листьев ячменя в комплексе с зеатином ($10^{-8}M$) на синтез РНК *in vitro* в системе, содержащей ядра, выделенные из листьев ячменя (данные представлены в % от синтеза РНК в контроле).

67 кДа белок	зеатин	РНК-полимераза I	РНК-полимераза II
-	-	100	100
+	-	99	101
-	+	97	98
+	+	330	502

США Т.Бликкером секвенированы гены рецепторов этилена. Исследования в этом направлении развиваются стремительно, и скоро будет выяснена полная картина восприятия и передачи гормонального сигнала в клетках растений. Параллельно большой успех достигнут в выяснении и выделении генов, экспрессия которых контролируется фитогормонами. Каждый год приносит новый поток информации в этом направлении.

В нашей лаборатории мы попытались изолировать рецептор цитокинина из закончивших рост листьев ячменя. Такие листья обладают высокой чувствительностью к цитокинину. Он задерживает старение срезанных листьев и активирует в них синтез РНК. Нам удалось изолировать из цитоплазмы листьев ячменя белок с молекулярной массой 67 кДа, который обладал всеми признаками рецептора цитокинина. Белок высокоспецифично и обратимо связывал меченый природный цитокинин — зеатин. Зеатин-белковый комплекс активировал синтез РНК *in vitro* (вне клетки). Эти опыты были проведены в системе, в которую мы добавляли хроматин из клеток листьев ячменя (хроматин — комплекс ДНК и белков, входящих в состав хромосом) и фермент РНК-полимеразу I, участвующий в синтезе молекул РНК. Активация синтеза РНК зеатин-белковым комплексом строго зависела от концентрации природного цитокинина — зеатина в реакционной среде и была максимальной при его концентрации, равной $10^{-8} M$. Цитокинин-белковый комплекс проникал в изолированные из листьев ядра и активировал в них синтез РНК как РНК-полимеразой I, ответственной за синтез рибосомных РНК, так и РНК-полимеразой II, ответственной за синтез информационных РНК (см. таблицу).

Таким образом, цитокинин-рецепторный комплекс позволил промоделировать *in vitro* типичный эффект цитокинина — активацию в листьях синтеза РНК. Насколько нам известно, это первые данные о выделении функционально активного рецептора цитокининов из растений.

Наши дальнейшие исследования направлены на изучение первичной структуры этого белка, выделе-

ние его гена и исследование его экспрессии в растительных клетках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Чем дальше развивается экспериментальная ботаника, тем глубже она позволяет заглянуть внутрь растения и понять, как регулируется его жизнь. Сегодня преподавание ботаники в школе не может ограничиться описанием внешних признаков растений, оно должно основываться на разъяснении внутренних систем, регулирующих формирование этих признаков. К таким системам относятся фитогормоны. Их изучение дает ключ к пониманию регуляции роста и развития, а также многих других процессов в жизни растений. Исследование свойств фитогормонов легло в основу нового направления физиологии растений — культуры изолированных клеток, тканей и органов. Фитогормоны находят существенное применение в сельском хозяйстве и биотехнологии. Новейшие достижения в области изучения механизма действия фитогормонов привели к открытию рецепторов некоторых из них, хотя в этом направлении еще предстоит большая работа, необходимая для выяснения систем рецепции и передачи гормональных сигналов в клетках растений. Это нужно как для разработки теоретических основ регуляции жизни растений, так и для практического применения научных результатов в генной инженерии, биотехнологии и сельском хозяйстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кулаева О.Н. Гормональная регуляция физиологических процессов у растений на уровне синтеза РНК и белка. М.: Наука, 1982.
2. Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функции. М.: Наука, 1973.
3. Кулаева О.Н. Физиология растений. 1962, т. 9, с.229.
4. Чайлахян М.Х. Регуляция цветения высших растений. М.: Наука, 1988.
5. Уоринг Ф., Филлипс И. Рост растений и дифференцировка. М.: Мир, 1984.
6. Полевой В.В. Фитогормоны. Л.: Изд-во Ленинградского Университета, 1982.
7. Кулаева О.Н. Физиология растений. 1995, т.42, с.661.