



# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



## РОЛЬ МЕМБРАННОГО ТРАНСПОРТА В РЕГУЛЯЦИИ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНИНОВ И УДЛИНЕНИЯ КОРНЕЙ

Басырова Л.Х.<sup>1</sup>, Коробова А.В.<sup>2</sup>,  
Зайнутдинова Э.М.<sup>1</sup>, Кудоярова Г.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Уфимский государственный нефтяной технический университет, Уфа,

<sup>2</sup>Уфимский институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа  
E-mail: [muksin@mail.ru](mailto:muksin@mail.ru)

Высокое содержание макроэлементов в корнеобитаемой среде вызывает торможение удлинения корней растений, однако механизм этой реакции до конца не ясен. Целью данной работы является проверка гипотезы о том, что причиной замедления роста корней в длину при повышенном уровне макроэлементов является накопление цитокининов в клетках корней и снижение оттока их в побеги. Корни растений твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.), получавших повышенный уровень макроэлементов, были значительно короче и содержали больше цитокининов по сравнению с растениями на оптимальном питании. Введение в питательный раствор карбонилцианид-м-хлорфенилгидразона для ингибирования вторично-активного трансмембранного переноса приводило к резкому снижению концентрации цитокининов в корнях на повышенном уровне минерального питания. Это свидетельствует в пользу нашего предположения о том, что при высоком уровне макроэлементов происходит активное поглощение цитокининов клетками корней вследствие чего тормозится их отток в побеги. В результате происходит торможение удлинения корней, что может иметь адаптивное значение в ситуации, когда корни попадают в очаг нитратов, что позволяет более эффективно поглощать эти ионы.

**Ключевые слова:** *Triticum durum*, цитокинины, карбонилцианид-м-хлорфенилгидразон, удлинение корней, избыток минерального питания

## THE ROLE OF MEMBRANE TRANSPORT IN REGULATION OF CYTOKININ CONTENT AND ROOT ELONGATION

Basyrova L.Kh.<sup>1</sup>, Korobova A.V.<sup>2</sup>,  
Zaynutdinova E.M.<sup>1</sup>, Kudoyarova G.R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ufa State Oil Technical University, Ufa

<sup>2</sup>Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa

E-mail: [muksin@mail.ru](mailto:muksin@mail.ru)

The high content of macroelements in the root environment causes inhibition of plant root elongation, however, the mechanism of this reaction is not completely clear. The goal of the paper is to test the hypothesis that the accumulation of cytokinins in the root cells and decreasing their outflow into shoots is the reason for the slowing of root elongation under elevated level of macroelements. The roots of durum wheat (*Triticum durum* Desf.), grown at elevated level of macroelements, were significantly shorter and contained more cytokinins compared to plants on optimal nutrition. The introduction of carbonyl cyanide-m-chlorophenylhydrazone into the nutrient solution for inhibition of secondary-active transmembrane transport led to a sharp decrease in the concentration of cytokinins in the roots at an elevated level of mineral nutrition. This is in favor of our assumption that, with a high level of macroelements, active cytokinin uptake occurs by the root cells, which inhibits their outflow into shoots. As a result, the root elongation decreases. This can be important in the situation when the roots enter the high nitrate area, since it allows them to more effectively absorb these ions.

**Keywords:** *Triticum durum*, cytokinins, carbonyl cyanide-m-chlorophenylhydrazone, root elongation, excess mineral nutrition

Поступила в редакцию: 18.09.2018

DOI: [10.31163/2618-964X-2018-1-2-93-96](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2018-1-2-93-96)

## ВВЕДЕНИЕ

Азот – основной элемент минерального питания растений. Доступными для растений формами являются нитраты и ионы аммония. Поскольку оба иона образуют растворимые в

воде соли, они часто вымываются током воды в нижележащие слои почвы. Для повышения урожайности растений вносят удобрения, главным образом, азотсодержащие. Было показано, что высокое содержание макроэлементов в среде, в том числе азота, тормозит развитие корневой системы [Agren, Franklin, 2003]. Также есть данные о том, что снижение накопления массы корнями при повышенном уровне минерального питания может быть связано с высоким содержанием в них фитогормонов цитокининов [Кудоярова и др., 1989]. В таких условиях ингибируется также и удлинение корней [Харрасова и др., 2018], при этом важную роль играло опять же повышенное содержание цитокининов.

В работе Кудояровой с соавт. [1989] показано, что на фоне трехкратной нормы минерального питания содержание цитокининов в корнях резко возрастало, а в побегах – уменьшалось по сравнению с оптимальным питанием. Авторами было высказано предположение, что происходило подавление транспорта цитокининов из корней в побеги, которое связывалось с возможным снижением интенсивности транспирационного потока. Механизм укорочения корней на фоне высокого уровня макроэлементов до конца не раскрыт.

Интересные результаты были получены при одновременной обработке корней растений пшеницы цитокинином зеатином и ингибитором вторично активного транспорта карбонилцианид-м-хлорфенилгидразоном (КЦХФ) [Kudoyarova et al., 2014]. Введение в питательный раствор зеатина приводило к значительному накоплению цитокининов в корнях, тогда как КЦХФ способствовал перераспределению этих гормонов в сторону побега. Был сделан вывод о способности клеток корней активно поглощать цитокинины с помощью переносчиков и препятствовать их оттоку в надземную часть растений. Можно было предполагать, что возможное подавление транспорта цитокининов из корней в побеги при высоком уровне минерального питания [Кудоярова и др., 1989] также было связано с работой мембранных переносчиков, закачивающих эти гормоны в клетки корней. Поэтому целью данной работы было проверить эту гипотезу. Для этого мы провели обработку ингибитором вторично активного транспорта КЦХФ корней растений, получавших оптимальный и высокий уровень макроэлементов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили растения твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) сорта Безенчукская 139. Семена замачивали в темноте на водопроводной воде в течение 3 суток, затем проростки перенесли на плотки, которые плавали по поверхности 10%-ного раствора Хогланда-Арнона. Растения выращивали на светоплощадке освещенностью 400  $\mu\text{моль}/(\text{м}^2 \text{ч})$ , при температуре 25/19 °С (день/ночь) и 16-часовом фотопериоде. Через 2 часа половину растений перенесли на 500%-ный раствор Хогланда-Арнона).

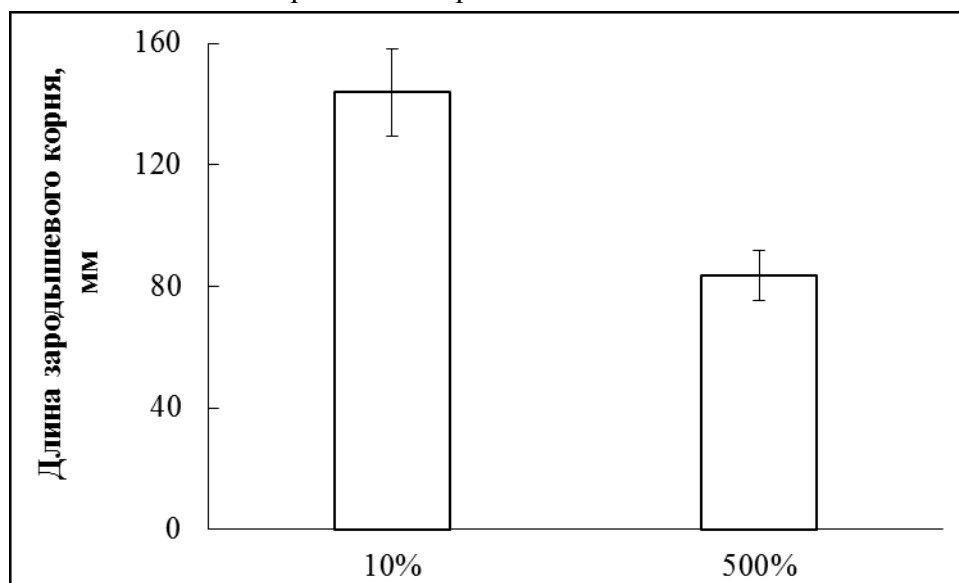
Через 24 ч после переноса растений на среду с повышенным содержанием макроэлементов производили обработку растений ингибитором вторично активного транспорта карбонилцианид-м-хлорфенилгидразоном (КЦХФ). Для этого в раствор половины растений добавляли КЦХФ до конечной концентрации 10  $\mu\text{М}$ . Через час корни растений фиксировали в холодном 80%-ном этаноле и выдерживали ночь при 4 °С для экстракции цитокининов. Спиртовой экстракт отделяли от растительных тканей фильтрованием и упаривали до водного остатка. Водный остаток пропускали через картридж

C18 [Waters, США), упаривали досуха, затем добавляли 20 мкл 80%-ного этанола для нанесения образцов на пластины для тонкослойной хроматографии (ТСХ). ТСХ проводили в системе растворителей бутанол : раствор аммиака : вода (6:1:2). По положению в УФ свете метчиков зеатина, зеатинрибозиды и зеатиннуклеотиды определяли зоны нахождения соответствующих цитокининов в образцах. Гормоны элюировали натрий-фосфатным буфером (рН 7,2-7,4) в течение ночи при 4 °С затем проводили их количественное определение с помощью иммуноферментного анализа как описано ранее [Kudoyarova et al., 2014].

Через 4 суток после рассаживания растений по растворам с разной концентрацией макроэлементов проводили измерение длины зародышевого корня.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

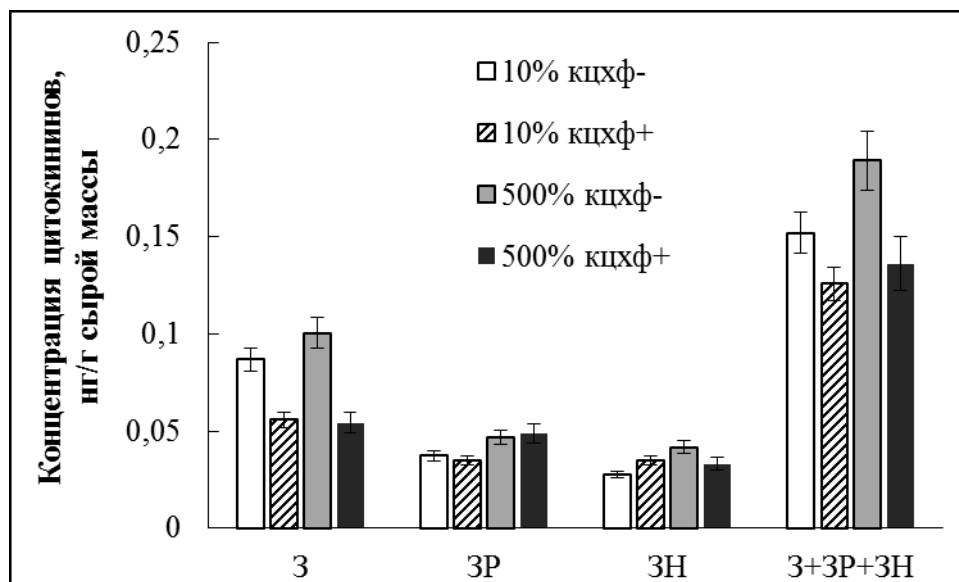
Как и следовало ожидать, сверхоптимальный уровень минерального питания приводил к ингибированию удлинения корней растений (рис. 1). Длина зародышевого корня у растений, получавших 500%-ный питательный раствор Хогланда-Арнона в течение 4 суток, была на 40% меньше по сравнению с растениями на оптимальном питании.



**Рис. 1.** Длина зародышевого корня 8-суточных растений пшеницы через 4 суток после переноса с оптимального (10%) на концентрированный (500%) питательный раствор Хогланда-Арнона (n = 20).

Концентрация цитокининов в корнях растений пшеницы на сверхоптимальном питании была выше по сравнению с оптимальным (рис. 2, светло-серые и белые столбики, соответственно), что согласуется с данными литературы [Кудоярова и др. 1989]. Известно, что цитокинины ингибируют как накопление массы корней, так и их удлинение [Коробова и др., 2016; Ivanov, Filin, 2018]. Поэтому повышение содержания этих гормонов в корнях на 500%-ной среде могло быть причиной укорочения этих органов.

Введение ингибитора вторично активного переноса КЦХФ приводило к резкому снижению суммарного содержания цитокининов в корнях растений как на оптимальном, так и на избыточном минеральном питании (рис. 2, полосатые и темно-серые столбы «З+ЗР+ЗН»). Это свидетельствует в пользу нашего предположения о том, что при высоком уровне макроэлементов происходит активное поглощение цитокининов клетками корней



**Рис. 2. Концентрация цитокининов (З – зеатин, ЗР – зеатинрибозид, ЗН – зеатиннуклеотид), в корнях 4-суточных растений пшеницы через сутки после переноса с оптимального (10%) на концентрированный (500%) питательный раствор Хогланда-Арнона; «кцхф+» - растения, обработанные протонофором карбонилцианид-м-хлорфенилгидразоном в течение 1 часа (n = 9).**

вследствие чего тормозится их отток в побеги. В результате происходит торможение удлинения корней. Торможение удлинения корней может иметь адаптивное значение в ситуации, когда корни попадают в очаг нитратов, что позволяет более эффективно поглощать эти ионы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.
2. Харрасова Р.И., Коробова А.В., Иванов И.И., Зайнутдинова Э.М., Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р. Механизм формирования разных по длине корневых прядей растений пшеницы при локальном питании // Известия Уфимского Научного Центра РАН. 2018. № 2. С. 82–85. DOI: 10.31040/2222-8349-2018-0-2-82-85
3. Agren G.I., Franklin O. Root:shoot ratios, optimization and nitrogen productivity // Annals of Botany. 2003. V. 92. P. 795–800. DOI: 10.1093/aob/mcg203
4. Ivanov V.B., Filin A.N. Cytokinins regulate root growth through its action on meristematic cell proliferation but not on the transition to differentiation // Functional Plant Biology. 2018. V. 45. P. 215-221. DOI: 10.1071/FP16340
5. Коробова А.В., Высоцкая Л.Б., Васинская А.Н., Кулуев Б.Р., Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р. Связь накопления биомассы корней с содержанием и метаболизмом цитокининов у нечувствительных к этилену растений // Физиология растений. 2016. Т. 63. С. 636–643. DOI: 10.7868/S0015330316050079
6. 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. Accumulation of cytokinins in roots and their export to the shoots of durum wheat plants treated with the protonophore carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP) // J. Exp. Bot. 2014. V. 65 P. 2287-2294. DOI: 10.1093/jxb/eru113