

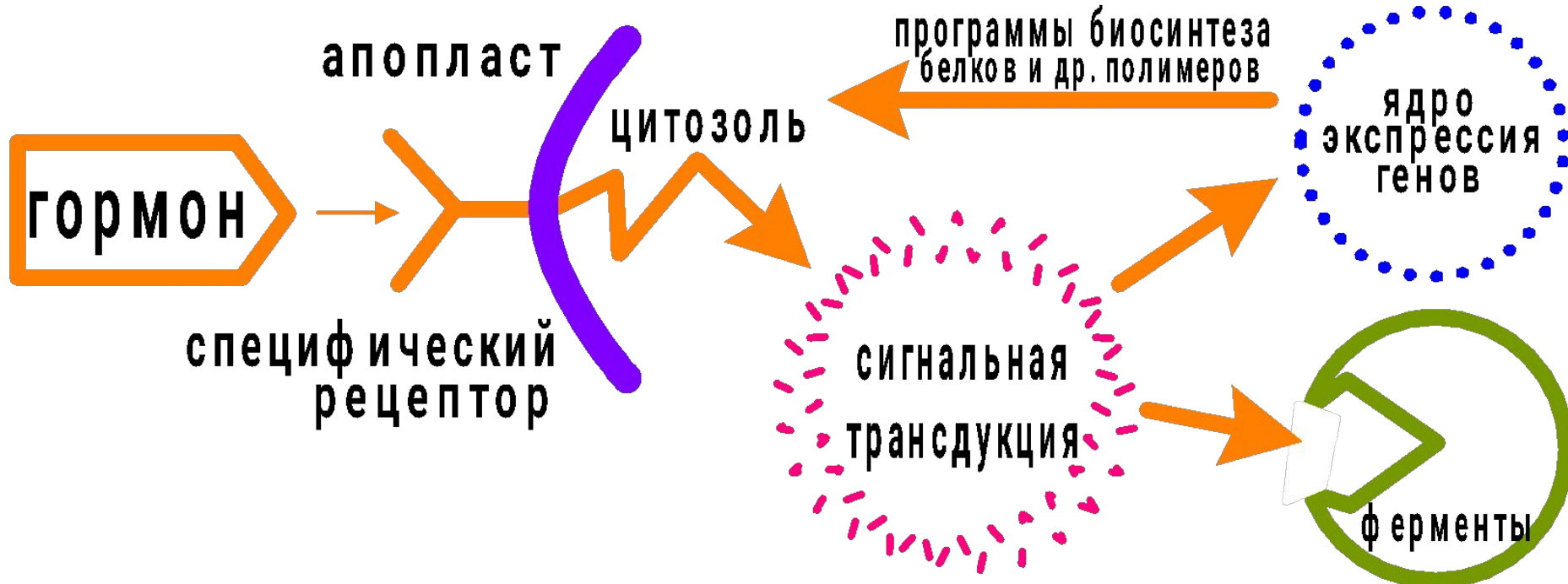
Рост и развитие растений



**Основные фитогормоны.
Тропизмы и их механизмы.**

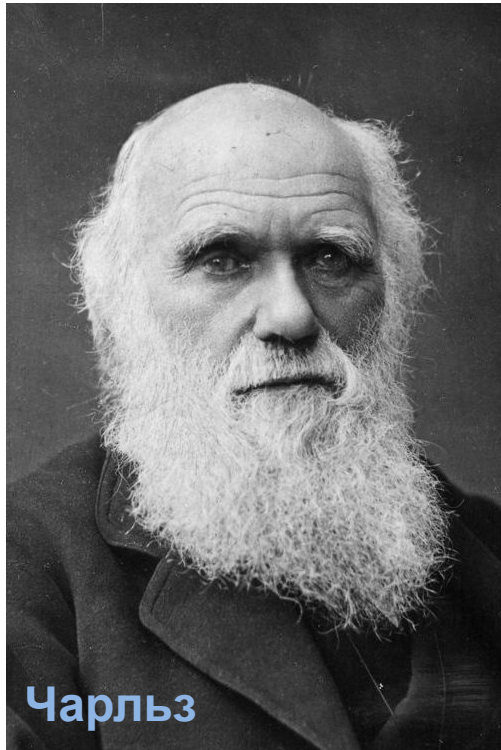
Гормон – химическое вещество, выделяемое клетками и модифицирующее физиологию клеток и организма.

Гормоны действуют при низких концентрациях и обычно имеют высокую аффинность связывания с мишенью, которой чаще всего выступает специфический рецептор для данного гормона, синтезируемый клеткой. Рецептор активирует специфический сигнал через один или несколько путей сигнальной трансдукции, что ведет к прямому изменению в работе ферментов или к изменению экспрессии генов (а затем ферментов).



Историю открытия и изучения фитогормонов – по учебнику!

В 19 веке, **Чарльз Дарвин** и его сын **Фрэнсис Дарвин** провели эксперименты по фототропизму и обнаружили, что проростки загибаются к свету, только если кончик coleoptily intact (не поврежден и вообще присутствует).

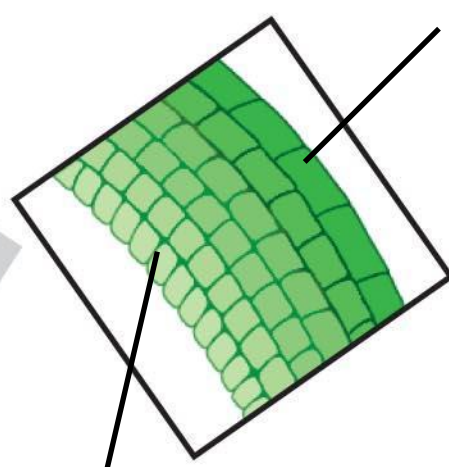


Они постулировали гипотезу, согласно которой сигналы-регуляторы в растении – это химические вещества, синтезируемые в кончиках растущих тканей и затем распространяющиеся в зону роста растяжением.

Результаты

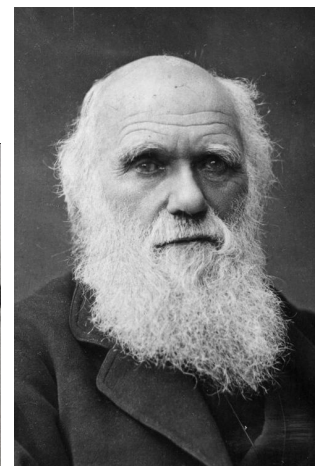
Контроль

Свет



Затененная
сторона
колеоптиля

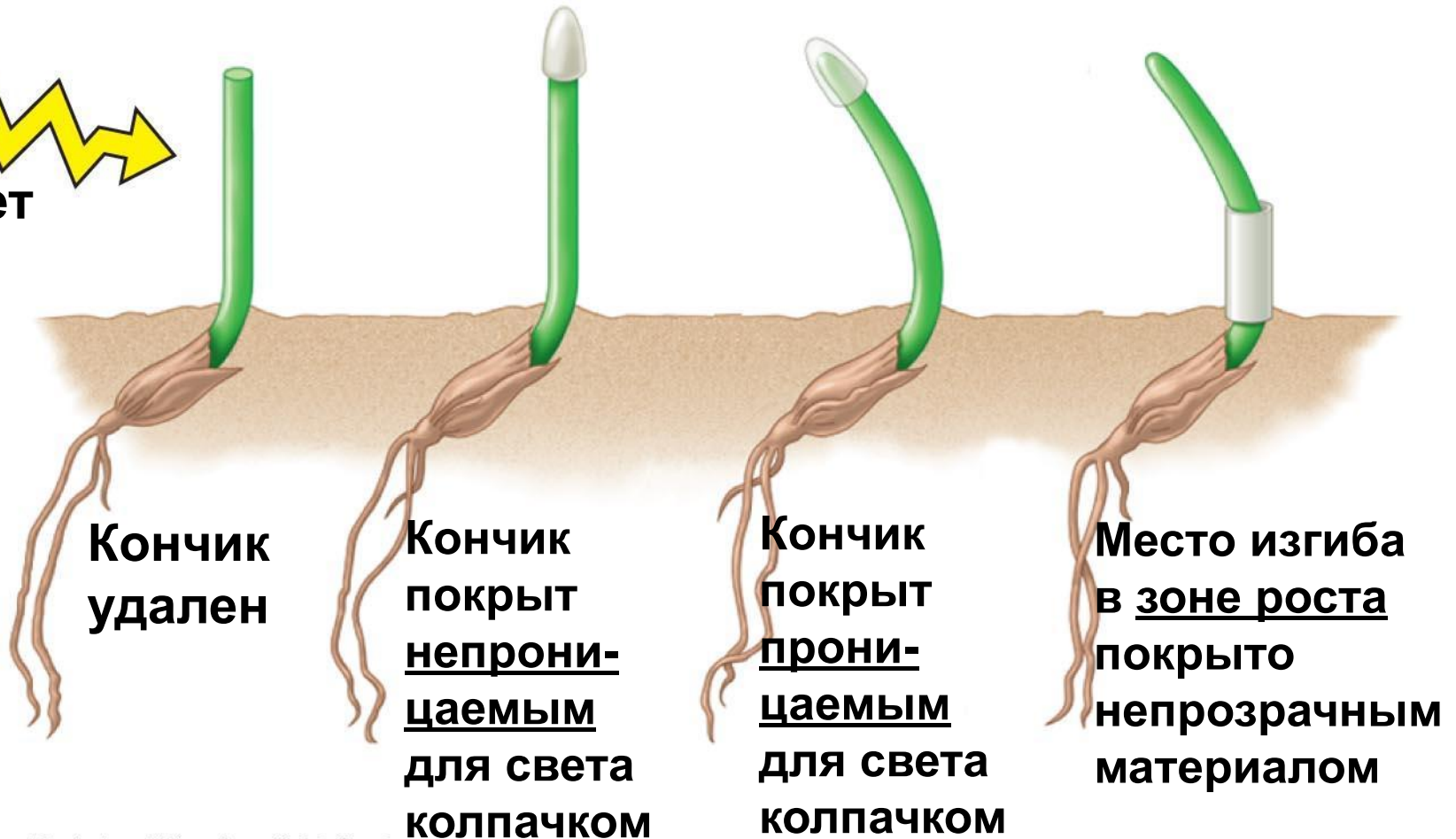
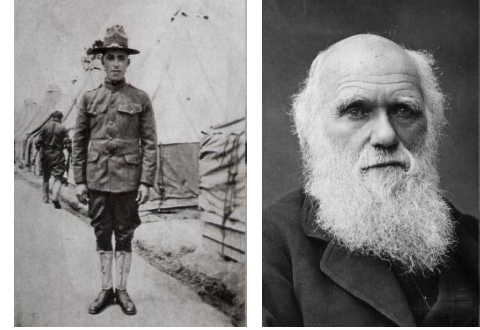
Освещенная
сторона
колеоптиля



Результат

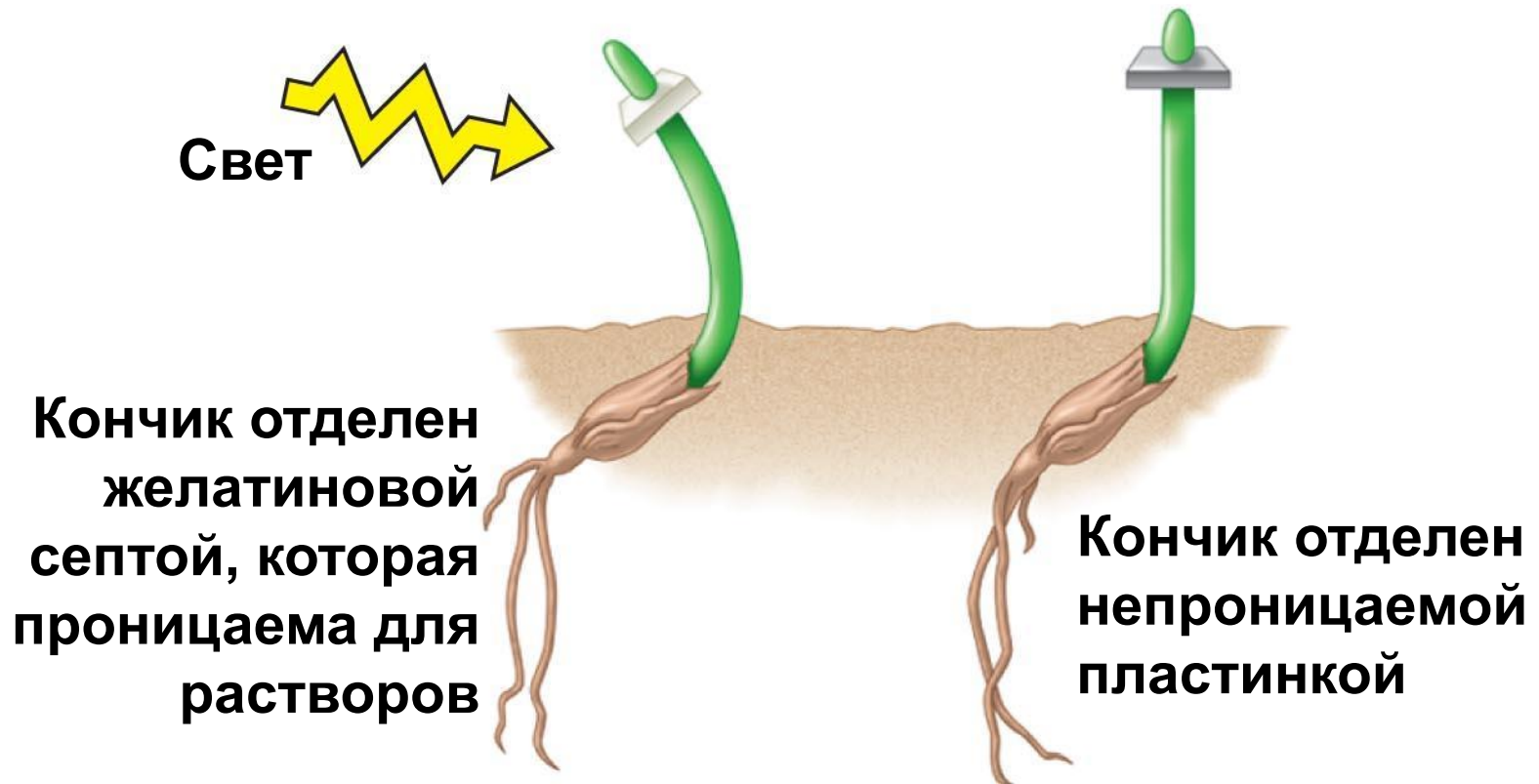
ы

Дарвин (19-го века)
Дарвин: фототропический ответ возникает только когда кончик освещен



1913 год, **Питер Бойсен-Дженсен** продемонстрировал, что ростовой сигнал – это мобильное химическое вещество

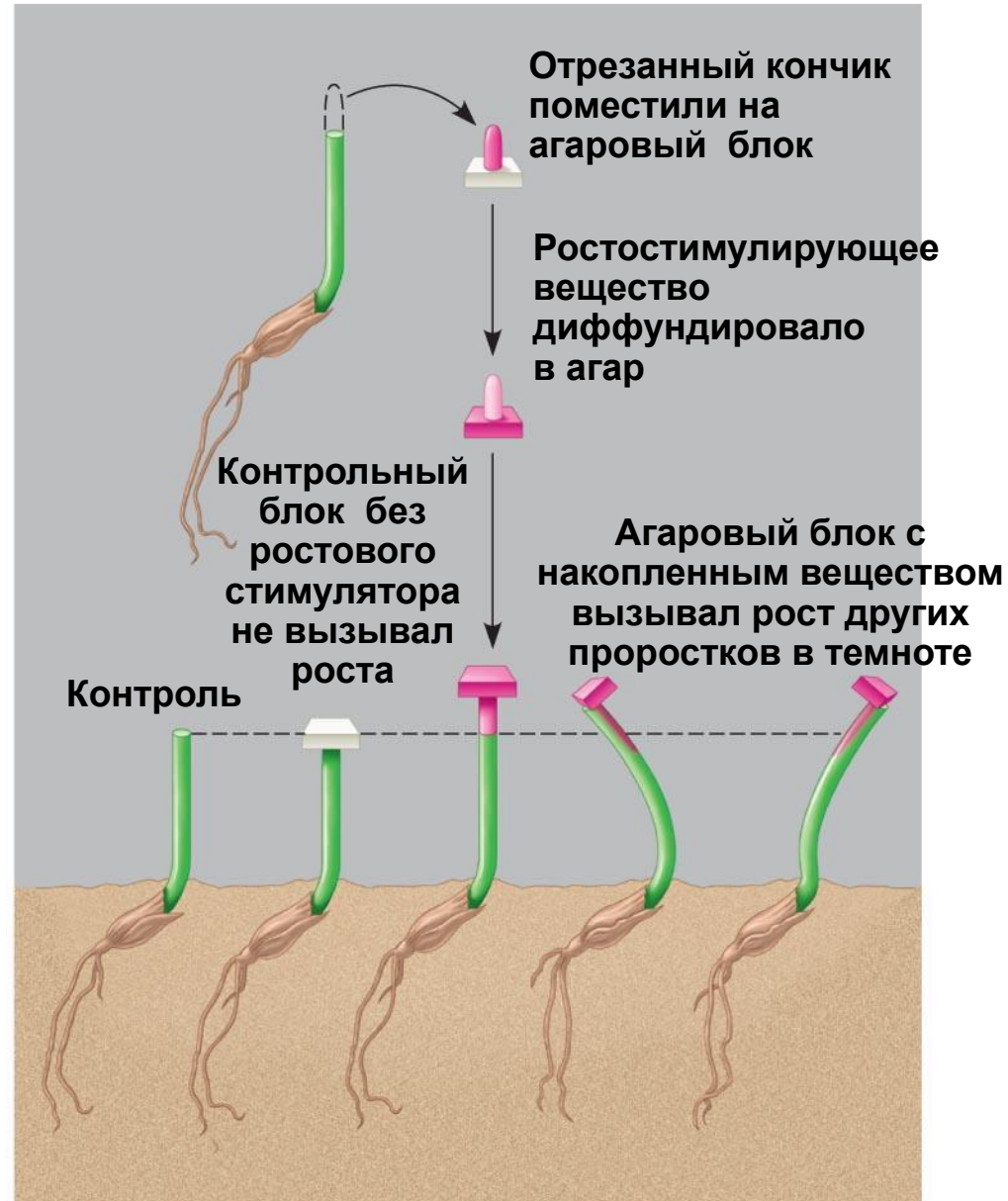
Boysen-Jensen: фототропический ответ наблюдался в случае, когда кончик был разрезан, но соединен проницаемой для растворов септой.



В 1920-ых годах, **Фритц Вент** (Голландия) экстрагировал химический посредник фототропизма, назвав его ауксином. Его химическую природу описал **Кеннет Тиманн** в 20-е годы. Вместе с Вентом написали книгу: *Phytohormones*, in 1937.

Николай Холодный (Украина) предложил теорию движения ауксина по растению с целью регуляции ростовых процессов (Теория Холодного-Вента).

Результаты



Hormone	Where Produced or Found in Plant	Major Functions
Auxin (IAA)	Shoot apical meristems and young leaves are the primary sites of auxin synthesis. Root apical meristems also produce auxin, although the root depends on the shoot for much of its auxin. Developing seeds and fruits contain high levels of auxin, but it is unclear whether it is newly synthesized or transported from maternal tissues.	Stimulates stem elongation (low concentration only); promotes the formation of lateral and adventitious roots; regulates development of fruit; enhances apical dominance; functions in phototropism and gravitropism; promotes vascular differentiation; retards leaf abscission.
Cytokinins	These are synthesized primarily in roots and transported to other organs, although there are many minor sites of production as well.	Regulate cell division in shoots and roots; modify apical dominance and promote lateral bud growth; promote movement of nutrients into sink tissues; stimulate seed germination; delay leaf senescence.
Gibberellins	Meristems of apical buds and roots, young leaves, and developing seeds are the primary sites of production.	Stimulate stem elongation, pollen development, pollen tube growth, fruit growth, and seed development and germination; regulate sex determination and the transition from juvenile to adult phases.
Brassinosteroids	These compounds are present in all plant tissues, although different intermediates predominate in different organs. Internally produced brassinosteroids act near the site of synthesis.	Promote cell expansion and cell division in shoots; promote root growth at low concentrations; inhibit root growth at high concentrations; promote xylem differentiation and inhibit phloem differentiation; promote seed germination and pollen tube elongation.
Abscisic acid (ABA)	Almost all plant cells have the ability to synthesize abscisic acid, and its presence has been detected in every major organ and living tissue; may be transported in the phloem or xylem.	Inhibits growth; promotes stomatal closure during drought stress; promotes seed dormancy and inhibits early germination; promotes leaf senescence; promotes desiccation tolerance.
Ethylene	This gaseous hormone can be produced by almost all parts of the plant. It is produced in high concentrations during senescence, leaf abscission, and the ripening of some types of fruits. Synthesis is also stimulated by wounding and stress.	Promotes ripening of many types of fruit, leaf abscission, and the triple response in seedlings (inhibition of stem elongation, promotion of lateral expansion, and horizontal growth); enhances the rate of senescence; promotes root and root hair formation; promotes flowering in the pineapple family.

Ауксин (греч. *auxein* - «расти/увеличиваться»)

Любой химический агент, стимулирующий растяжение колеоптилей (*классификация по физиологической активности!*).

Индолил-3-уксусная кислота (ИУК) – основной ауксин, но есть еще как минимум 3.

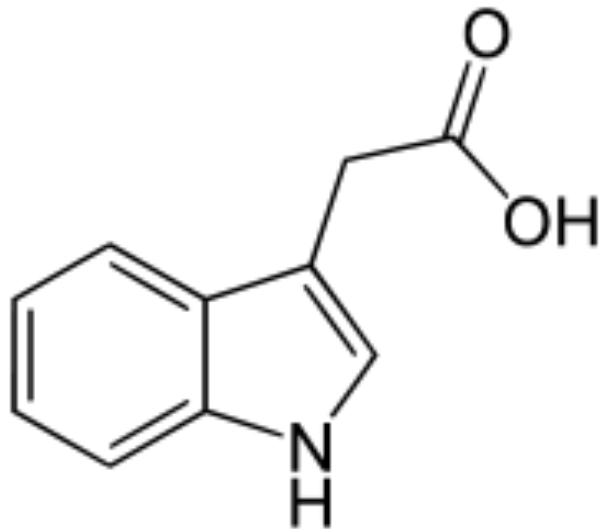
Модернизированная теория Холодного-Вента:

Аукусиновые транспортеры переносят ауксин из базального конца клетки в апикальную часть соседней клетки.



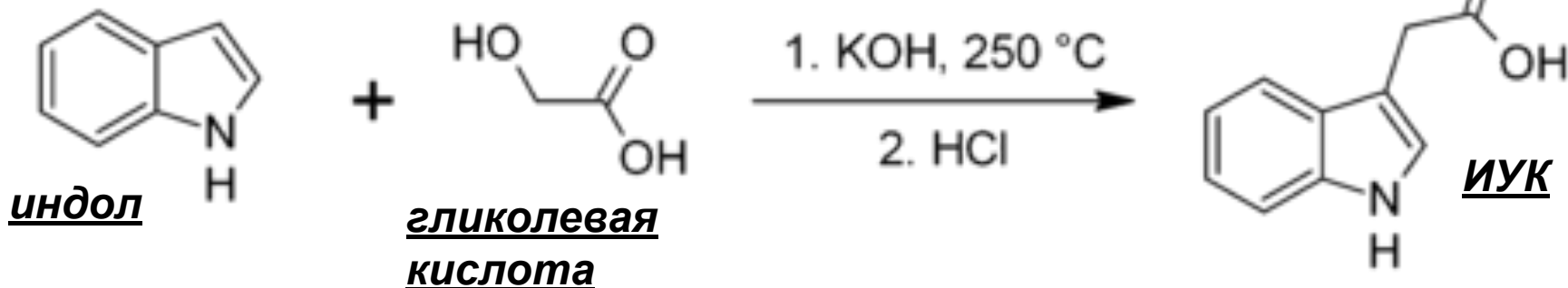
Кристаллы фенилацетата хорошо растворимы в воде

Природные (эндогенные) ауксины – точно известно про четыре гормона:

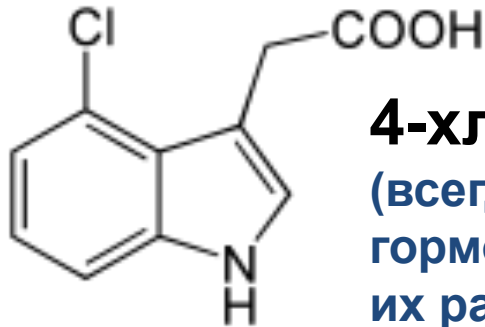


1 – наиболее обильный и важный:
индолил-3-уксусная кислота (ИУК)
(IUPAC: 2-(1H-indol-3-yl)acetic acid)
Индол – гетероцикл +
карбоксиметильная группа
(ацетил)

Химический синтез ИУК *не в клетке! (биосинтезы
гормонов – самим по учебнику! формулы
промежуточный продуктов не надо)

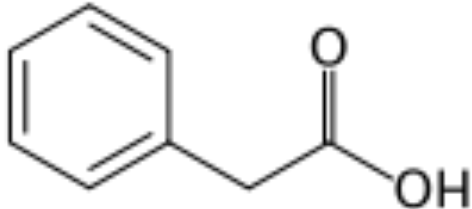


Другие три природных (эндогенных) ауксина –



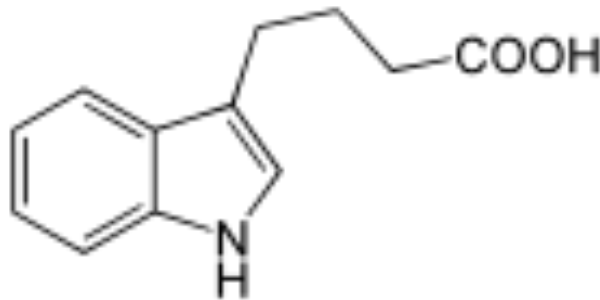
4-хлороиндолил-3-уксусная кислота

(всегда есть в семенах бобовых, возможно гормон смерти – им семена убивают порождающее их растение)



2-фенилуксусная кислота

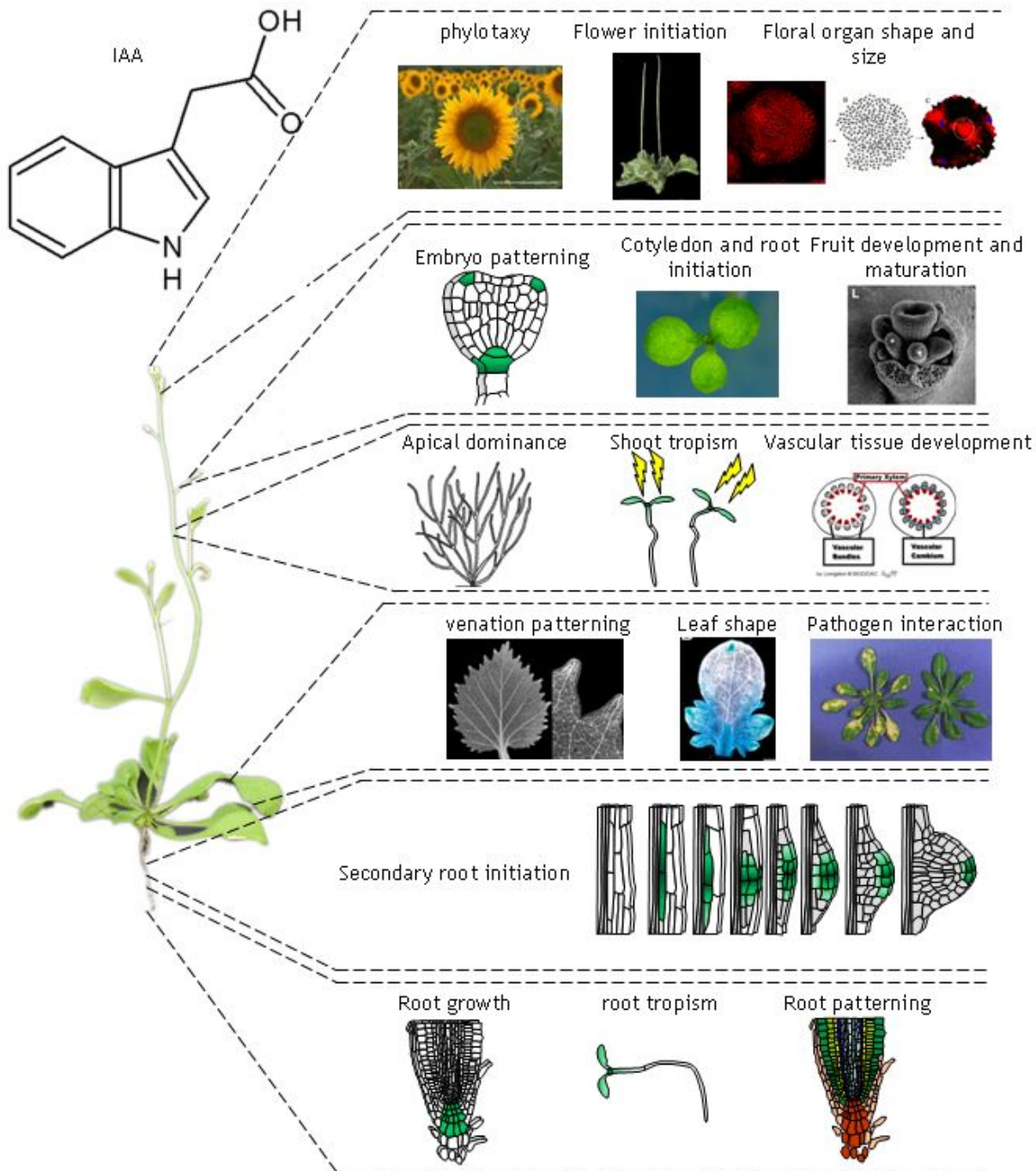
(почти всегда обнаруживается в фруктах)

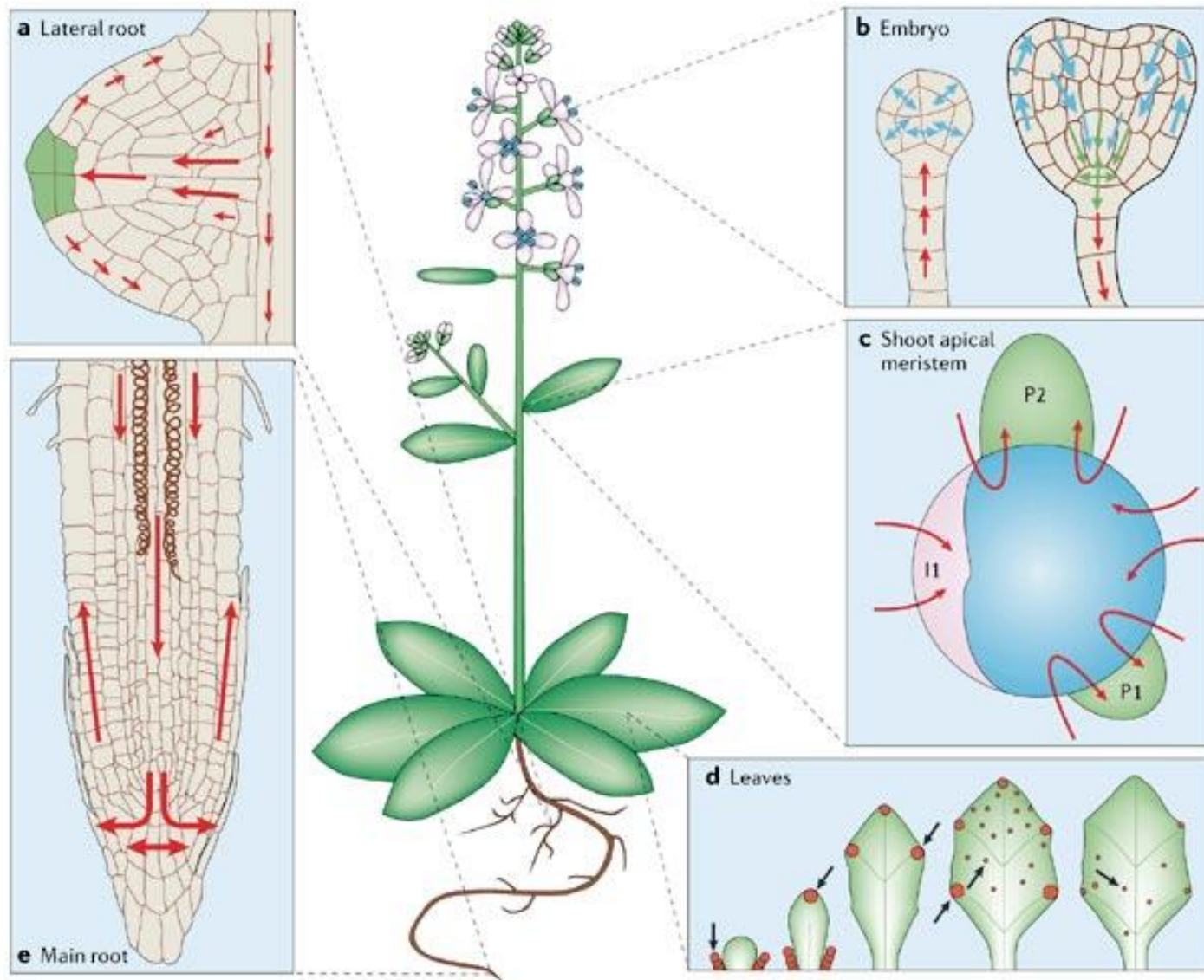


индолил-3-масляная кислота

(всегда присутствует у *Salix*)

Растения синтезируют ауксины несколькими независимыми путями. Четыре из этих путей начинаются с триптофана, но есть и пятый путь – независимый от триптофана. Промежуточный продукт чаще всего индол-3-пируват, реже индол-3-ацетальдоксим.



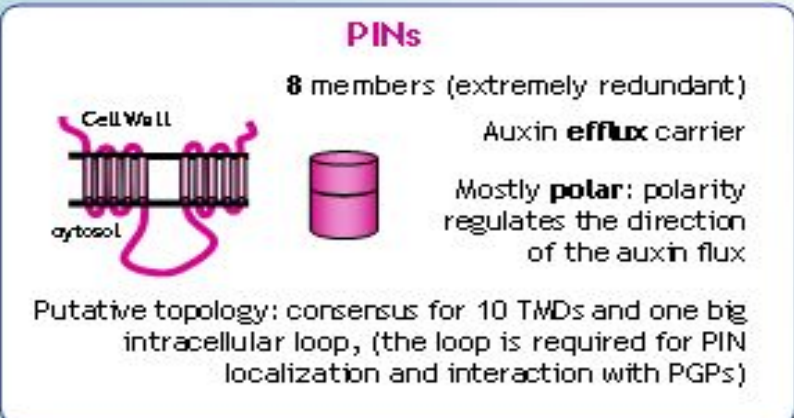
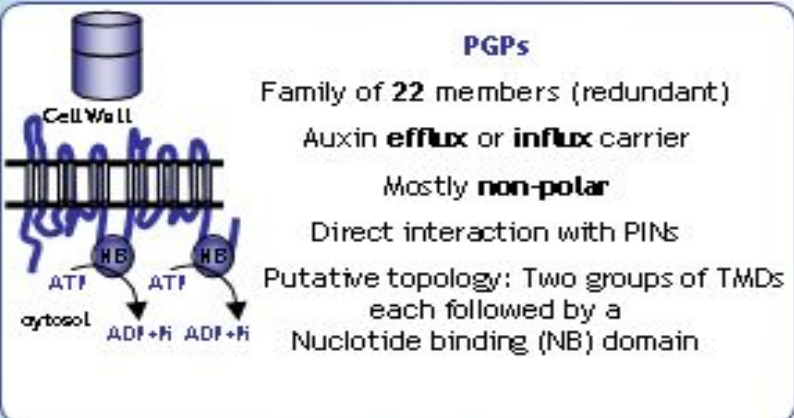


Недавний обзор по проблеме транспорта ауксина

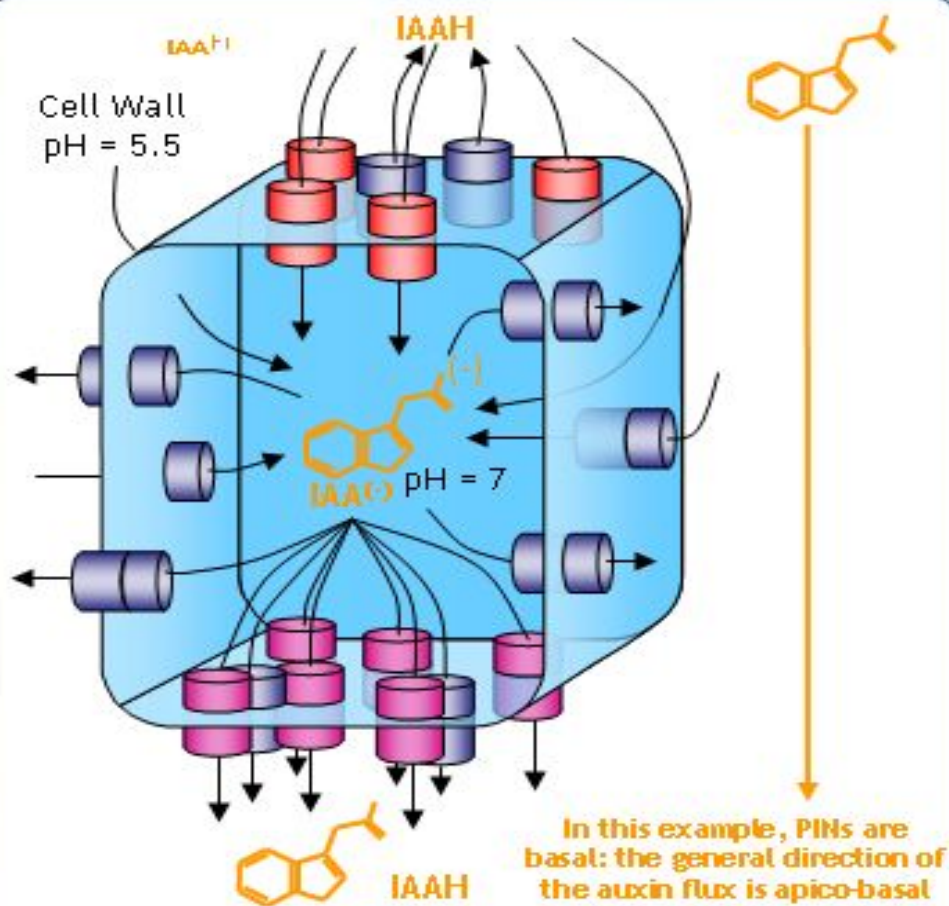
Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Teale et al. Nature Reviews Molecular Cell Biology 7, 847–859 (November 2006) | doi:10.1038/nrm2020

Box1: the chemiosmotic theory and the three families of auxin carriers



Auxin is a weak acid with a dissociation constant of $pK \approx 4,8$. Hence, it is present under two forms: the anion IAA^{-} and the protonated $IAAH$ dependent on the pH compartment. In neutral compartments (cytoplasm), IAA^{-} dominates, whereas in acidic compartments (cell wall) both $IAAH$ and IAA^{-} are present. $IAAH$ can freely diffuse across the PM, but there is still a proportion of IAA^{-} which need to be transported inside the cell by the action of influx transporter (AUX/LAX and PGP). IAA^{-} cannot pass through membrane and need to be actively transported by efflux carriers (PIN, PGP), the polarity of which regulates the direction of the auxin flux (PIN).



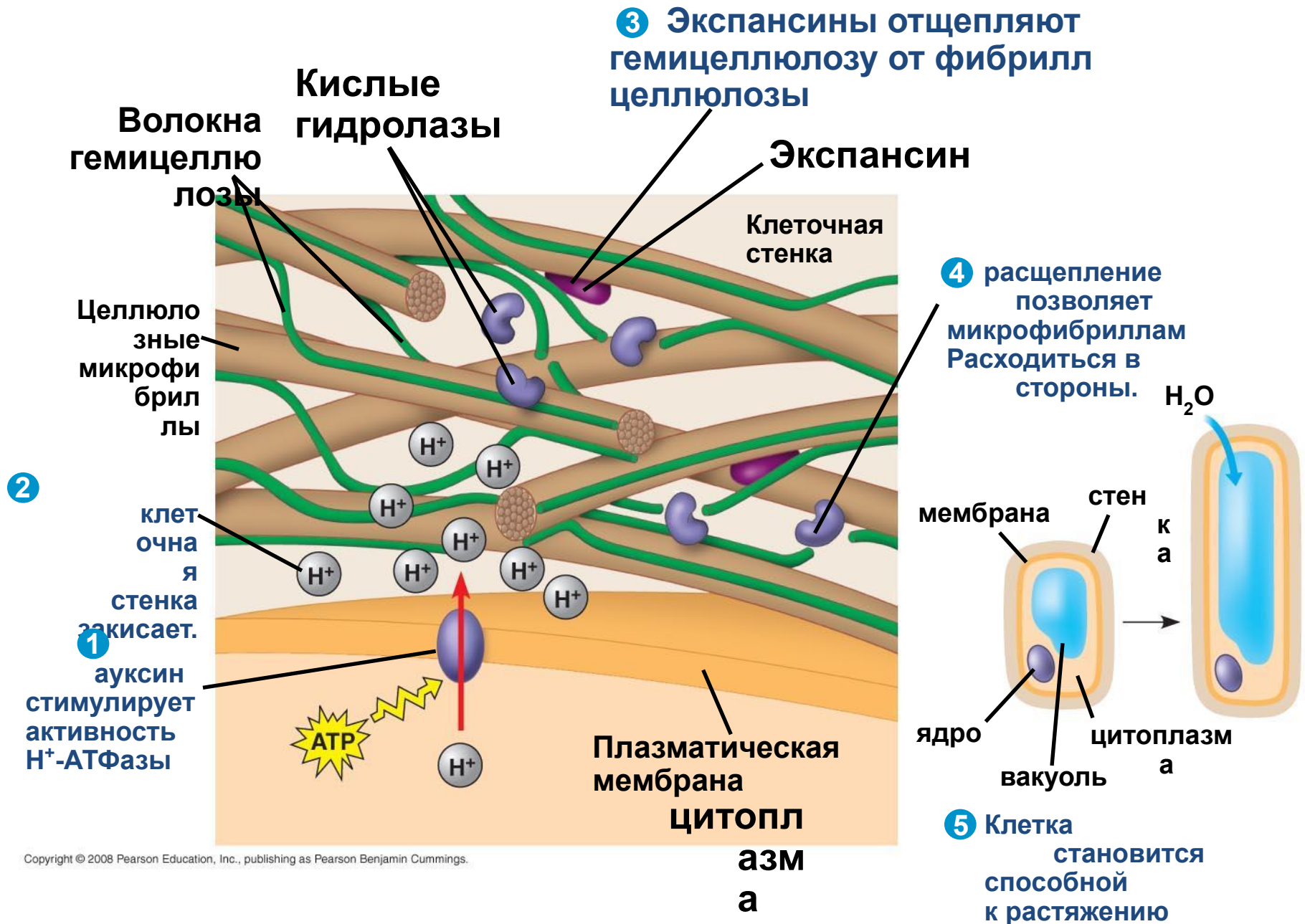
Как ауксины стимулируют рост?

- H^+ -АТФазы, - экспансины

Ауксин стимулирует протонную АТФазу; выделяемые этим ферментом H^+ ослабляют связи клеточной стенки и стимулируют ***кислые экзогидролазы***.

Протоны также стимулируют ЭКСПАНСИНЫ, представляющие собой неферментативные системы, вероятно, способные ослаблять адгезивные (нековалентные) взаимодействия между фибриллами целлюлозы и соединительными волокнами гемицеллюлозы.

Механизм 1



Уже для вас известный механизм (механизм 2):

1 - H^+ -АТФаза гиперполяризует мембрану, выкачивая положительно заряженные H^+ наружу.

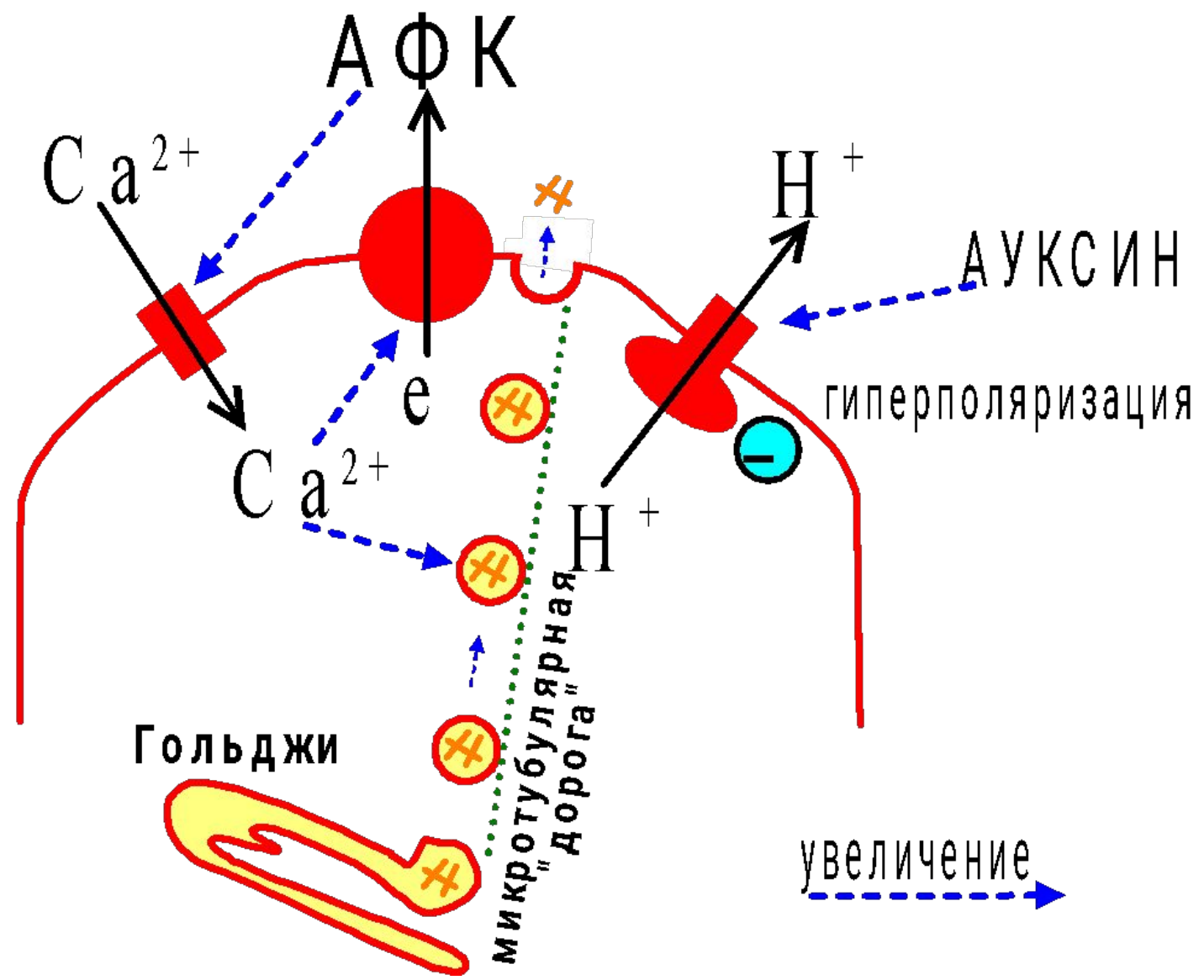
2 – Это активирует открывание гиперполяризационно-активируемых Ca^{2+} -проницаемых каналов

3 - Ca^{2+} стимулирует актомиозиновые взаимодействия и полярный транспорт везикул с новым клеточным материалом из к-са Гольджи.

4 – Возросший цитоплазматический Ca^{2+} стимулирует НАДФН-оксидазу – идет генерация АФК. Что дополнительно стимулирует каналы и вход Ca^{2+} в цитоплазму – эффект усиления!

прямое расщепление полисахаридов под действием гидроксильных радикалов

Механизм 2

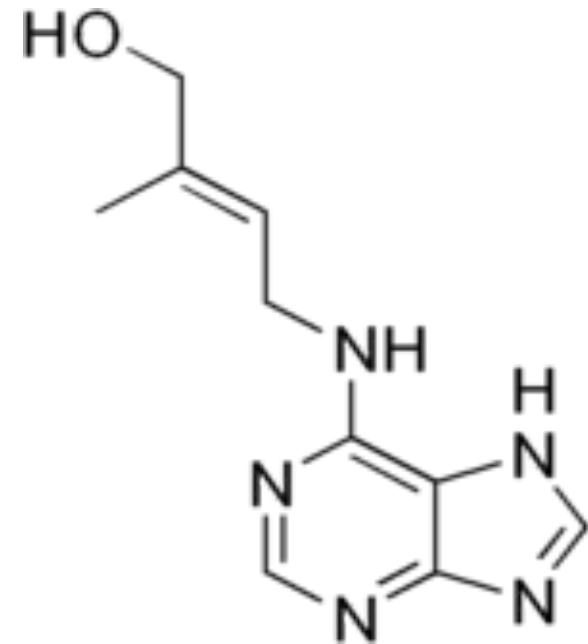


Цитокинины стимулируют цитокинез(ис) – деление клеток

Контролируют клеточное деление и дифференциацию у растений.

Синтезируются в растущих тканях: кончики корней, эмбрионы, фрукты.

Функционируют совместно с ауксинами в контроле роста.



Зеатин (первый описанный цитокинин из кукурузы)

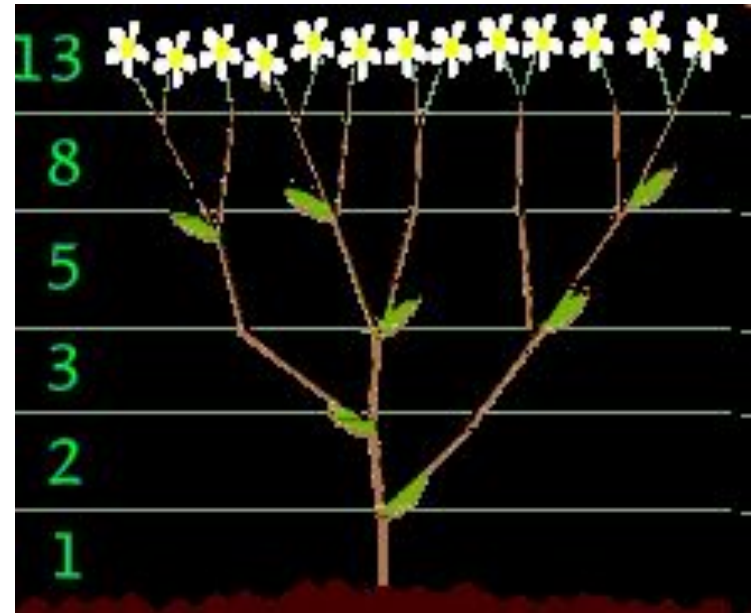
Цитокинины, ауксин и ряд других факторов взаимодействуют для контроля апикального доминирования.

В апик. домин. терминальная (верхушечная) почка подавляет рост боковых почек (образование боковых побегов).

Цитокинины вызывают образование новых почек и, соответственно, ветвление стеблей и корней, образование соцветий. Это исключительно специфическое действие цитокининов.

Цитокинины замедляют старение некоторых органов растения, ингибируя распад белков, стимулируют биосинтез РНК и белков, мобилизуя питательные вещества из окружающих тканей.

Синтез цитокининов идет в корнях и в семенах. Из корней цитокинины пассивно транспортируются в наземные органы по ксилеме.



Эффект цитокининов на ветвление

Можно выделить 2 типа цитокининов по их структуре:

1 – адениновый тип: кинетин, зеатин и 6-бензиламинопури

2 – фенил-мочевинный тип: дифенилмочевина и тидиазурон

Соотношение ауксина к цитокинину имеет огромное значение на рост растений. Цитокинин без ауксина не имеет эффекта на паренхимные клетки.

Без цитокинина ауксин вызывает удлинение, но клетки не делятся. Когда добавляется цитокинин клетки начинают делиться и дифференцироваться.

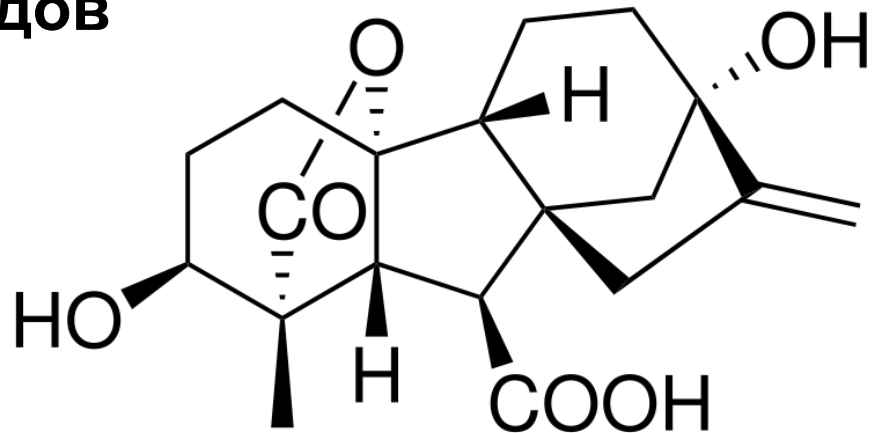
Когда поровну ауксина и цитокинина паренхимные клетки начинают формироваться недифференцированный каллус.

Добавление к каллусу больше цитокинина, чем ауксина, приводит к формированию почек побегов (растут побеги). В то же время, добавление ауксина (на фоне низкого уровня цитокинина) вызывает формирование корней

Гиббереллины (классификация по общей структуре!) также как и все гормоны имеют плеотропное действие:

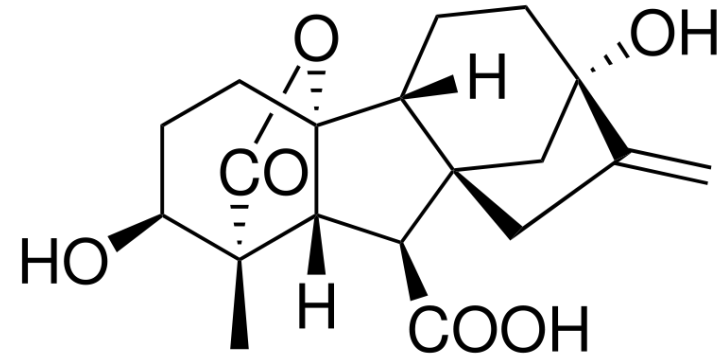
- Удлинение побегов
- Прорастание семян
- Рост фруктов
- Проявление половых признаков
- Индукция ряда ферментов
- Опадение листьев и плодов

Все гиббереллины дитерпеноиды. Синтезируются в терпеноидном пути в пластидах, затем модифицируются в ЭПР и цитоплазме до активной формы.



Гибберелловая кислота

Гиббереллины



Гиббереловая кислота

Гиббереллины бывают тетра- или пентациклической природы (с пятичленным лактонным кольцом!) и могут содержать 20 или 19 атомов углерода.

Большинство гиббереллинов являются кислотами.

Индекс ГК₁, ГК₃ означает только порядок открытия в историческом плане.

У растений, грибов и бактерий обнаружено около 150 веществ, относимых к группе гиббереллинов.

ГК - открыта японским ученым Ейчи Куросавой в 1926 г. Как продукт патогенного гриба *Gibberella fujikuroi*, вызывающего заболевание риса *bakanae*. Тейжиро Ябута – изолировал и проанализировал ГК в 1935 году.

***Gibberella fujikuroi* вызывает *bakanae* – загружая в растение избыток ГК.**



Ауксин и гиббереллины регулируют созревание фруктов и закладку семян.

Gibberellins are used in spraying of Thompson Seedless, Russian Seedless, and Black Monukka grapes (usual varieties in the shop).



Gibberellin-induced stem growth



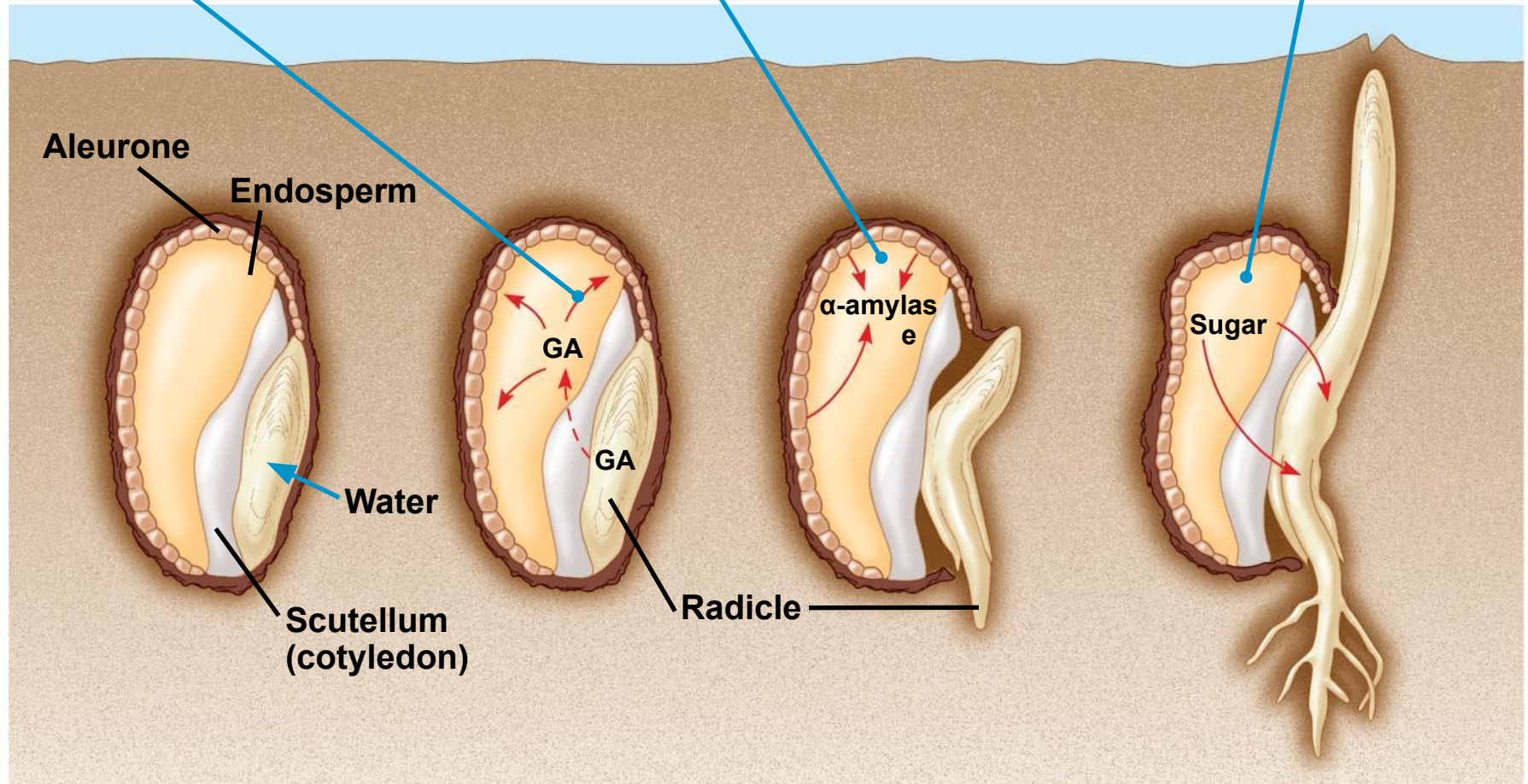
Gibberellin-induced fruit growth

Прорастание семени: во влажных условиях высвобождение гиббереллинов из эмбриотических клеток формирует сигнал для семян, индуцирующий прорастание.

1 Gibberellins (GA) send signal to aleurone.

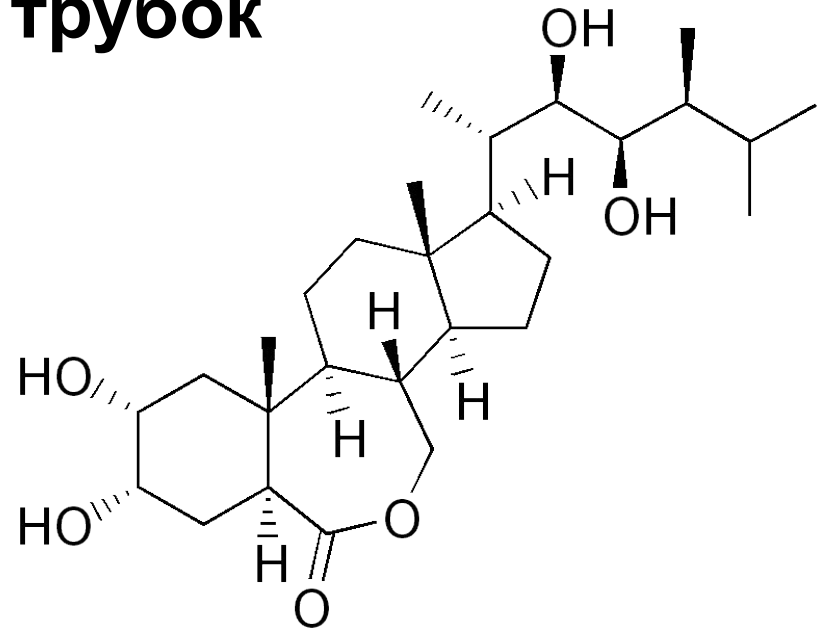
2 Aleurone secretes α -amylase and other enzymes.

3 Sugars and other nutrients are consumed.



Брассиностероиды – похожи на стероидные половые гормоны животных.

- удлинение клеток вместе с ауксином
- дифференциация сосудистых тканей
- удлинение пыльцевых трубок



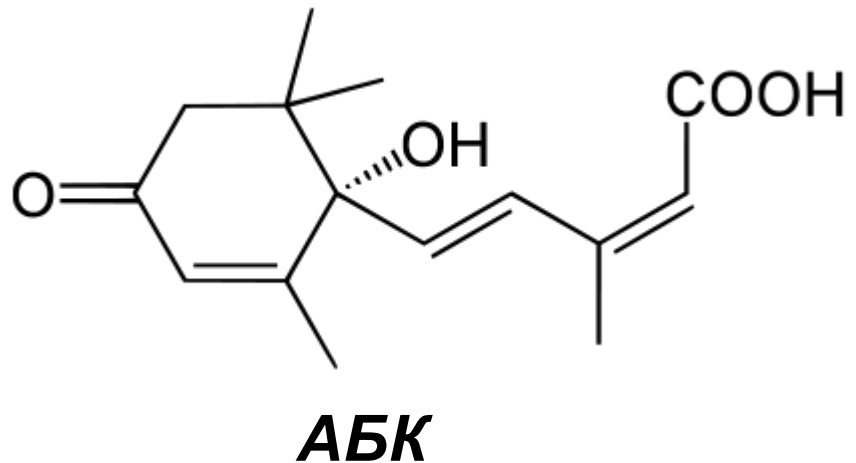
брасинолид

Абсцизовая кислота (АБК) замедляет рост

Два основных эффекта :

- Поддерживает покой семян
- Закрывает устьица при засухе

Изопреноидный
путь синтеза в
пластидах



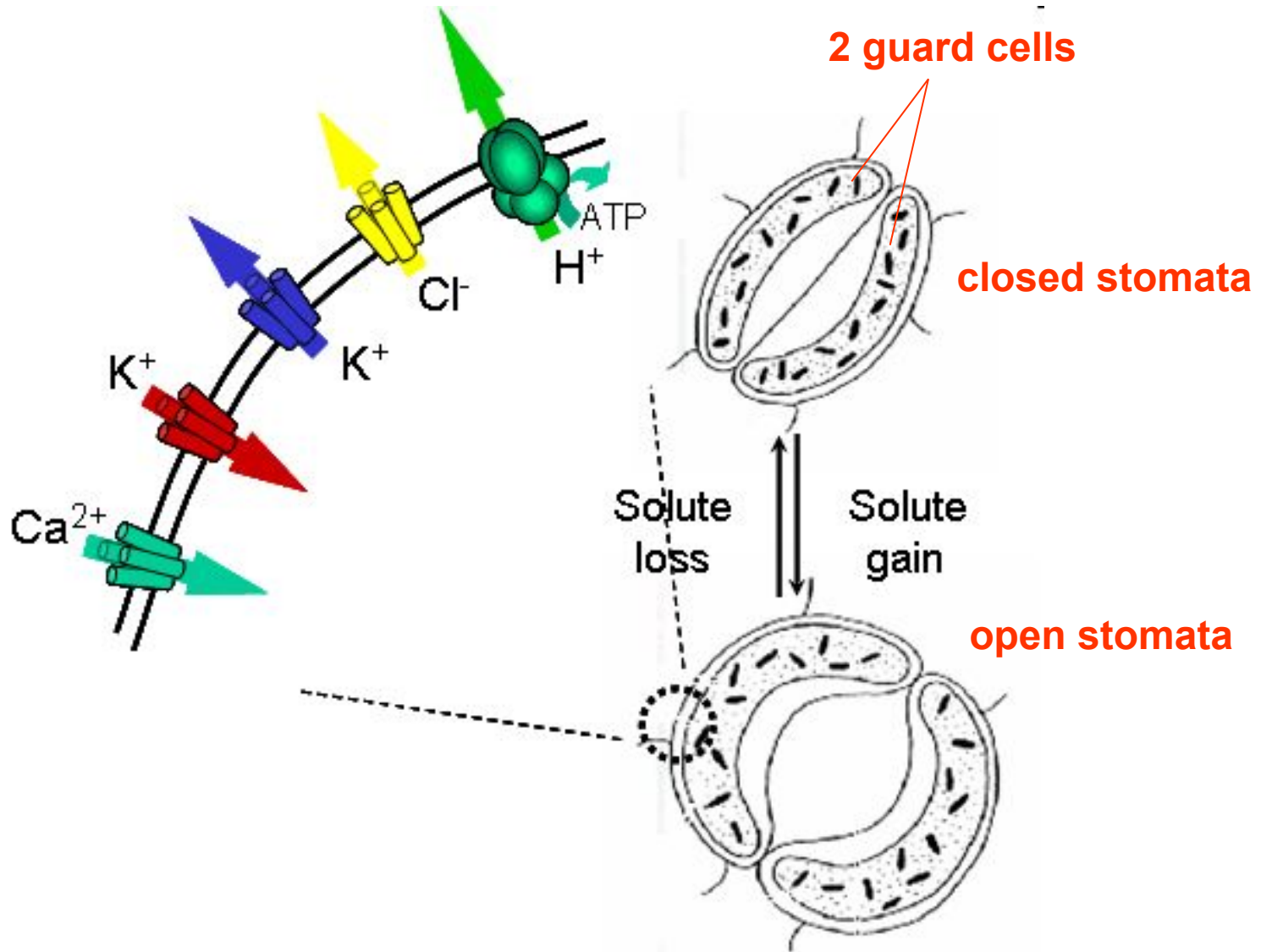


▶ **Early germination
in red mangrove**



▶ **Early germination
in maize mutant**

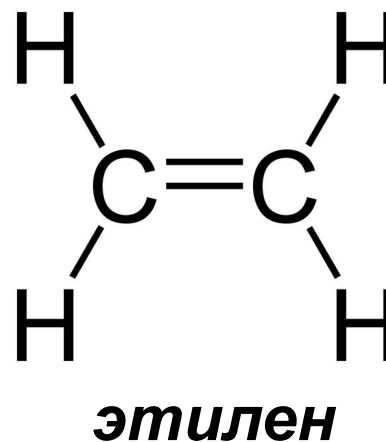
Стимулирует транспортные системы, вызывающие выход калия, малата и цитрата из замыкающих клеток

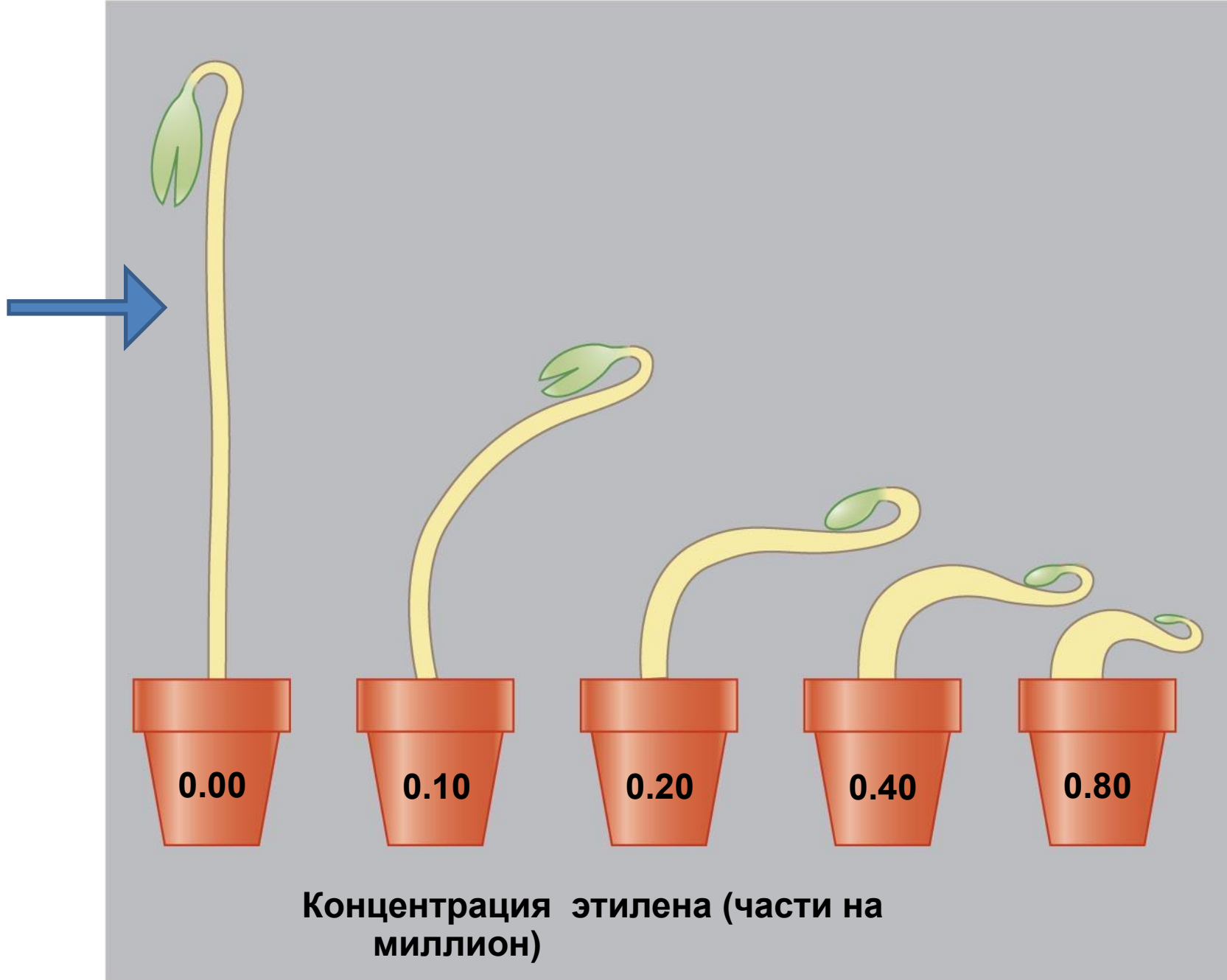


Этилен

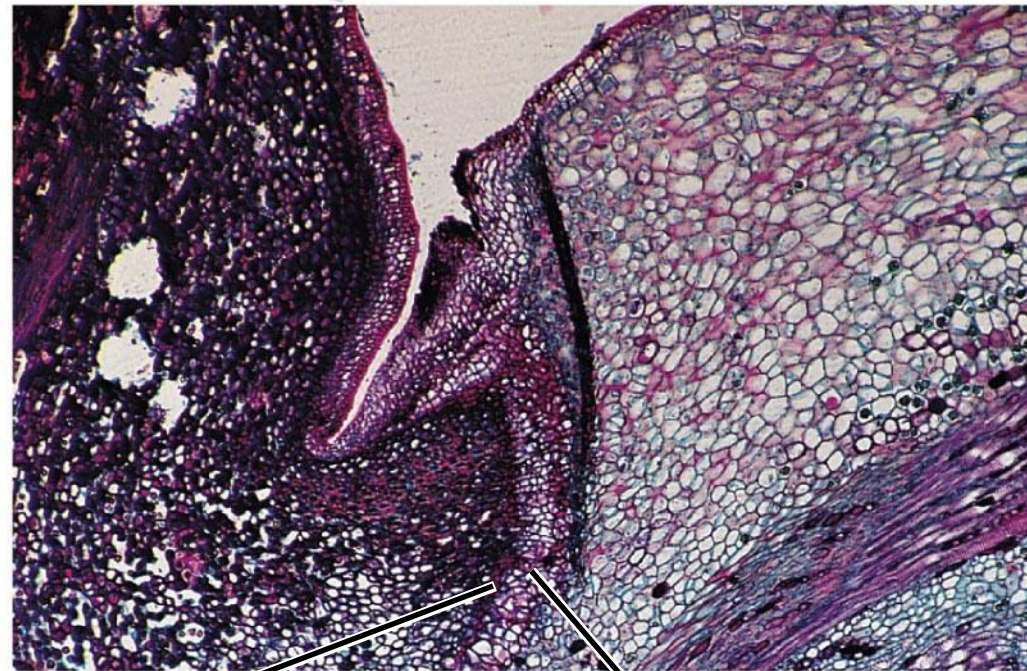
Продуцируется в ответ на стресс и повреждение.

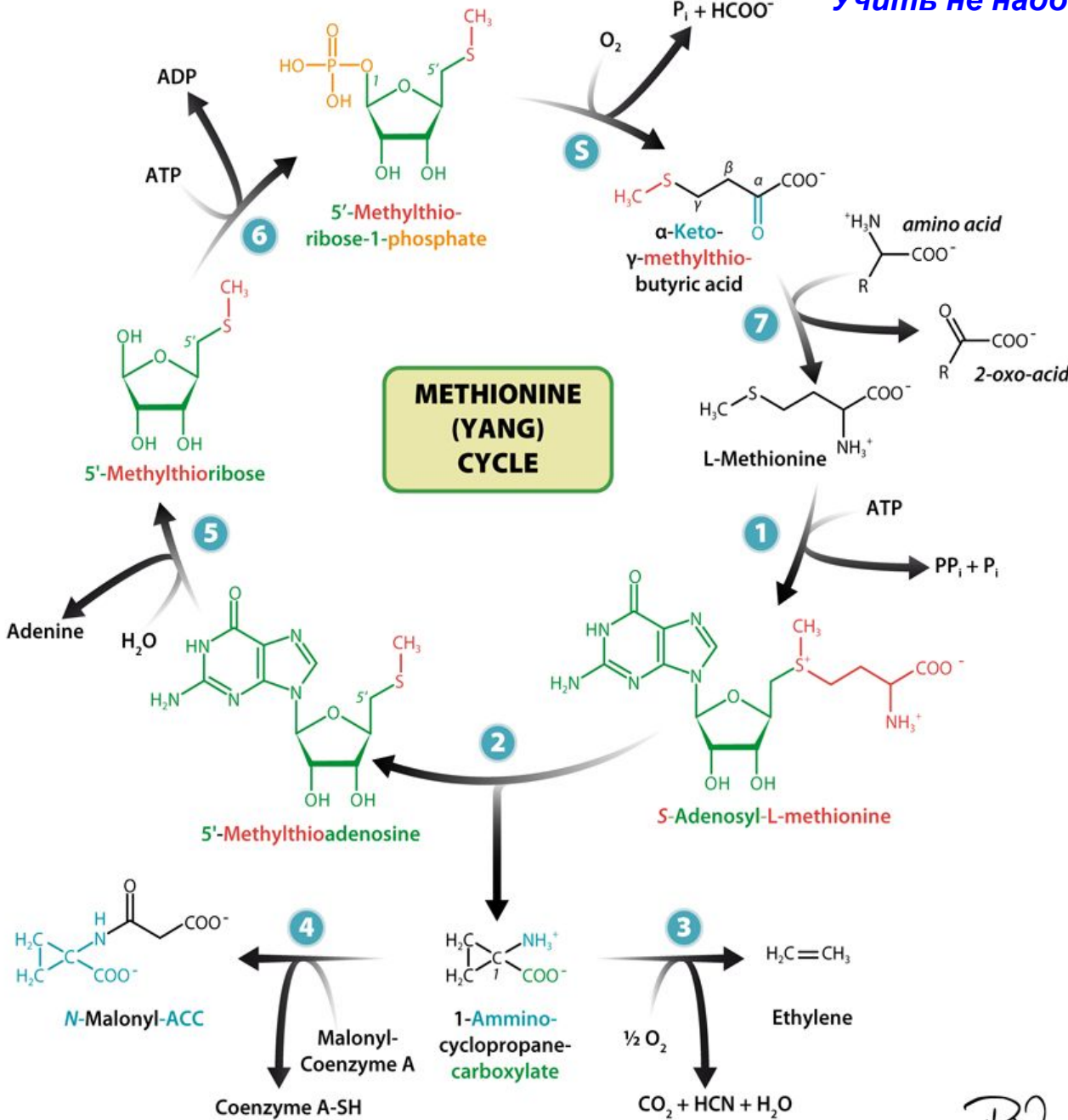
Вызывает опадание листьев, обеспечивает адаптацию метаболизма к стрессу, созревание фруктов.





**Уменьшение
уровня ауксина
и повышение
уровня этилена
приводит к
образованию
зоны отделения
в основании
черешка и
опадению
листьев.**





Enzymes

- 1 SAM synthetase
- 2 ACC synthase
- 3 ACC oxidase
- 4 ACC N-malonyl-transferase
- 5 MTA nucleosidase
- 6 MTR kinase
- 7 Transaminase
- S Spontaneous reaction

Abbreviations

ATP	Adeninnucleotidtriphosphate
ADP	Adeninnucleotiddiphosphate
ACC	1-Aminocyclopropane-carboxylate
HCN	Hydrocyanide acid
MTA	5'-Methylthioadenosin
MTR	5'-Methylthioribose
PP _i	Diphosphate (Pyrophosphate)
P _i	Phosphate
SAM	S-Adenosyl-L-methionine

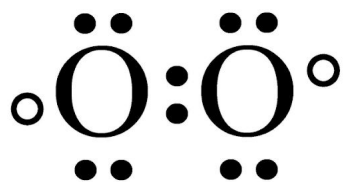
Sources

Buchanan BB, Grissem W, Jones RL (2000). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Am Soc Plant Phys (Rockville).
 Wang K C-L, Li H, Ecker JR (2002). Ethylene Biosynthesis and Signalling Networks. Plant Cell (Supplement) S131-S151.

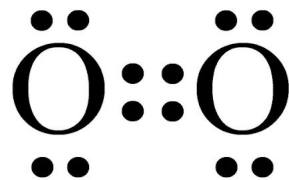
*Ph*₁₀₈

Наиболее биологически-значимые АФК

(группа I)



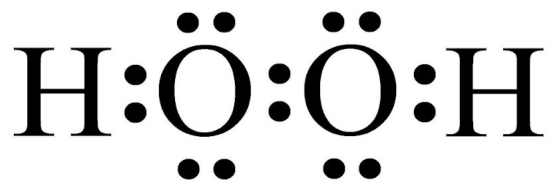
триплетный
кислород



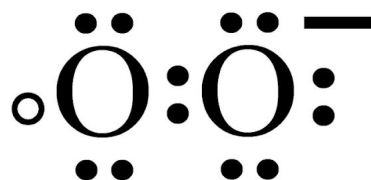
синглетный
кислород



гидроскильный
радикал



перекись
водорода



супероксид



монооксид
азота

Другие АФК, участвующие в оксидативном стрессе и физиологических реакциях (группа II)

Гидропероксильный (гидропероксидный) радикал HO_2^\bullet

Пероскильный радикал RO_2^\bullet

Алкоксильный радикал RO^\bullet

Пероксинитрит (оскопероксонитрат) ONOO^-

Озон O_3

Гипохлорная кислота HOCl

Потенциальные рецепторы АФК в клетках растений:

(А) двухкомпонентные гистидин-киназы (two-component histidine kinases);

(Б) редокс-чувствительные факторы транскрипции: система фактор/регулятор (в TGA окисление Цис-260 и Цис-266 препятствует связи с блокатором NPR1) и Heat Shock Factors (у дрожжей напрямую через 2-Цис);

(В) АФК-чувствительные фосфатазы;

(Г) редокс-регулируемые катионные каналы;

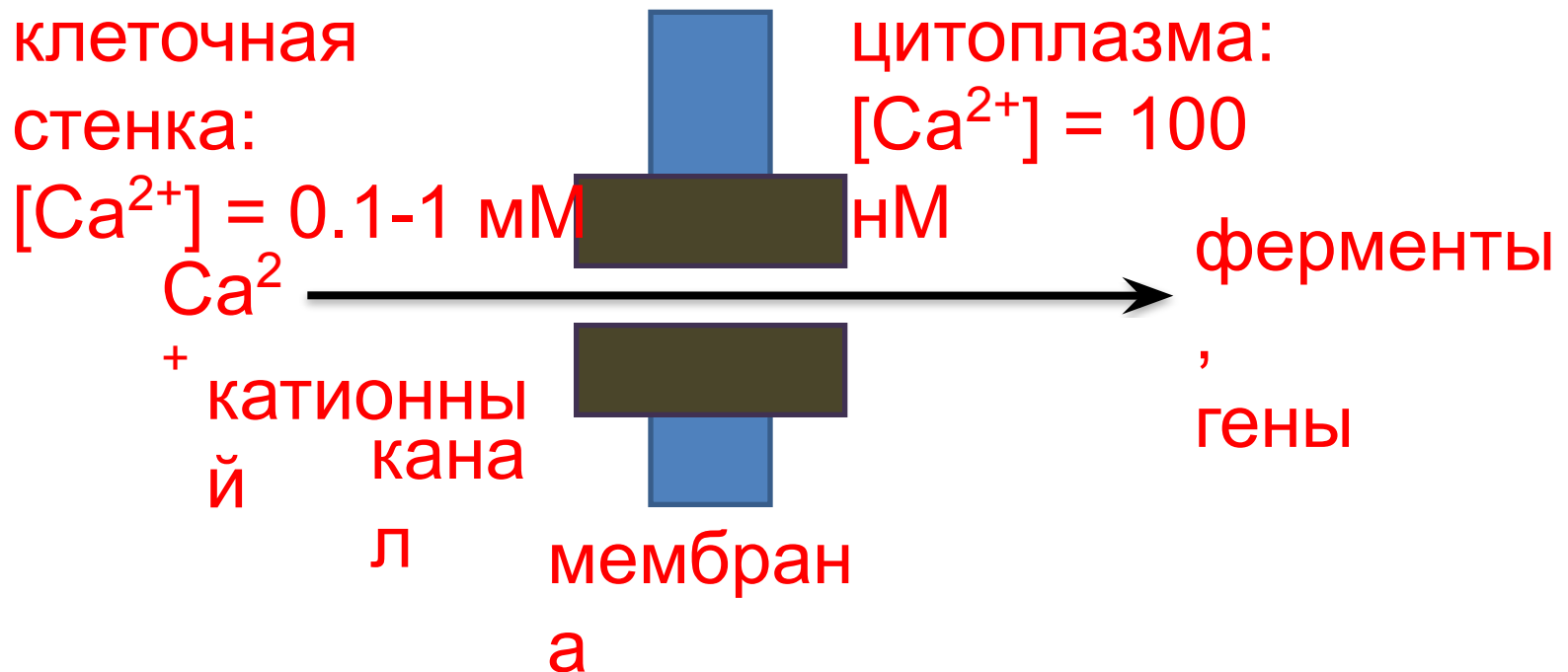
(Д) G-белки (*in vitro*: 20 μM H_2O_2 стимулировало диссоциацию альфа-субъединицы (Wang et al., 2008)

Прямое участие в редокс-сигнализации *in vivo* пока доказано только для последней группы (Demidchik et al., 2010; Garcia-Mata et al., 2010).

Почему так важен Ca^{2+} ?

- **повышение уровня Ca^{2+} в цитоплазме** (4-мерная кальциевая волна - XYZt) – это код для внешних сигналов у клеток растений, которые «видят и слышат» окружающий мир при помощи мембранных рецепторов и волны изменения цитоплазматической активности Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$). Сигнализация у растений чаще всего начинается с изменения $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$.

За развитие представлений о сигнальной роли Ca^{2+} дали три Нобелевские премии.



Цитоплазматические сенсоры Ca^{2+} :

Кальций-связывающие белки “ Ca^{2+} -binding proteins” (CBPs). Примерно 250 генов на геном (высшие растения).

«Обратимо связываются с Ca^{2+} , при этом их конформация изменяется, и они становятся способными реагировать с рядом мишеней в клетке».

Классические CBPs имеют ‘EF-hands’ (“helix-loop-helix” structures), которые специфично связывают Ca^{2+} при его очень низкой концентрации.

CBPs можно разделить на 5 классов (все вовлечены в АФК- Ca^{2+} -сигнализацию):

- (1) кальмодулины;
- (2) кальмодулин-подобные белки (calmodulin-like proteins - CLPs);
- (3) Ca^{2+} -зависимые протеин-киназы (CDPKs);
- (4) кальцинеурин-В-подобные белки (calcineurin B-like proteins - CBLs)
- (5) НАДФН-оксидазы.

CDPKs напрямую «трансдуцируют» АФК- Ca^{2+} -сигналы. Остальные 4 класса действуют в качестве посредников. НАДФН-оксидазы продуцируют АФК и действуют обратно на Ca^{2+} -проницаемые каналы. НАДФН-оксидазы и кальмодулины есть у животных, остальные только у растений.

Пример: H_2O_2 в течение секунд индуцирует CDPK3 в суспензионных корневых клетках *Arabidopsis thaliana*, приводя к изменению экспрессии 28 генов, связанных со стрессовым ответом (Mehlmer et al., 2010).

Другие сигнально-регуляторные механизмы, индуцируемые АФК:

МАР-киназы и другие серин-треониновые киназы, МАРК-фосфатазы и другие ферменты активируются под действием АФК, но пока не ясно как и во-многом не понятно зачем.

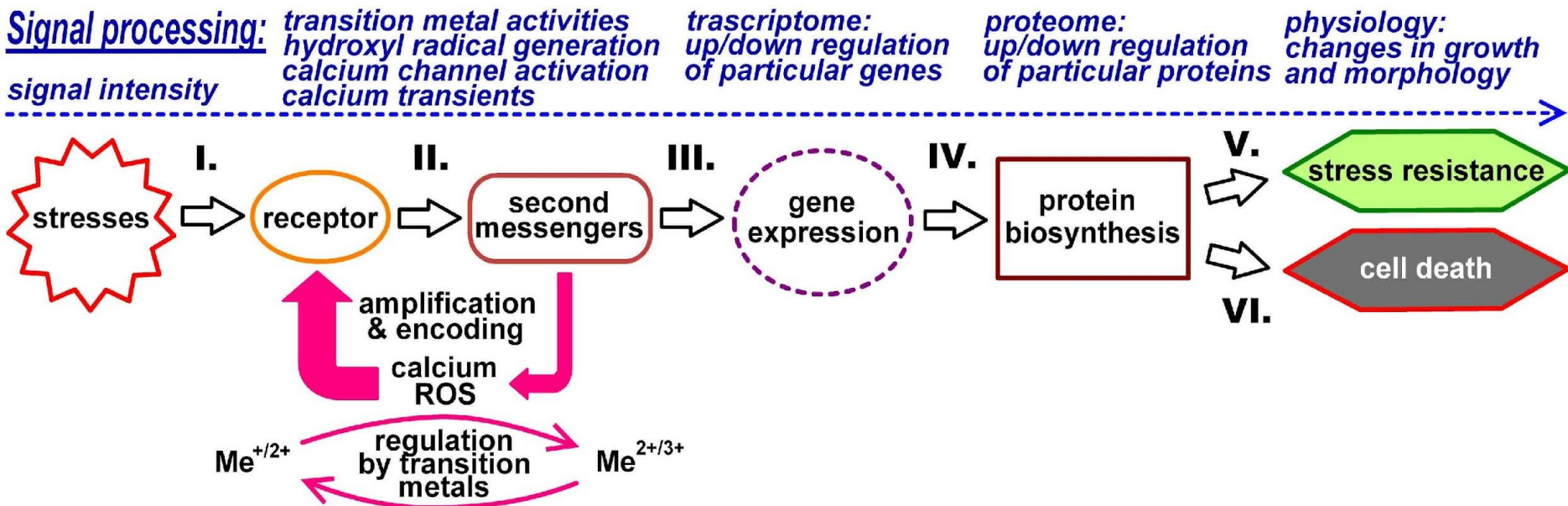
Также не ясно для чего необходима так-называемая **ретроградная сигнализация (АФК-сигналы между АФК-продуцирующими органеллами и ядром).**

Обычно увеличение уровня АФК при изучении ретроградной сигнализации вызывают световым стрессом (в 3 раза сильнее обычного солнечного), поэтому скорее всего не связано с реальной патофизиологией растения.

Липидные производные - известно несколько компонентов (phosphatidic acid etc.), образующихся при оксидативном стрессе и играющих сигнальную роль. Это большая отдельная тема. Ясно, что производные есть, но не ясно как они действуют на даунстрим-механизмы.

ОСНОВНЫЕ КОНЦЕПЦИИ:

Переходные металлы и синтез гидроксильного радикала необходимы для передачи и усиления стрессового сигнала



A typical plant stress signalling chain includes: (i) stress signal perception by cell surface receptors, (ii) transduction of the signal by second messengers that activates (iii) gene expression programmes leading to (iv) biosynthesis of defence/acclimation proteins and stress resistance (v) or to (vi) the cell death.