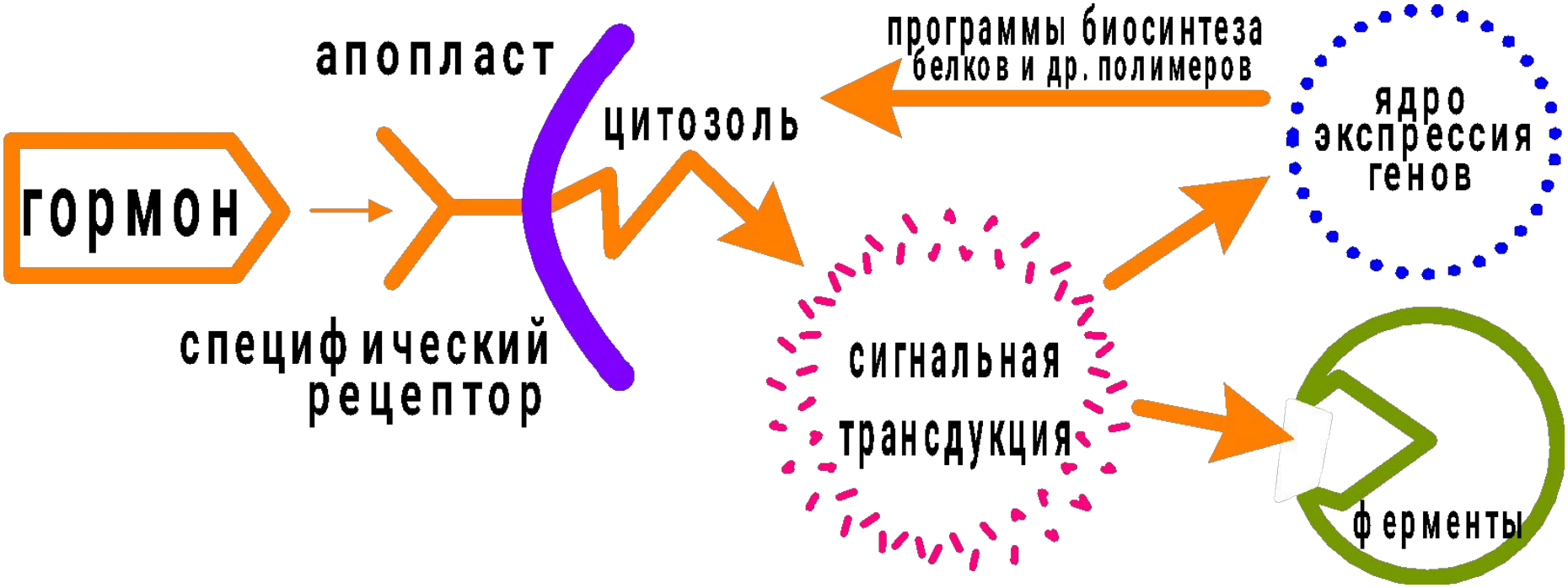
Рост и развитие растений

Основные фитогормоны.
Тропизмы и их механизмы.

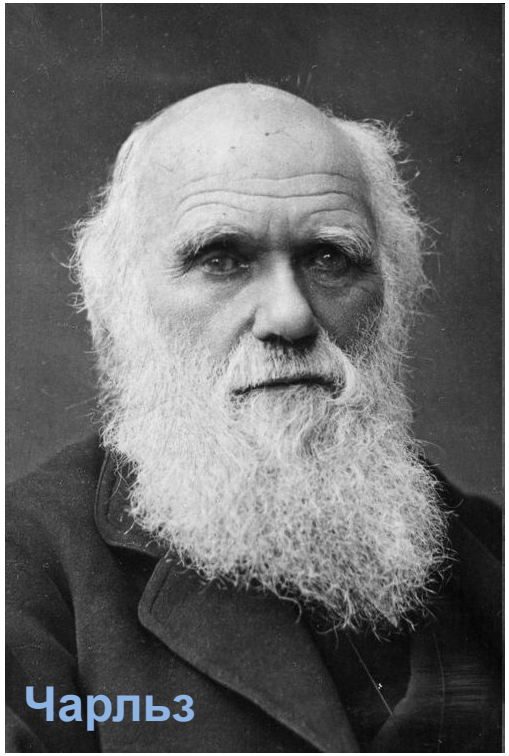
Гормон – химическое вещество, выделяемое клетками и модифицирующее физиологию клеток и организма.

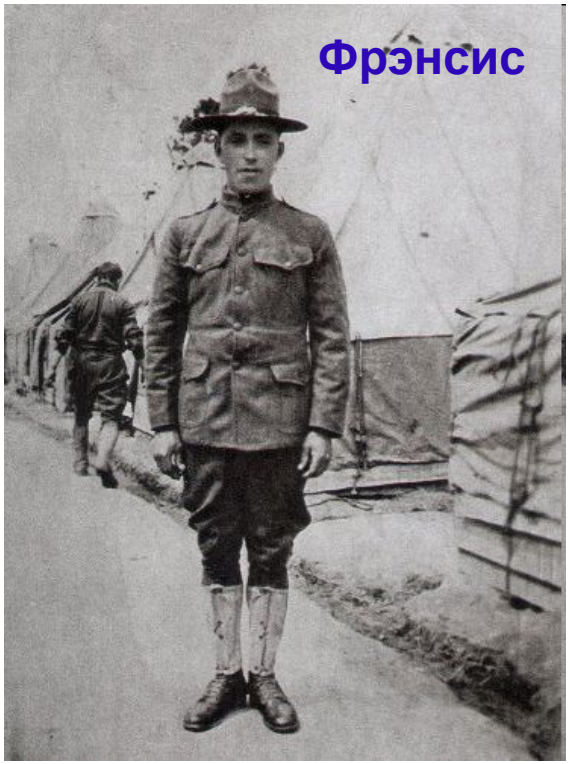
Гормоны действуют при низких концентрациях и обычно имеют высокую аффинность связывания с мишенью, которой чаще всего выступает специфический рецептор для данного гормона, синтезируемый клеткой. Рецептор активирует специфический сигнал через один или несколько путей сигнальной трансдукции, что ведет 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 колеоптиля интактен (не поврежден и вообще присутствует).

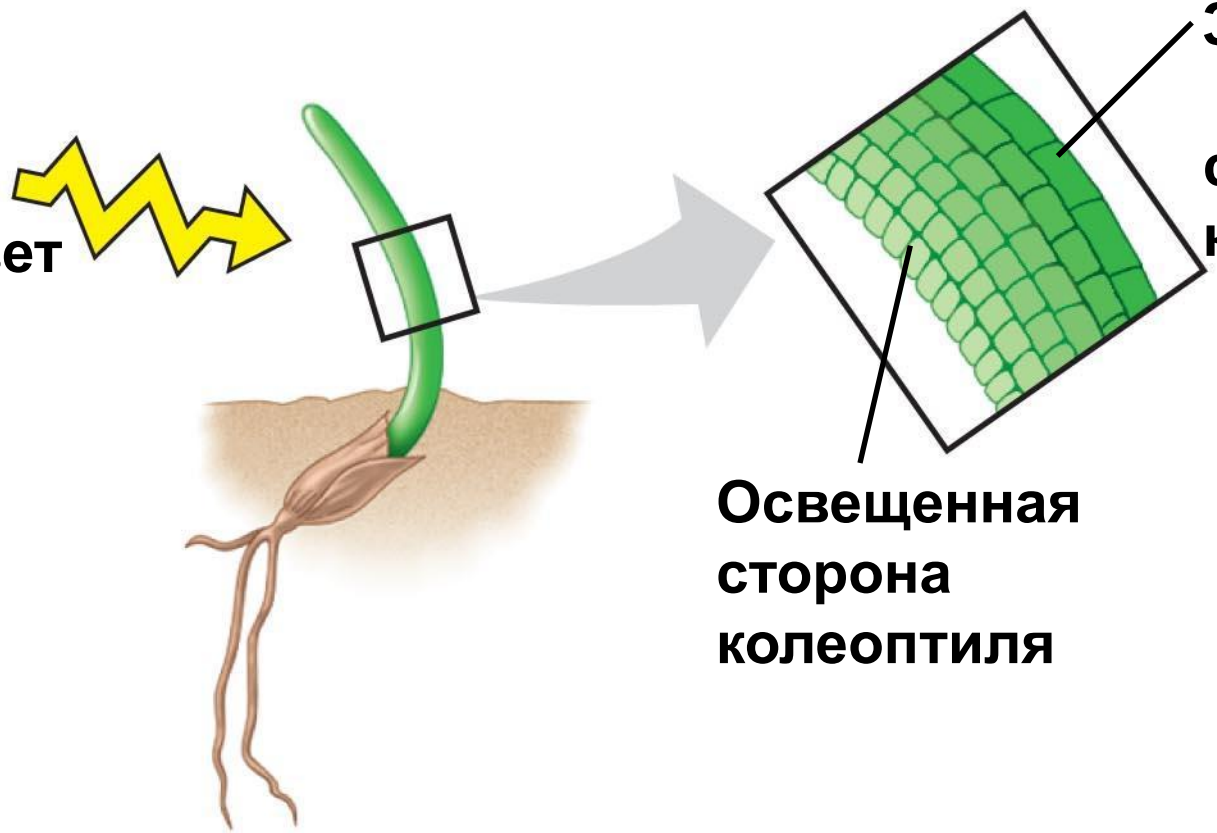




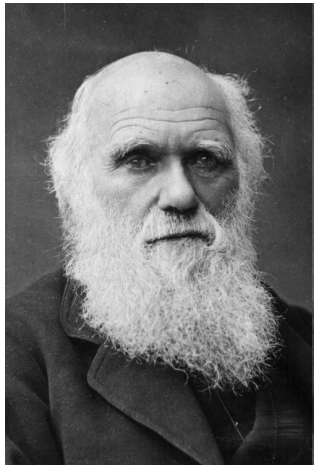
Они постулировали гипотезу, согласно которой сигналы-регуляторы в растении – это химические вещества, синтезируемые в кончиках растущих тканей и затем распространяющиеся в зону роста растяжением.

Результаты

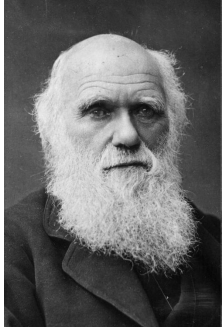
Контроль



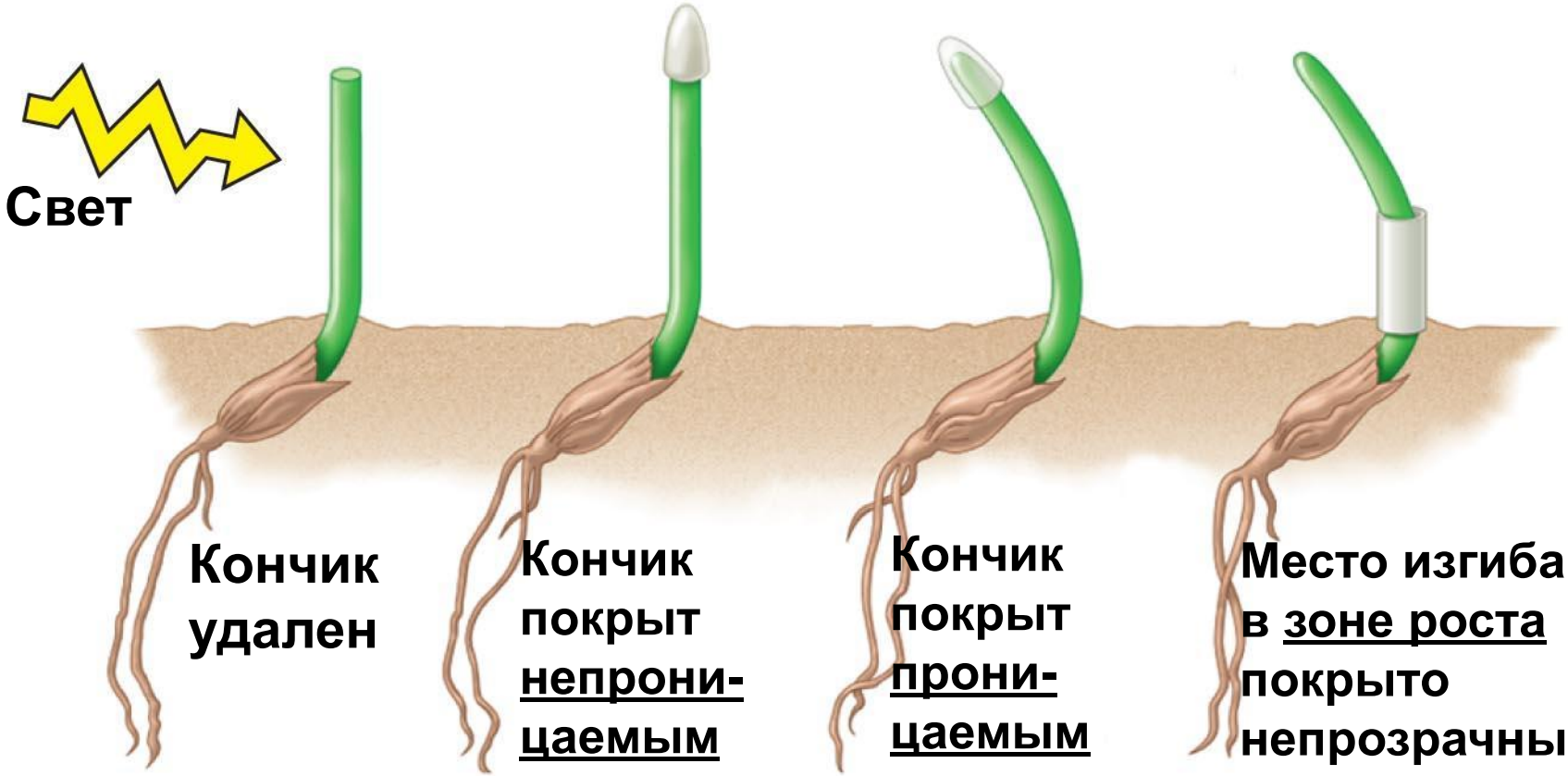
Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.



Результаты (конец 19 века)



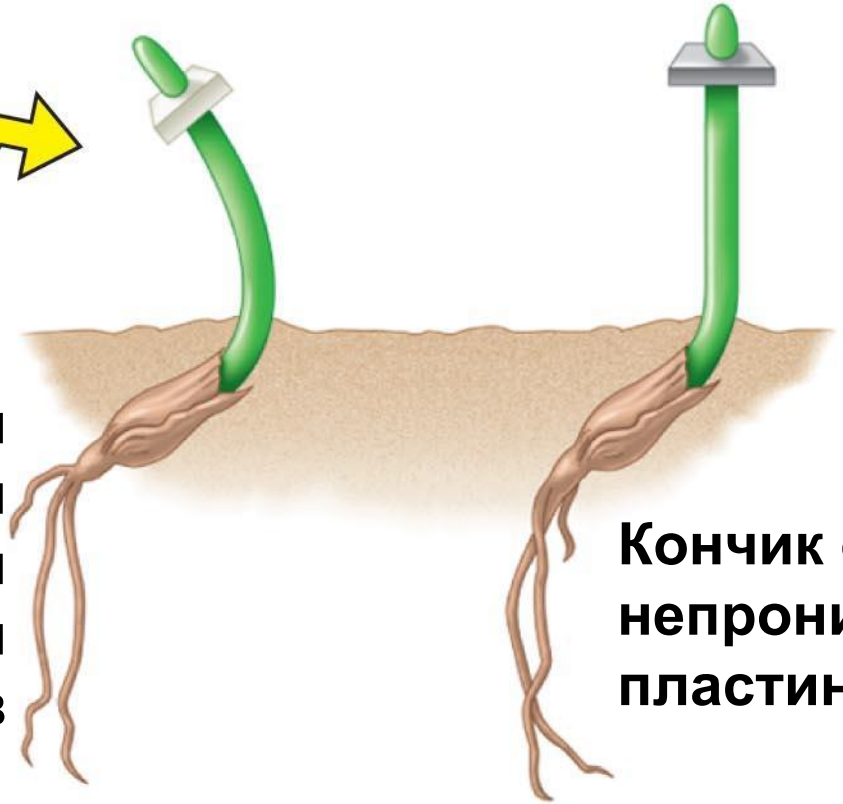
<u>Дарвин и Дарвин</u>: фототропический ответ возникает только когда кончик освещен



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

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

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

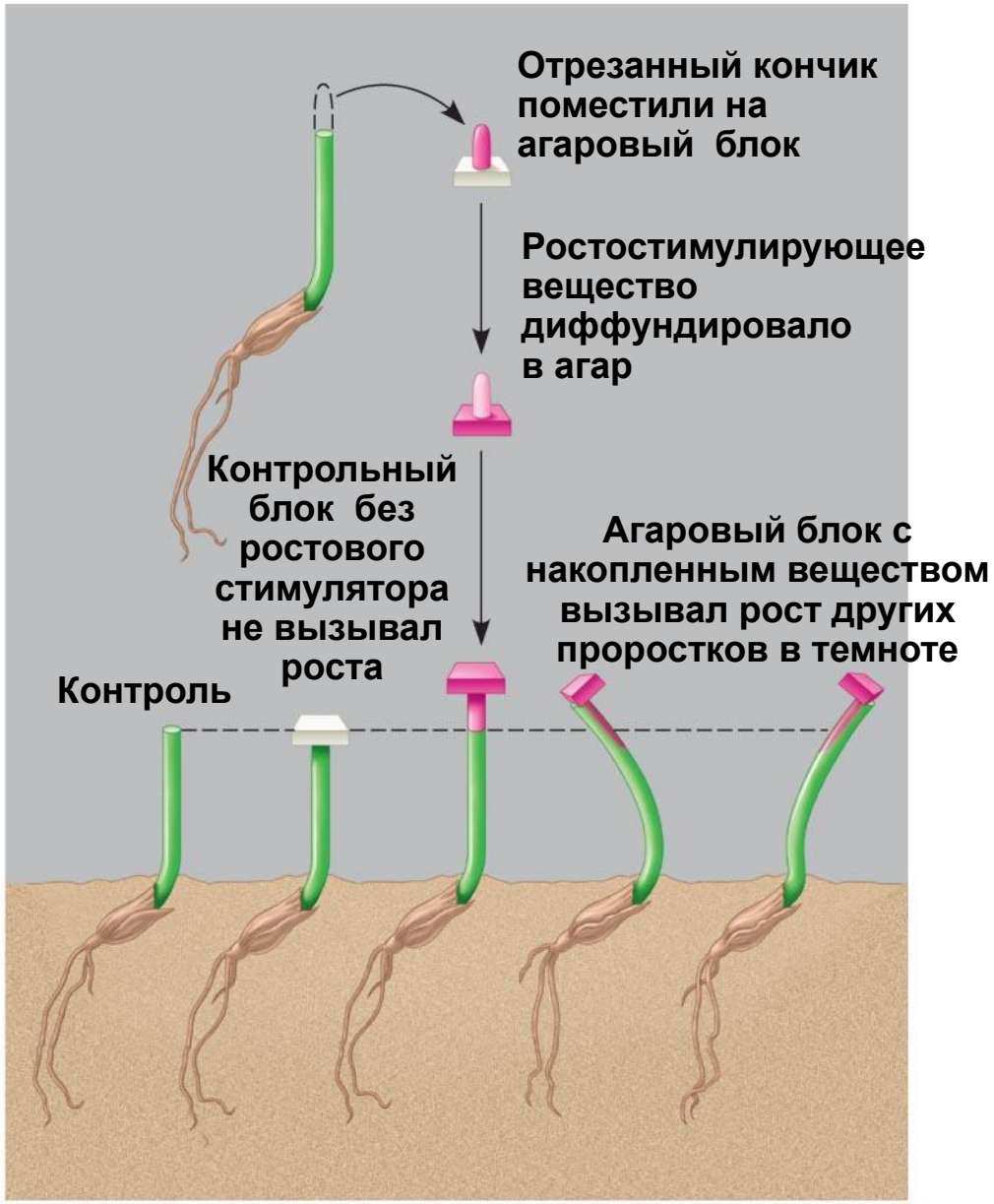


Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

В 1920-ых годах, **Фритц Вент** (Голалндия) 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 целю регуляции ростовых процессов (Теория Холодного-Вента).

Результаты



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

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.

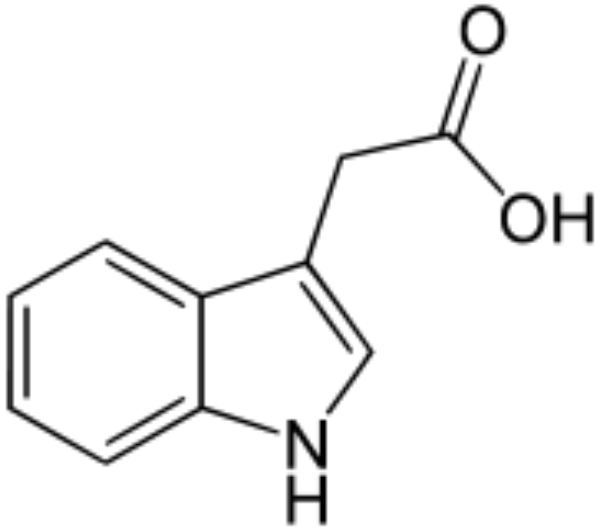
Ауксин (греч. *auxein* - «расти/увеличиваться»)
Любой химический агент, стимулитующий растяжение колеоптилей (*классификация по физиологической активности!*).

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

Модернизированная теория Холодного-Вента:
Акусиновые транспортеры переносят ауксин из бального конца клетки в апикальную часть соседней клетки.

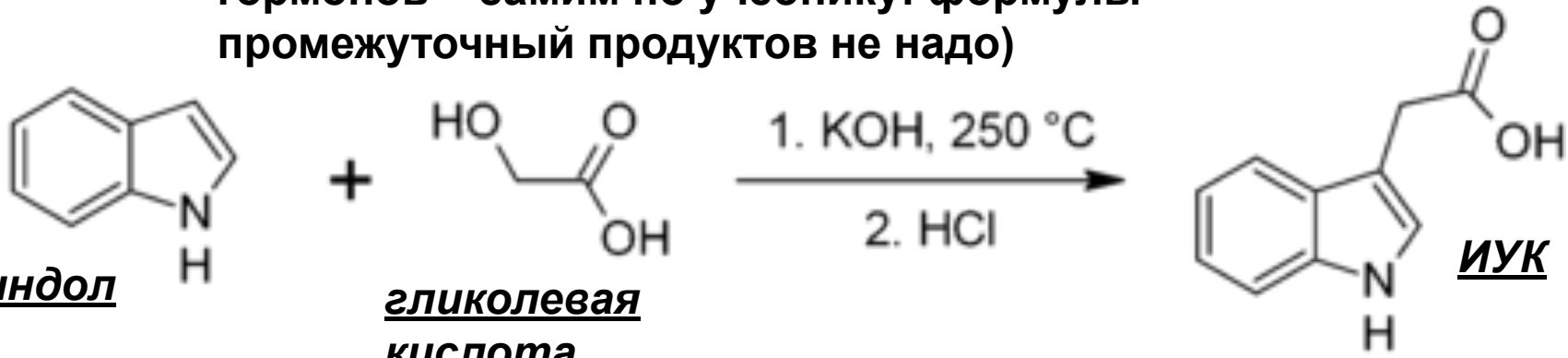
Кристаллы фенилацетата хорошо растворимы в воде

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



1 – наиболее обильный и важный:
индолил-3-уксусная кислота (ИУК)
(IUPAC: 2-(1*H*-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)

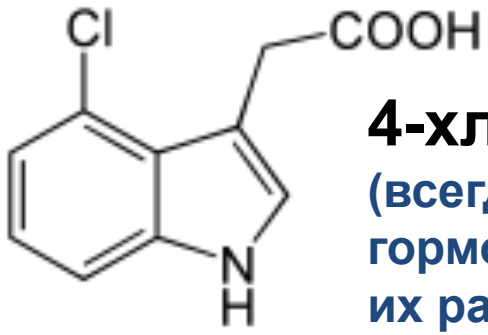


индол

гликолевая кислота

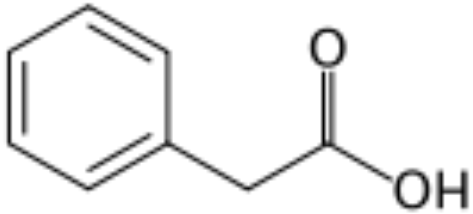
ИУК

Другие три природных (эндогенных) ауксина –



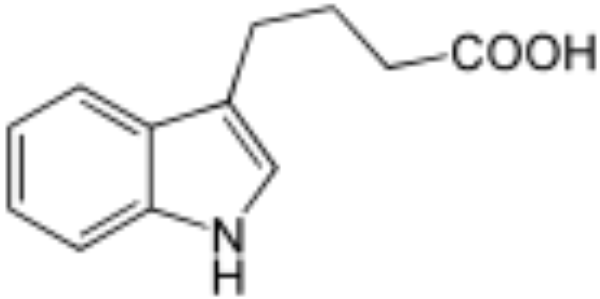
4-хлороиндолил-3-уксусная кислота

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



2-фенилуксусная кислота

(почти всегда обнаруживается в фруктах)

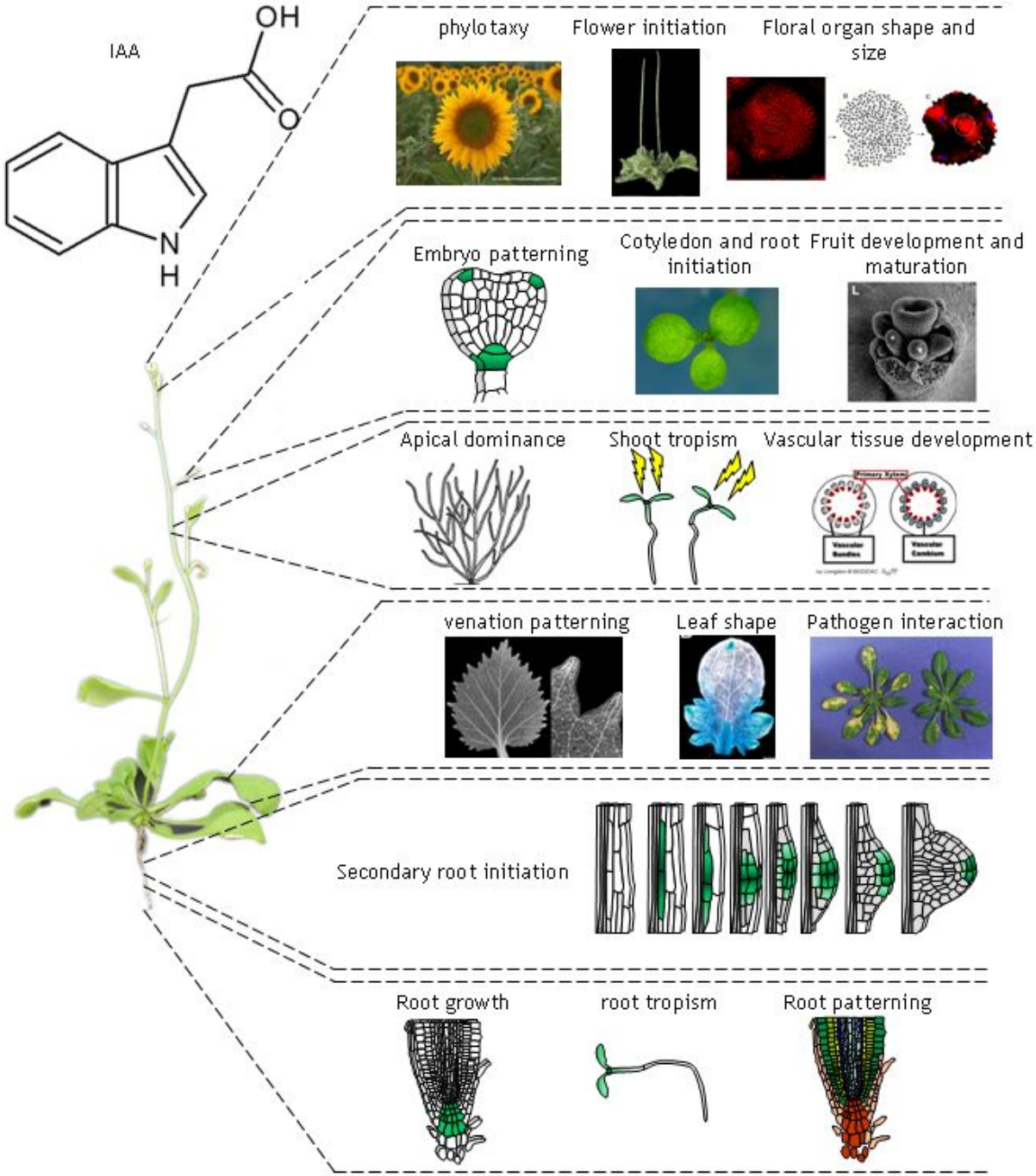


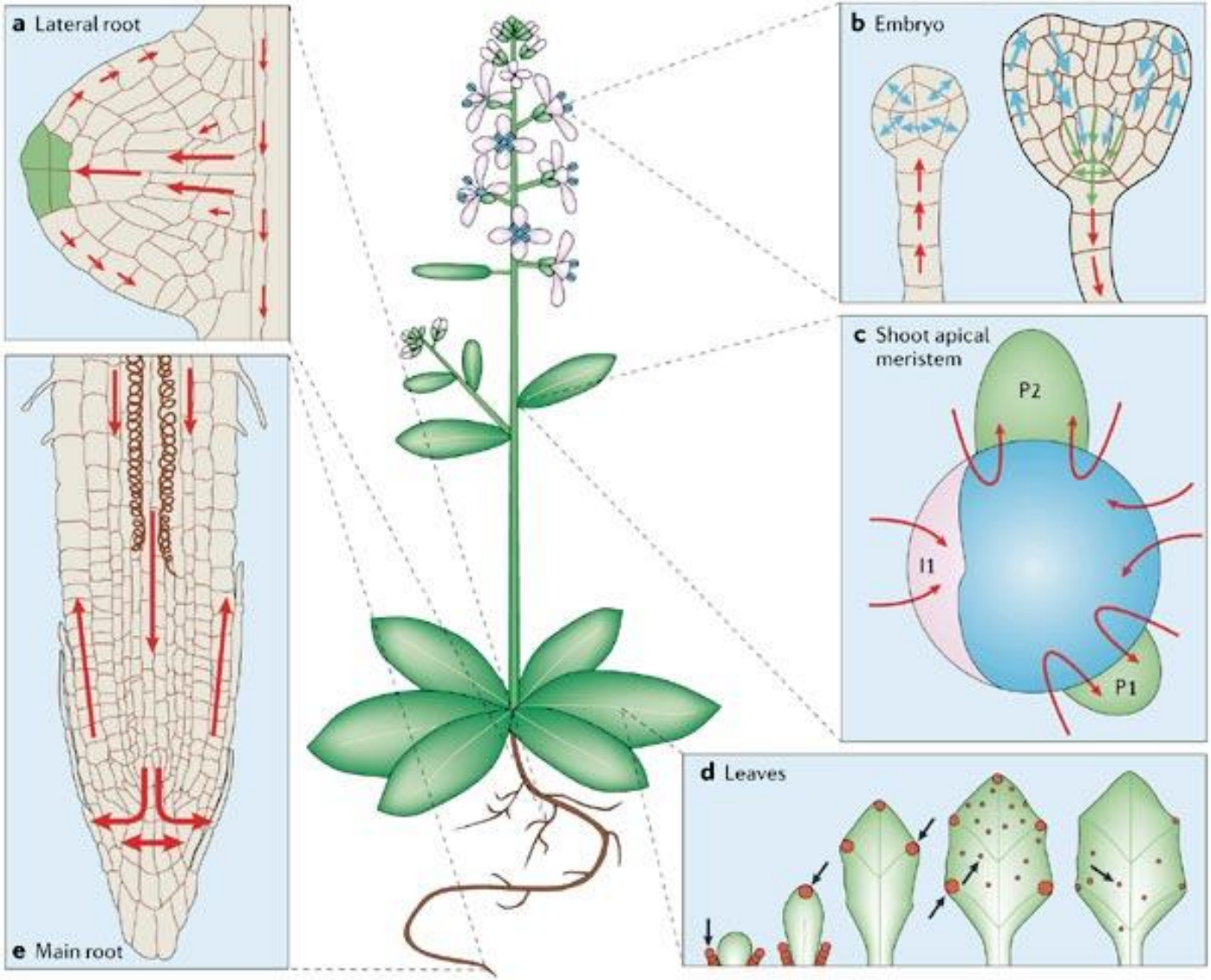
индолил-3-масляная кислота

(всегда присутствует у *Salix*)

Растения синтезируют ауксины несколькими независмыми 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.

Zhao, Yunde (2010) Auxin Biosynthesis and Its Role in Plant Development. *Annual Reviews of Plant Biology* 61: 49–64.


IAA
OH
O
N
H
phylotaxy
Flower initiation
Floral organ shape and size
Embryo patterning
Cotyledon and root initiation
Fruit development and maturation
Apical dominance
Shoot tropism
Vascular tissue development
venation patterning
Leaf shape
Pathogen interaction
Secondary root initiation
Root growth
root tropism
Root patterning



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

nature REVIEWS MOLECULAR CELL BIOLOGY

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

AUX/LAXs

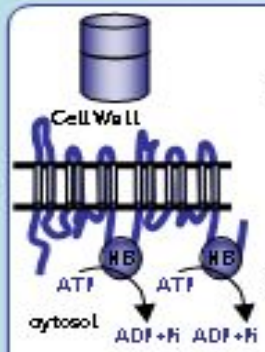
Family of **4** members

Auxin **influx** carrier

Polar localization in protophloem and root epidermis

Putative topology: consensus for 11 transmembrane domains (TMD)

Topology deduced from Swarup et al. 2004



PGPs

Family of **22** members (redundant)

Auxin **efflux** or **influx** carrier

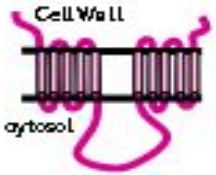
Mostly **non-polar**

Direct interaction with PINs

Putative topology: Two groups of TMDs each followed by a Nuclotide binding (NB) domain

PINs

8 members (extremely redundant)

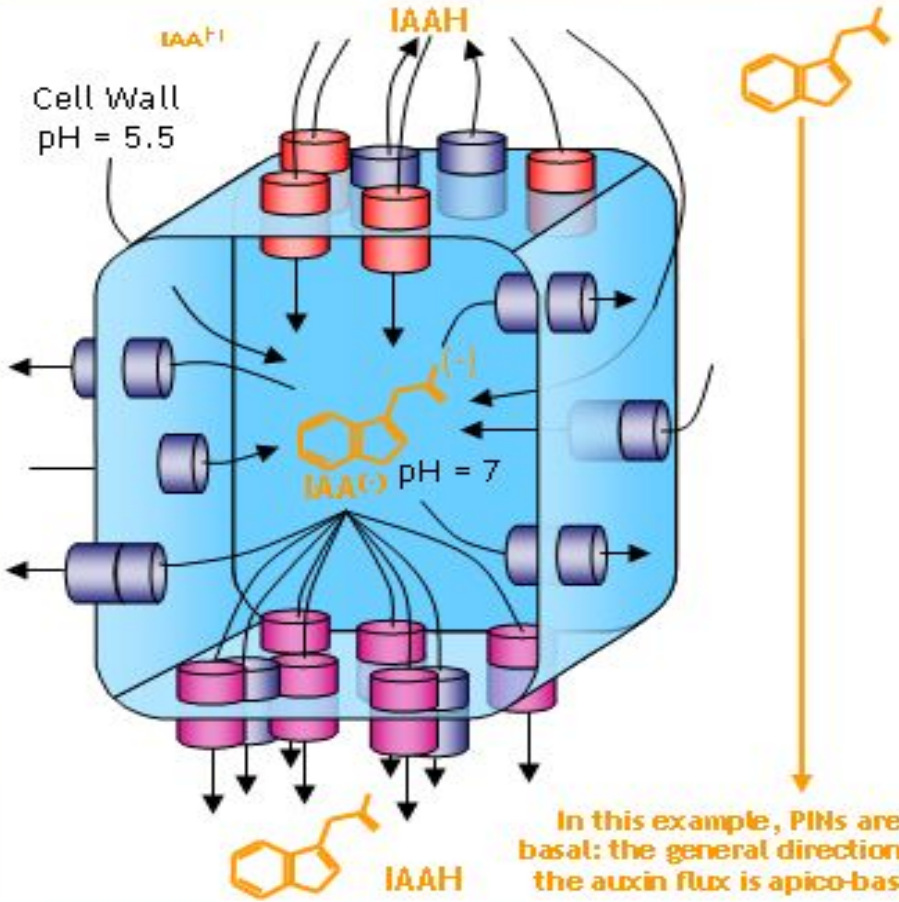


Auxin **efflux** carrier

Mostly **polar**: polarity regulates the direction of the auxin flux

Putative topology: consensus for 10 TMDs and one big intracellular loop, (the loop is required for PIN localization and interaction with PGPs)

Auxin is a weak acid with a dissociation constant of pK ≈ 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 (нековалентыне) взаимодействия между фибриллами целлюлозы и соединительными волокнами гемицеллюлозы.

Механизм 1

3 Экспансины отщепляют гемицеллюлозу от фибрилл целлюлозы

Кислые гидролазы

Волокна гемицеллюлозы

Экспансин

Клеточная стенка

Целлюлозные микрофибриллы

4 расщепление позволяет микрофибриллам Расходиться в стороны.

2 клеточная стенка закисает.

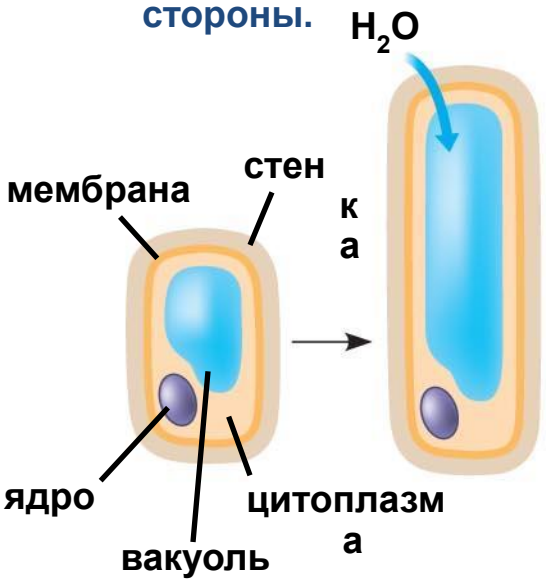
1 ауксин стимулирует активность H^+-АТФазы

ATP

H^+

Плазматическая мембрана

цитоплазма



5 Клетка становится способной к растяжению

Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

Уже для вас известный механизм (механизм 2):

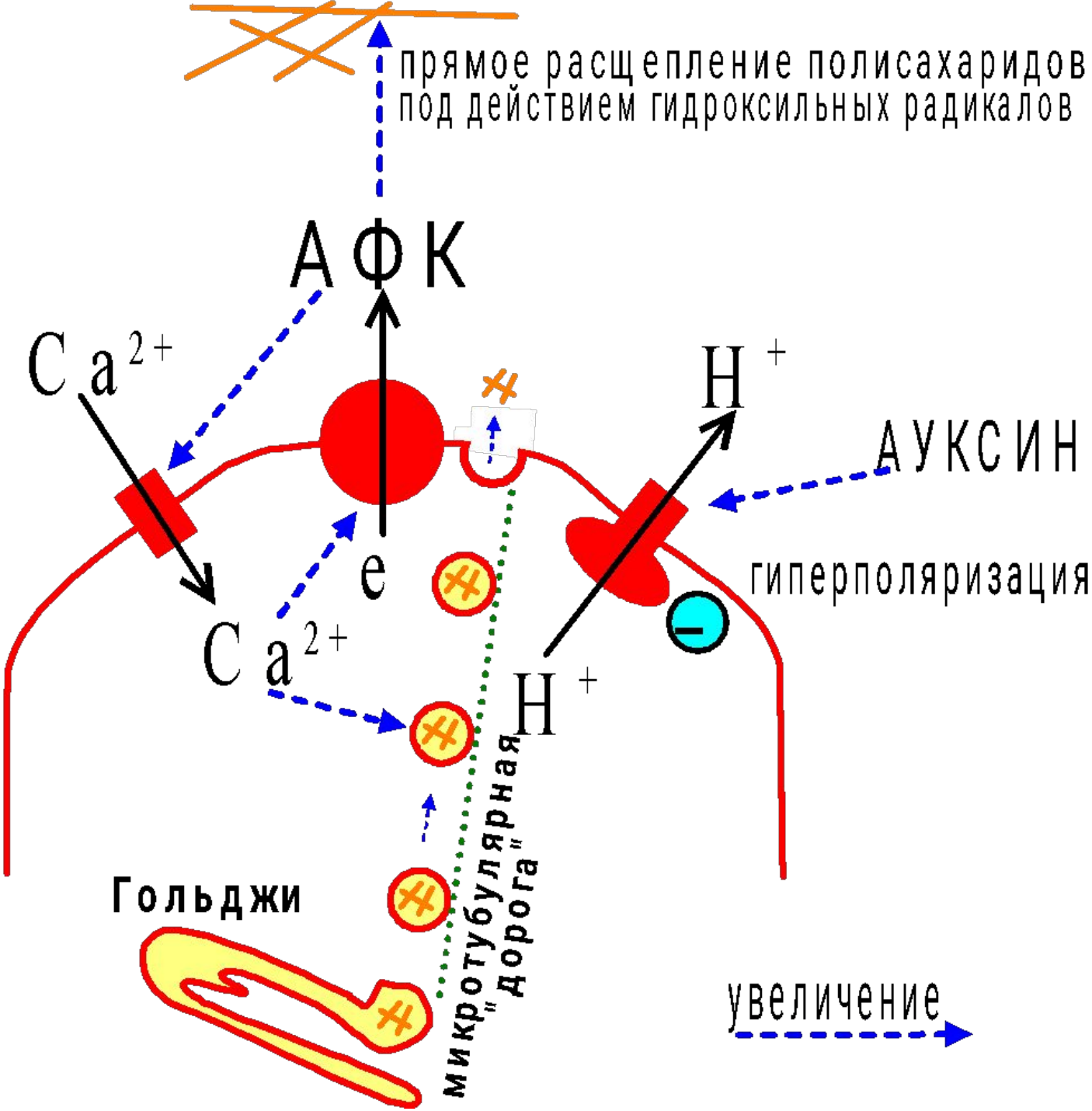
1 - H^+-АТФаза гиперполяризует мембрану, выкачивая положительно заряженные H^+ наружу.

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!

Механизм 2

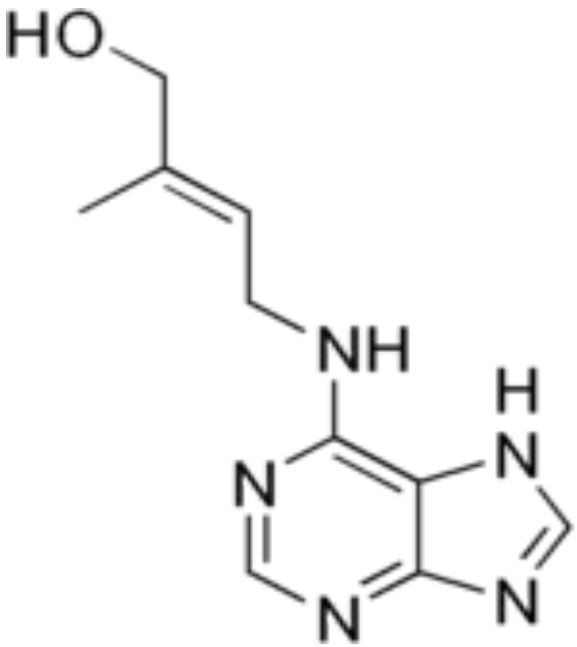

прямое расщепление полисахаридов
под действием гидроксильных радикалов
АФК
Ca 2+
H +
АУКСИН
e
гиперполяризация
Ca 2+
H +
Гольджи
микротубулярная
"дорога"
увеличение

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)***

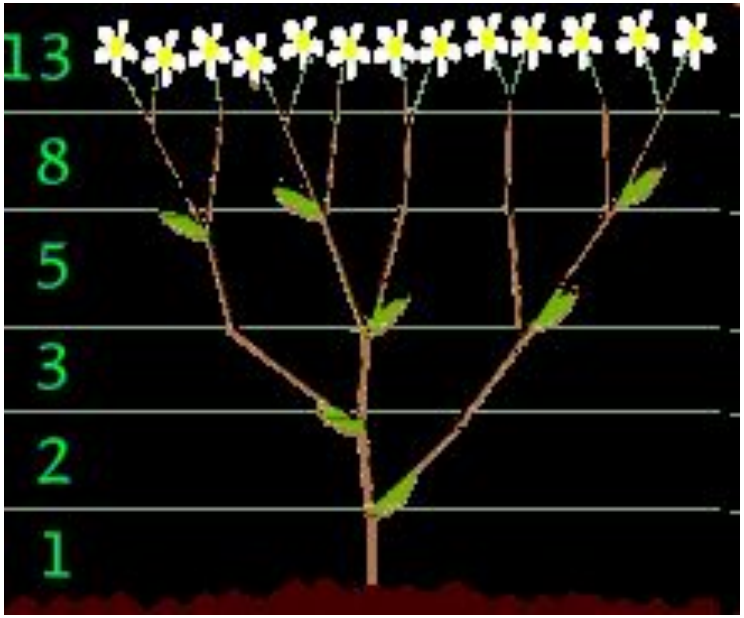
Цитокинины, ауксин и ряд других факторов взаимодействуют для контроля апикального доминирования.

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, стимулируя биосинтез РНК и белков, мобилизируя 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-бензиламинопурин
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.

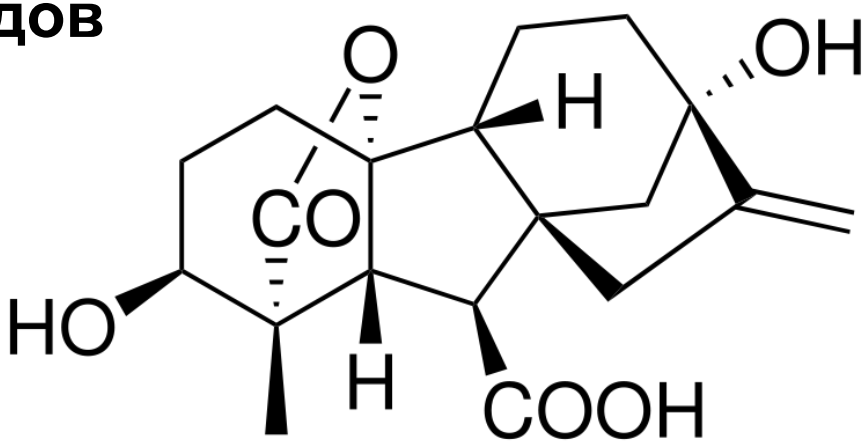
Когда поровну ауксина и цитокинина паренхимные клетки начинают формироваться недифференцированный каллус.

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:

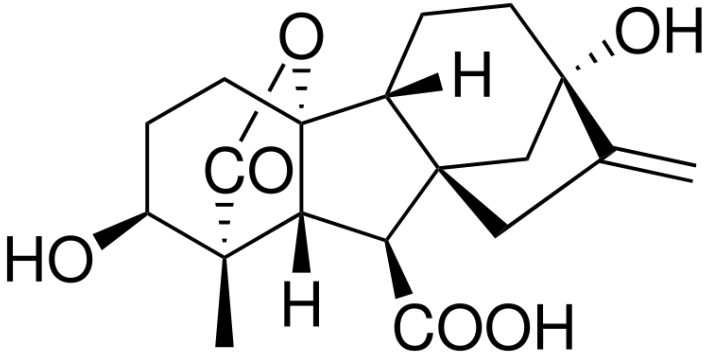
- Удлинение побегов
- Прорастание семян
- Рост фруктов
- Проявление половых признаков
- Индукция ряда ферментов
- Опадение листьев и плодов

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



Гиббереловая кислота

Гиббереллины



Гиббереловая кислота

Гиббереллины бывают тетра- или пентациклической природы (с пятичленным лактонновым кольцом!) и могут содержать 20 или 19 атомов углерода. Большинство гиббереллинов являются кислотами. Индекс ГК$_1$, ГК$_3$ 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.

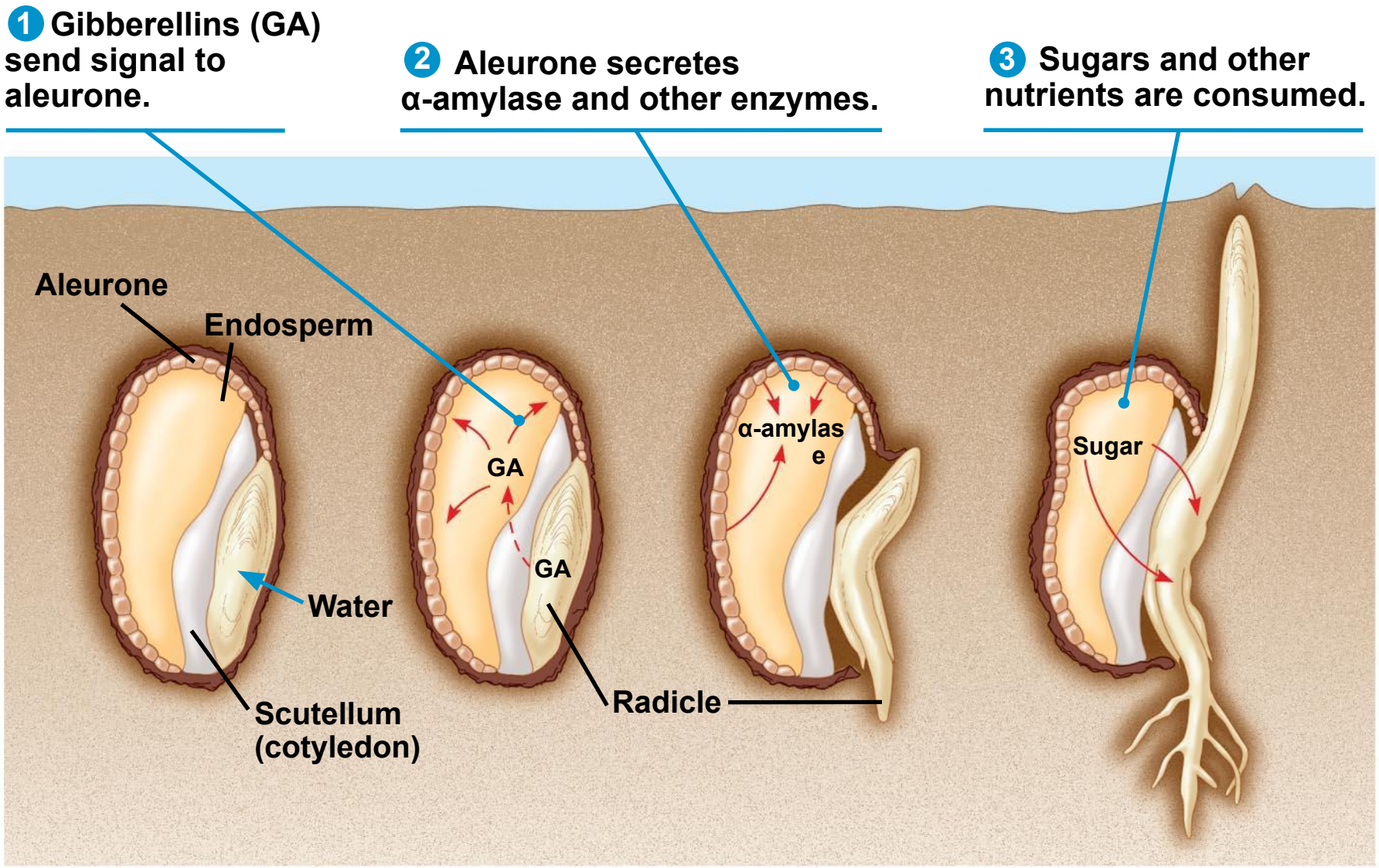
Gibberellins are used in spraying of Thompson Seedless, Russian Seedless, and Black Monukka grapes (usual varieties in the shop).

Gibberellin-induced stem growth

Gibberellin-induced fruit growth

c

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



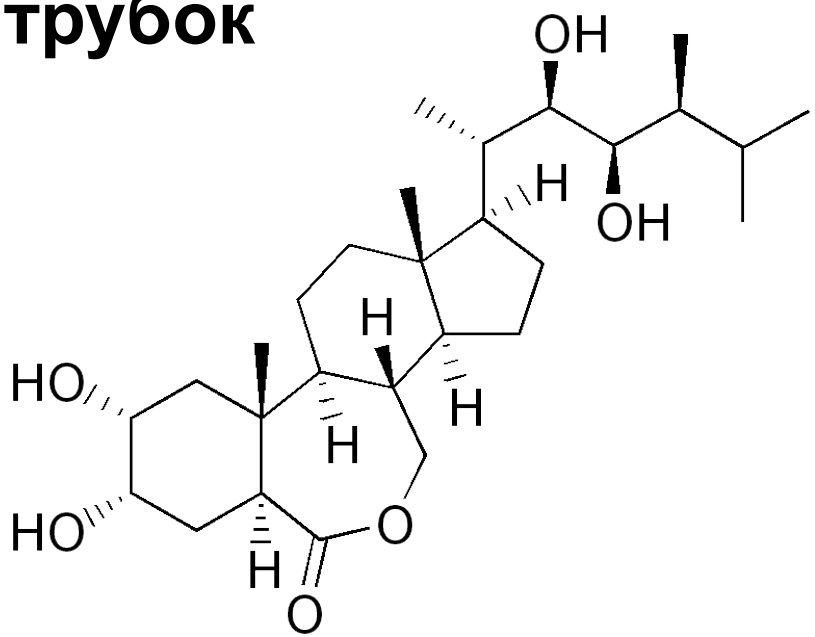
Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

Брассиностероиды – похожи на стероидные половые гормоны животных.

- удлинение клеток вместе с ауксином

- дифференциация сосудистых тканей

- удлинение пыльцевых трубок



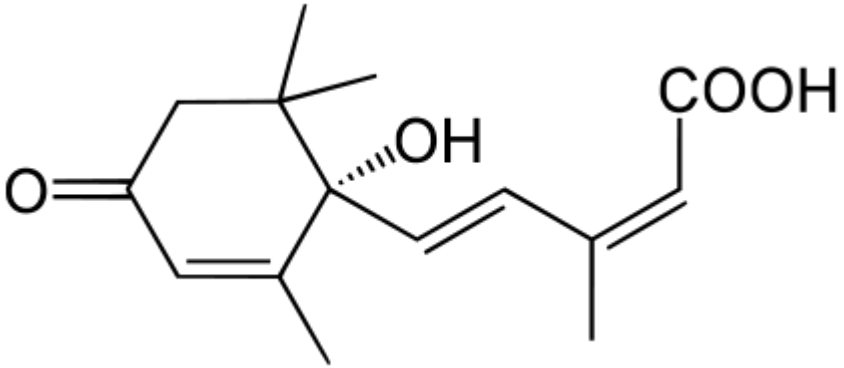
брассинолид

Абсцизовая кислота (АБК) замедляет рост

Два основных эффекта :

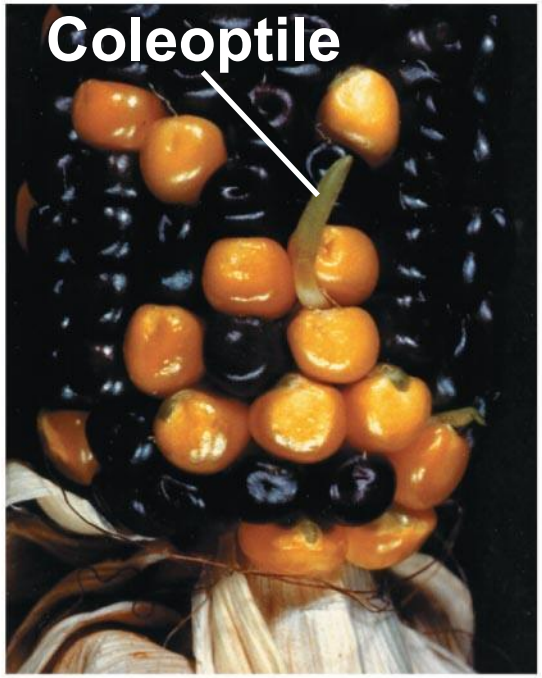
- **Поддерживает покой семян**
- **Закрывает устьица при засухе**

Изопреноидный путь синтеза в пластидах



АБК

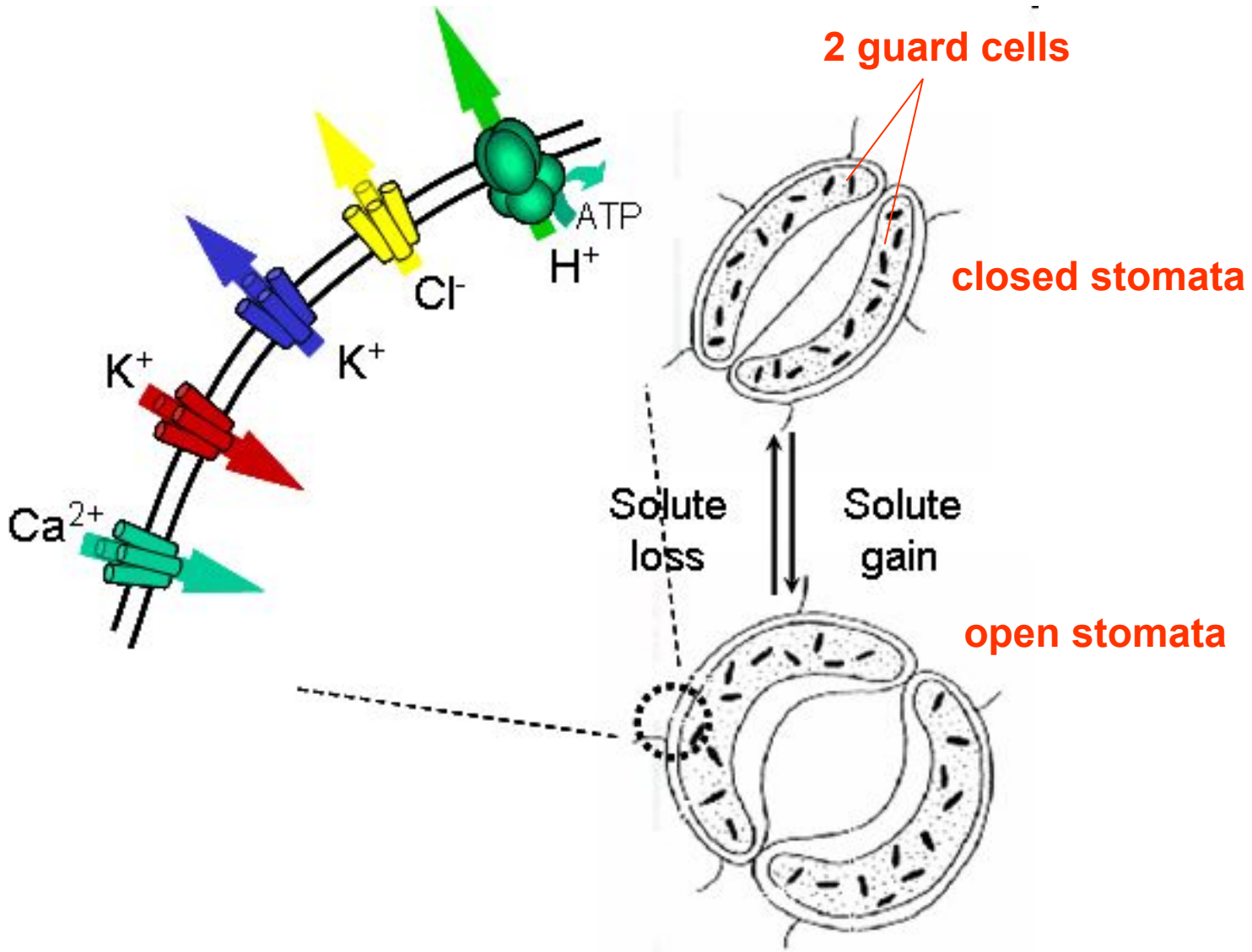
Early germination in red mangrove



Early germination in maize mutant

Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

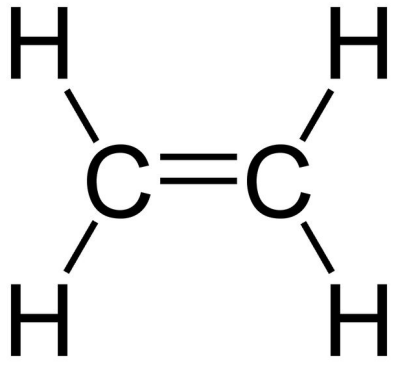
Стимулирует транспортные системы, вызывающие выход калия, малата и цитрата из замыкающих клеток



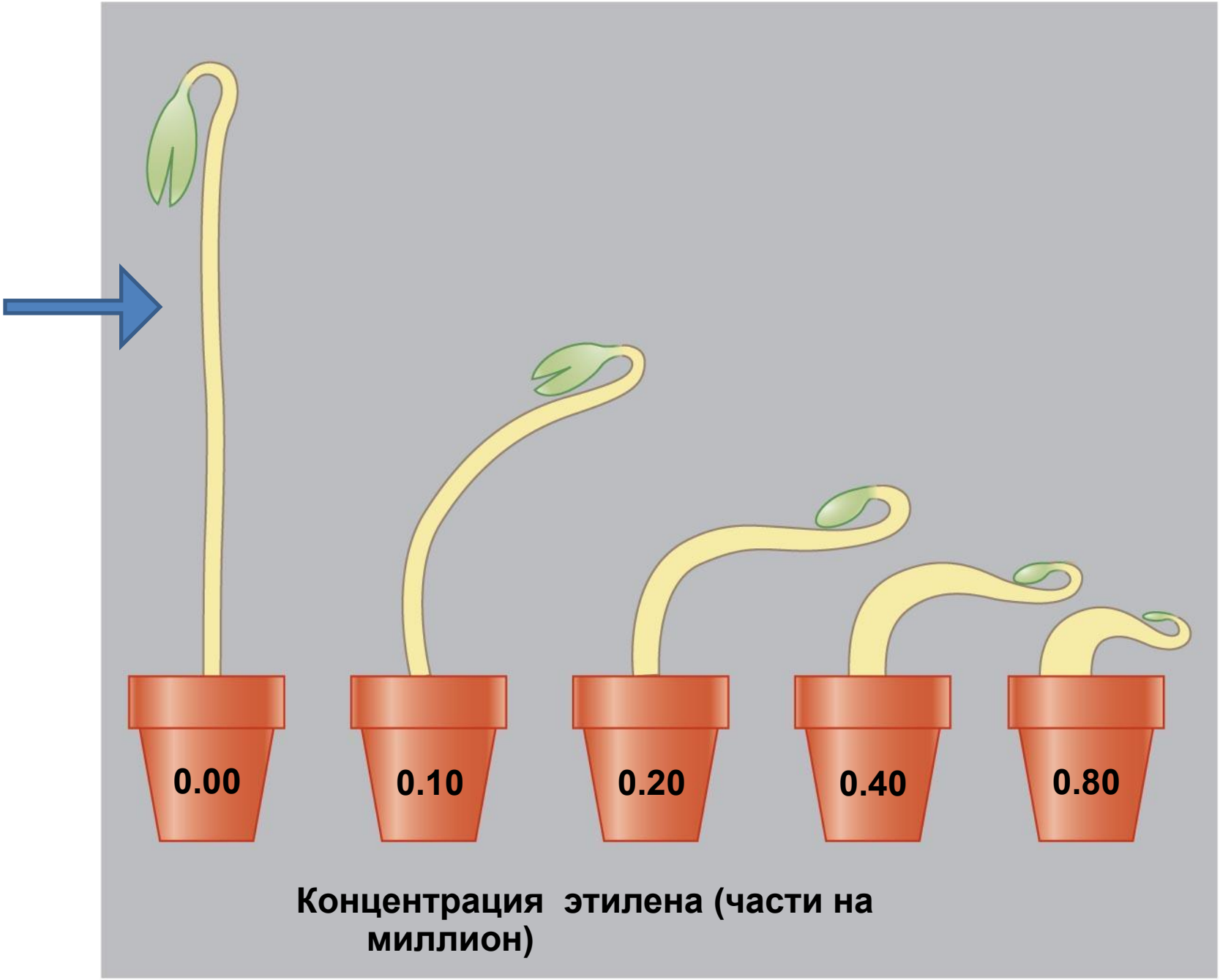
Этилен

Продуцируется в ответ на стресс и повреждение.

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



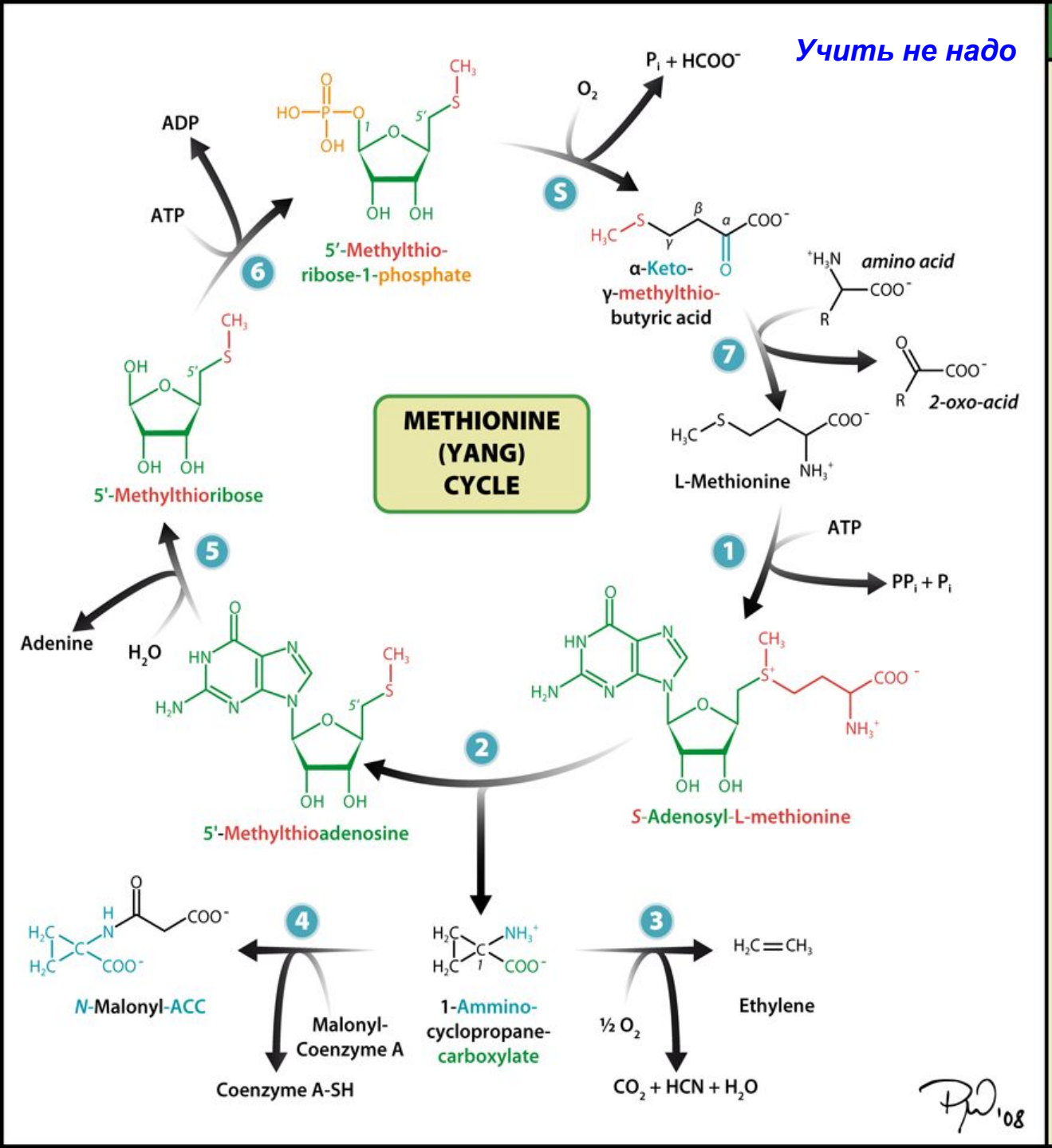
этилен



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

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

Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.



Ethylene Biosynthesis in Plants

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-Amminocyclopropane-carboxylate
HCN	Hydrocyanide acid
MTA	5′-Methylthioadenosin
MTR	5′-Methylthioribose
PP_i	Diphosphate (Pyrophosphate)
P_i	Phosphate
SAM	S-Adenosyl-L-methionine

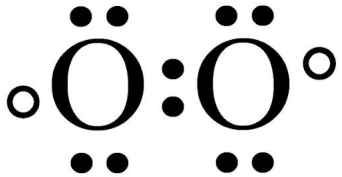
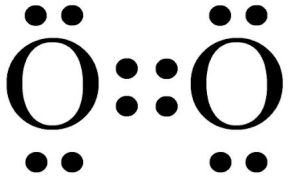
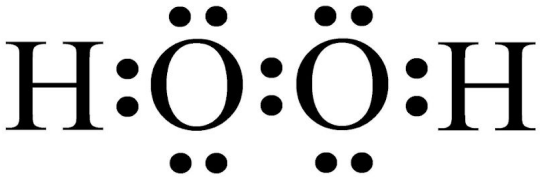
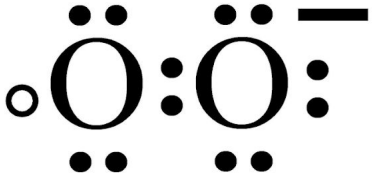
Sources

Buchanan BB, Gruissem 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.

Наиболее биологически-значимые АФК

(группа I)

O_2	$^1\Delta_g O_2$	$^{\bullet}OH$
		
триплетный кислород	синглетный кислород	гидроскильный радикал
H_2O_2	$O_2^{\bullet -}$	NO
		
перекись водорода	супероксид	монокосид азота

From Demidchik V, Chapter 2. Oxidative Stress in Plants.

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;

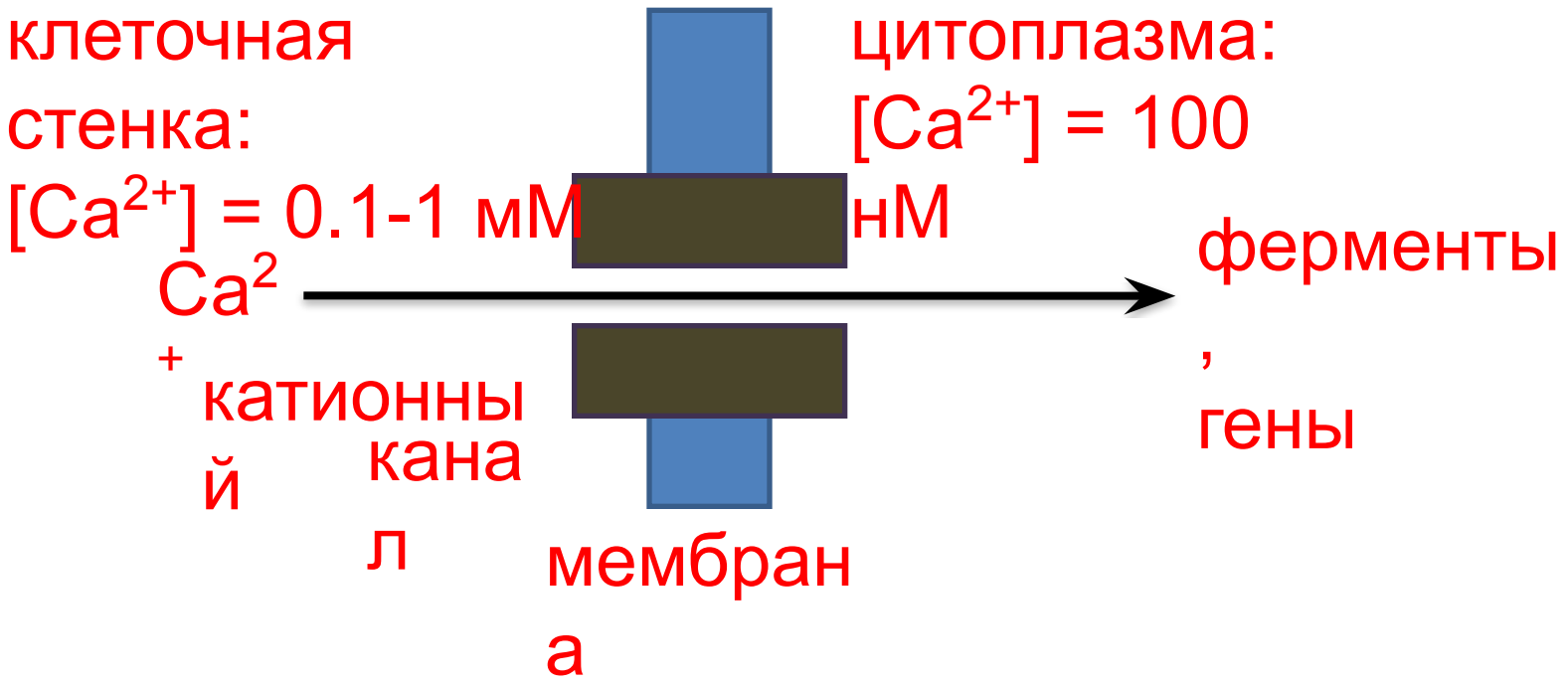
(Д) G-белки (*in vitro:* 20 μM H_2O_2 стимулировало диссоциацию альфа-субъединицы *(Wang et al., 2008)*

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+} ($[Ca^{2+}]_{цит.}$). Сигнализация у растений чаще всего начинается с изменения $[Ca^{2+}]_{цит.}$

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-B-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.

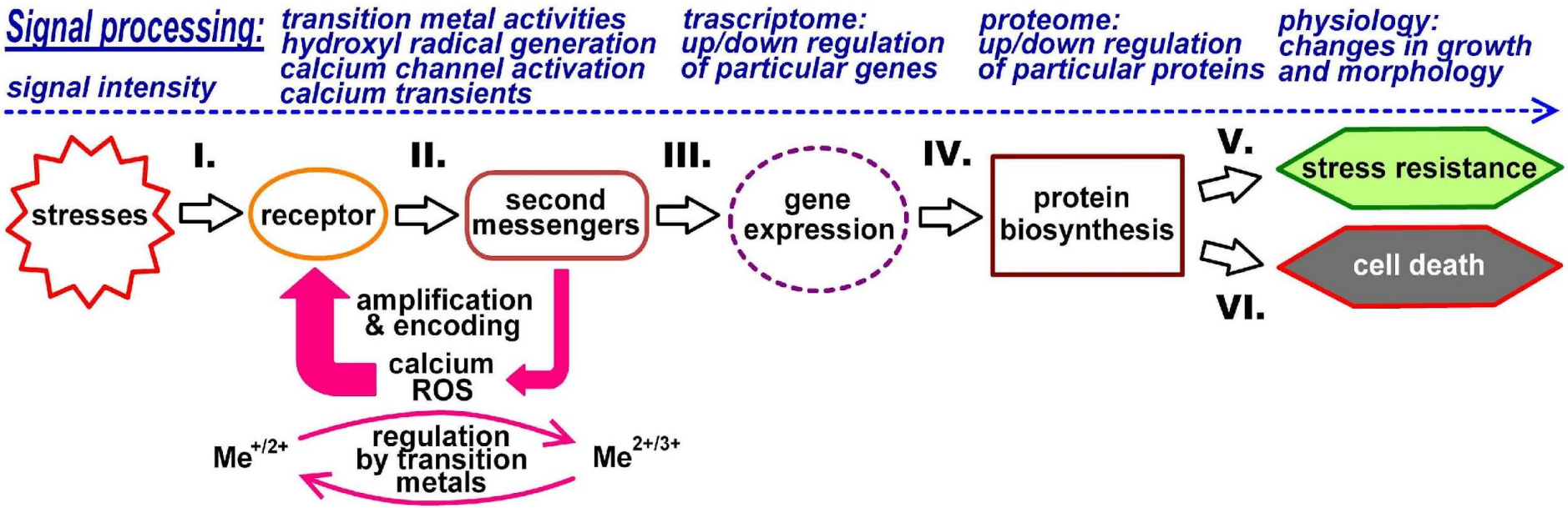
Также не ясно для чего необходима так-называемая ретроградная сигнализация (АФК-сигналы между АФК-продуцирующими органеллами и ядром).

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.