

ракти, і в той же час біологічні види володіють достатньо високим генетичним резервом стійкості на випадок негативного характеру прояву вказаних чинників.

Отже, ще важливішої ролі набувають питання карантинного контролю при переміщенні інтродуцентів. Проте, усвідомлюючи неможливість абсолютної його ефективності, необхідно досконало вивчити можливі фактори ризику в кожному конкретному випадку та намітити стосовно них шляхи протидії, оскільки стратегія політики "заборонного характеру" щодо впровадження інтродуцентів також не може бути достатньо ефективною, враховуючи особливості сучасного етапу розвитку суспільства.

Підсумовуючи вищенаведене, необхідно відзначити, що проблеми генетичного характеру при впровадженні інтродуцентів у лісові культури безумовно проявлятимуться в різноманітних аспектах. Передбачення основних напрямків розвитку цього процесу дасть змогу забезпечити необхідну ефективність інтродукційної діяльності й уникнути небажаних наслідків. У цілому ж процес інтродукції з генетичної точки зору виступає фактором, який, маючи значний вплив на функціонування автохтонних біологічних систем, має в собі значно більше позитивних ефектів порівняно з потенційним негативним впливом. На цій основі лісоінтродукційна діяльність за умови чіткої її координації органами лісового господарства може стати одним з пріоритетних напрямків розвитку лісового господарства України.

Література

1. Мацкевич Н.В. Охрана редких генотипов лесных деревьев и кустарников. – М.: Агропромиздат, 1987. – 208 с.
2. Олийник Я.М., Шляхта Я.М., Олийник А.И. Особенности онтогенетического развития дугласии и лиственницы японской на западе Украины// Изучение онтогенеза видов природных флор в ботанических учреждениях Европы. М-лы международн. конференции. – К. Наука. 1993. – С. 133. (Центр. ботсад. им. Гришко АН Украины).
3. Райт Дж.В. Введение в лесную генетику/ Пер. с англ. Под ред Л.Ф.Правдина, В.А. Бударина. – М.: Лесная промышленность, 1978. – 470 с.
4. Рекомбинантные молекулы: значение для науки и практики /Под ред. Р.Бирса и Э. Бесита. Пер. с англ. – М.: Мир, 1980. – 624 с.
5. Кузнецов С.И. Основные направления интенсификации мобилизации генетических ресурсов доминантных древесных экзотів// Науковий вісник національного аграрного університету. – К.: НАУ, 1997, вип. 25. – Лісівництво. –2000. С. 229-233.
6. Сингер М., Берг П. Гены и геномы: В 2-х т. Т.1. Пер. с англ. – М.: Мир, 1998. – 373 с. Т.2. Пер. с англ. – М.: Мир, 1998. – 391 с.
7. Шаврова Л.А. Патогенная микрофлора интродуцированных растений. Полярноальпийского ботанического сада// Интродукционные исследования на Кольском полуострове. –Апатиты, 1976. – С. 92-104.
8. Шлыков Г.Н. Интродукция и акклиматизация растений. – М.: Сельхозгиз, 1963. – 487с.

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ АУКСИНІВ У РОСЛИНАХ

Наведено літературний огляд механізмів дії ауксину на клітинному рівні та на рівні цілої рослини. Ауксинове сигналювання у рослині зумовлюється наявністю полярного транспорту ауксину за участю специфічних мембранних переносників від одної клітини до іншої. Воно здійснюється у клітині шляхом регульованої деградації білків. Вважається, що цей сигнальний шлях є центральним в ауксиновому сигналюванні, проте, можливо, існують і інші шляхи.

R.T. Gout, S.V. Gorelov, O.S. Osmak – USUFWT

Molecular mechanisms of action auxin at plants

This review depicts auxin action mechanisms at the cellular level, as well as at the whole plant level. Auxin action in plant is carried out by auxin polar transport by means of specific influx and efflux carriers, in cell-to-cell fashion. Auxin signaling at the cellular level is mediated by the regulated protein degradation. This signaling pathway is thought to be central in auxin signaling, still other signaling pathways may exist.

Відкриті у рослинах на початку ХХ ст. ауксини стали першими відомими гормоноподібними сполуками. Упродовж довгих років вони залишалися єдиними відомими фітогормонами. У 1935 р. в лабораторії Ф. Кегля було встановлено, що ауксини представлені індоліл-три-оцтовою кислотою (ІОК). На сьогодні виявлені різноманітні ауксинові сполуки з подібними фізіологічними ефектами [2].

Про вплив ауксинів на ріст рослин і окремих їх органів отримано достатньо інформації. Відомо зокрема, що із збільшенням концентрації ІОК, у відповідних межах, її стимулюючий вплив на ріст клітин шляхом розтягу зростає. У плазмалемі ауксини індукують роботу протонної помпи, яка здійснює активний транспорт протонів водню з цитоплазми [2]. Підвищення концентрації іонів H^+ призводить до послаблення водневих зв'язків між мікрофібрилами целюлози і ксиланоглюканів, що дозволяє їм ковзати відносно один одного при підвищенні тургорного тиску протопласту. Крім того, під час зниження рН активуються кислі гідролази та інші ферменти, що модифікують компоненти клітинної стінки і таким чином спричиняють її розривлення, яке супроводжується розтягом клітинної стінки та ростом клітини. Встановлено також, що викликаний ІОК відтік протонів з цитоплазми призводить до затримки старіння клітини [2]. Оскільки однією з суттєвих причин процесів старіння є закислення цитоплазми, що супроводжується активацією протеолітичних ферментів, зумовлений ІОК відтік протонів захищає внутрішньоклітинні структури від деградації.

Ауксини також викликають підсилення проліферації клітин. Виявлено, що ІОК необхідна для ініціації синтезу ДНК, під час переходу клітини із G_1 -фази в S-фазу мітотичного циклу [1]. Отже, ауксини відіграють важливу роль у регуляції клітинного циклу. Відомо, що центральну роль в регуляції мітотичного циклу відіграють протеїнкінази (ферменти, які здійснюють фос-

форилування білків-мішеней). Ауксини імовірно діють на клітинний цикл, не безпосередньо, а активуючи відповідні протеїнази.

Транспорт ауксинів по рослині

Ауксини є єдиними фітогормонами, що піддаються полярному транспорту і їх полярне переміщення зумовлює різноманітні процеси розвитку, зокрема формування осі зародку, диференціацію судинних тканин та такі реакції верхівкового росту, як геотропізм [3, 7, 12, 23, 25]. У вищих рослин, ауксини утворюються у верхівках пагонів і транспортуються до кінчиків коренів із швидкістю 10–15 мм/год. Слід зазначити, що швидкість транспорту ауксинів залежить від багатьох факторів, зокрема віку та типу тканин, температури, природи ауксину.

Полярний транспорт ауксинів здійснюється від клітини до клітини за участю спеціальних транспортних систем. В апікальну частину клітини ауксини надходять пасивно, разом з іонами H^+ , а в базальній частині активно секретуються через клітинну мембрану за участю білків-переносників. Вважається, що напрямок транспорту ауксинів визначається полярним розташуванням специфічних переносників на плазматичній мембрані клітини. За сприйняття полярних сигналів імовірно відповідає білок, що є продуктом нещодавно виділеного гену *MP* (MONOPTEROS) [5, 24]. Мутації цього гену в *Arabidopsis* призводять до різноманітних порушень сприйняття полярних сигналів. Це проявляється такими фенотиповими змінами як: вкороченням судин та дефектом формування осі зародка. У всіх органах таких рослин клітини судинних пучків залишаються недостатньо диференційованими.

Крім гену *MP*, існують інші гени переносників, що здійснюють транспорт ауксинів від клітини до клітини. Це родини генів *PIN1* та *AUX1*. Ген *PIN1* кодує мембранний білок імпорту ауксинів, а ген *AUX1* – білок експорту [7, 26]. Показано, що мембранозв'язаний білок GNOM визначає полярне розміщення білка *PIN1* [11].

На транспорт ауксинів впливають інші фітогормони. Так, наприклад, гібереліни виявляють стимулюючу дію. Під впливом абсцизової кислоти і етилену швидкість транспорту ауксинів знижується. Кінетин, активуючи транспорт ауксинів, імовірно призводить до підсилення синтезу білків, необхідних для транспорту ауксинів.

Молекулярні механізми дії ауксинів на функціональну активність клітини

Основними мішенями дії ауксинів є клітини, що диференціюються поблизу різних меристем. Біохімічні аспекти механізму дії ауксинів на ці клітини досліджують вже давно. Спершу вважали, що, проникаючи в клітину, ІОК зв'язується з специфічними білковими рецепторами і утворений комплекс активує експресію певних генів. Утворені специфічні ферменти мають підсилювати фізіологічну реакцію клітини [2]. Проте було встановлено два факти, що виходили за рамки розглянутого механізму: 1) не були ідентифіковані рецептори ІОК, 2) первинна відповідь на дію ІОК відбувається

надто швидко, протягом 10–15 хв. Запропонована авторами схема була занадто поверхневою і не могла пояснити всіх аспектів молекулярних механізмів дії ауксинів.

Останні літературні дані дозволяють більше деталізувати і розширити цю схему і пояснити те, що до останнього часу здавалося незрозумілим.

Дослідження механізмів поглинання ІОК свідчать, що невелика кількість останньої може проходити через мембрану у незв'язаному стані. Частина ІОК потрапляє у клітину за допомогою активного транспорту, поєднаного з протонами водню. Тому експорт ІОК призводить до накопичення в клітинній стінці позитивних зарядів, що супроводжується зниженням рН. Не слід виключати можливості існування цитоплазматичних ауксинових рецепторів, оскільки ІОК може легко проникати всередину клітини. Імовірно існує одночасно кілька ділянок сприйняття ауксинів, як позаклітинних, так і цитоплазматичних.

На плазматичній мембрані колеоптилів кукурудзи вдалося встановити ауксин-зв'язуючі ділянки, а згодом був виявлений і ауксин-зв'язуючий білок – АВР1. Виявлено також і кілька інших ауксин-зв'язуючих білків, проте добре описаний лише АВР1. Нещодавні експерименти на трансгенних рослинах тютюну та на клітинних лініях кукурудзи підтверджують його рецепторну функцію [4].

Білок АВР1 присутній на зовнішній поверхні плазматичної мембрани. Імовірно, він секретується з ендоплазматичного ретикулулу на плазматичну мембрану з дуже низькою швидкістю. АВР1 є глікопротеїдом, і містить вуглеводневі залишки, що імовірно відповідають за впізнавання і зв'язування ІОК. Цей глікопротеїд складається з двох субодиниць по 23 кДа кожна, які в кукурудзи кодуються невеликою родиною генів [4].

ІОК чи комплекс її з рецептором не діє безпосередньо на геном клітини, як вважали раніше [1], а запускає в клітині каскад реакцій, завдяки яким ауксиновий сигнал підсилюється на кілька порядків. Під дією ІОК активуються різноманітні сигнальні шляхи. Ми розглянемо два з них (рис. 1): а) МАРК-кіназний шлях [5, 18], та б) шлях на основі регульованої деградації білків [15, 17].

Для дослідження механізмів ауксинового сигналювання проводився аналіз мутантів *Arabidopsis* з порушеними реакціями на ауксин [10].

Яким же чином відбувається передача гормональних сигналів у клітину? Спершу гормон (ІОК) повинен провзаємодіяти з рецептором, утворивши гормон-рецепторний комплекс, який активує протеїназний каскад (рис. 16), суть реакцій якого полягає у такому: одна протеїназа активує декілька інших протеїназ шляхом фосфорилування, і так далі.

МАРК-кіназний шлях запускається шляхом зв'язування ІОК з рецептором на плазматичній мембрані, який містить три домени: глікозилований позаклітинний домен, що впізнає і зв'язує ауксин; трансмембранний домен багатий на гідрофобні амінокислоти, необхідний для закріплення рецептора на мембрані; внутрішньоклітинний домен з ферментативною активністю, який фосфорилує білки-мішені. Можливо, що таким рецептором є білок АВР1.

При взаємодії ІОК з рецептором відбувається активація внутрішньоклітинного ферментативного домену, який активує певні G-білки [6]. G-білки в неактивному стані складаються з трьох субодиниць α , β , γ і містять зв'язаний з α -субодиницею гуанозиндифосфору кислоту (ГДФ). Активація G-білка супроводжується обміном зв'язаного ГДФ на ГТФ з наступним від'єднанням α -субодиниці від β/γ -субодиниць. Вільна α -субодиниця спричинює активацію каскаду за рахунок фосфорилування: MAPKKK (кіназа кінази MAP кінази) $\rightarrow$ MAPKK (кіназа MAP кінази) $\rightarrow$ MAPK (мітоген активована кіназа) (Рис. 16).

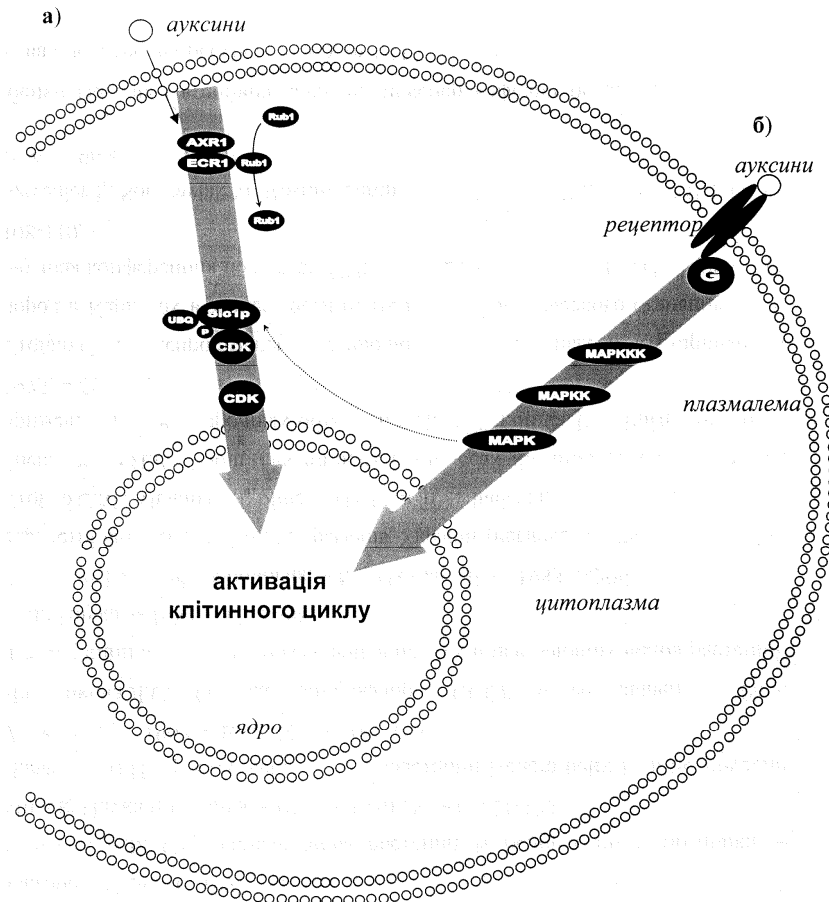


Рис. 1. Шляхи сигналювання ауксинів у рослинній клітині: а) ауксин-залежний шлях регуляції деградації білків; б) MAP-кіназний шлях, G – активний G-білок, MAPKKK – кіназа кінази MAP кінази, MAPKK – кіназа MAP кінази, MAPK – мітоген активована кіназа, Sic1p – інгібітор CDK, CDK – протеїнкіназа, що запускає клітинний поділ, Sic1p-UBQ – неактивний комплекс, що нездатний інгібувати CDK

Активована MAPK транспортується у ядро, де фосфорилує відповідні фактори транскрипції – білки, що взаємодіють з ДНК, підсилюючи експресію генів, тобто синтез РНК, і, як наслідок, трансляцію на ній необхідних для росту клітини білків. Слід зазначити, що фосфорилування здійснюється із затратою енергії, тобто для реакції фосфорилування необхідна АТФ, яка у ході реакції віддає один залишок фосфорної кислоти і перетворюється на АДФ.

Нещодавно з клітин тютюну була виділена MAPKKK, що бере участь в активації MAPK-каскаду. Експресія цієї MAPKKK спостерігається в клітинах меристеми під час швидкого поділу [19].

Те, що ауксини регулюють клітинний цикл, помітили вже давно [1], проте механізм регуляції протягом довгого часу залишався неописаним. Як вже зазначалося, ауксини необхідні для початку синтезу ДНК, тобто переходу клітини з G₁-фази в S-фазу клітинного циклу. Яким же чином ауксини індукують цей перехід?

У клітині постійно знаходяться ферменти (відповідні протеїнкінази – CDK), які активують перехід клітини у такий стан, при якому починається підготовка клітини до поділу. В нормі ці ферменти активуються лише під час переходу клітини в S-фазу і знаходяться вони під контролем специфічних інгібіторів. За відсутності інгібіторів клітина постійно ділиться і перетворюється у злоякісну (ракову), а коли ці інгібітори активні постійно, то клітина втрачає здатність до поділу. Саме ІОК регулює деградацію інгібіторів CDK. Одним з таких інгібіторів є білок Sic1 p.

Під дією ІОК відбувається активація білку AHR1 [3, 16, 17, 20], що взаємодіє з білком ECR (Рис. 1а). Такий димерний комплекс активує убіквітин-подібні білки – Rub1p [18]. Слід зазначити, що всі призначені для деградації білки підлягають убіквітинуванню. Ця модифікація здійснюється шляхом приєднання білка убіквітина (UBQ), або інших убіквітин-подібних білків, зокрема Rub1p до білків-мішеней. Такі модифіковані білки впізнаються гідролітичними ферментами і розщеплюються. Перенесення Rub1p на інгібітор (Sic1p) CDK призводить до його руйнування. Він вже не інгібує протеїнкіназу CDK, яка запускає перехід клітини в S-фазу, та синтез ДНК, через певний час після цього відбувається клітинний поділ.

Іншими можливими мішенями контрольованої ауксинами деградації є білки родини Aux/IAA [14, 21, 22]. У *Arabidopsis* є щонайменше 20 різних представників цієї родини. Білки Aux/IAA локалізуються в ядрі і виконують функцію факторів транскрипції, тобто зв'язуючись з ДНК регулюють транскрипцію відповідних генів [3, 5, 13, 21].

Фізіологічна дія ауксинів

Фізіологічна дія ауксинів надзвичайно складна. Різні тканини на дію ауксинів відповідають по-різному.

Було встановлено, що ауксини, які знаходяться у верхівці і транспортуються вниз, пригнічують розвиток латеральних пагонів. Усунення верхівки призводить до підсилення росту бічних пагонів. Якщо на зрізану верхівку нанести ІОК, ріст латеральних пагонів знову пригнічується [2].

Значну роль ауксини відіграють в регуляції цвітіння, росту, дозрівання, опадання зав'язей, плодів, листків. Показано, що ауксини беруть участь у зав'язуванні плодів, вони необхідні для росту пилкових трубок. Показано, що подальший ріст плоду залежить від рівня ауксинів, проте в цьому процесі беруть участь також інші фітогормони.

Ауксини зумовлюють сезонність динаміки росту деревних рослин. Ріст дерева у висоту здійснюється за участю апікальних меристем, а в товщину – за участю васкулярного камбію. Ауксини контролюють поділ меристематичних клітин як при рості у висоту, так і при радіальному рості. Ауксини беруть активну участь у формуванні провідної системи деревних рослин. Це встановлено за допомогою експериментів на культурах тканин та спостережень за інтактними рослинами. Показано, що ауксини переважно стимулюють диференціацію ксилеми [1].

Цікаво зазначити, що в умовах короткого дня, якщо на зріз гілочки з видаленою верхівкою нанести ІОК, то можна викликати утворення васкулярним камбієм широких трахеїд [2]. Це дозволяє дійти висновку що: 1) саме ІОК здійснює гормональний контроль ширини просвіту трахеїд, 2) підсилене закладання пізньої деревини в основі стовбура і менша частка закладання її у верхній частині пояснюються тим, що при транспортуванні ауксинів у напрямку зверху вниз, у верхній частині стовбура забезпечення тканин ауксином більше, ніж у нижній.

Ауксини регулюють не лише нормальний ріст дерев, але й беруть участь у відхиленнях нормального росту, коли напрямок росту пагона змінюється і утворюється так звана реактивна деревина [2]. Реактивна деревина – вважається браком при використанні у будівництві. Дошки з такої деревини погано піддаються обробці. В утворенні реактивної деревини, як було встановлено, дійсно беруть участь ауксини. У літературі є дані про те, що великий вміст ауксинів виявлено у сосни і тополі на нижній стороні горизонтальних гілок, порівняно з верхньою. Якщо у вертикальні пагони хвойних дерев вводити з одної сторони ІОК, то можна викликати утворення реактивної деревини. Така деревина може утворюватися також і при нестачі ІОК. Реактивна деревина в покритонасінних порід імовірно утворюється при нестачі ауксинів, а в голонасінних – при надлишку.

Література

1. Биохимия регуляции онтогенеза растительной клетки (под ред. Калинина Ф.Л.). – К.: Наук. думка, 1983. – 264 с.
2. Лихолат Т.В. Регуляторы роста древесных растений. – М.: Лесная пром-сть, 1983. – 238 с.
3. Leysser O., Berleth T. A molecular basis for auxin action// Cell and Dev. Biol. – 1999. – N10, 131-137.
4. Johri M.M., Mitra D. Action of plant hormones// Curr. Sci. – 2001. – 80. – N2, 199-205.
5. Hardtke C.S., Berleth T. The Arabidopsis gene MONOPTEROS encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development// EMBO J. – 1998. – 17. – N5, 1405-1411.
6. Gulweiler L., Guan C., Moller A., Wisman E., Mengen K., Yephremov A., Palme K. Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in Arabidopsis vascular tissue// Science. – 1998. – 282. – 2226-2230.
7. Nelson T. Polarity, vascularisation and auxin// Elsevier Sci. – 1998. – 3. – N7, 245-246.

8. Hooley R. Plant hormone perception and action: a role for G-protein signal transduction?// Phil. Trans. R. Soc. Lond. – 1998. – 353. – 1425-1430.
9. Marchant A., Kargul J., May S.T., Muller P., Delbarre A., Perrot-Rechenmann C., Bennett M.J. AUX1 regulates root gravitropism in Arabidopsis by facilitating auxin uptake within root apical tissues// EMBO J. – 1999. – 18. – N8. – 2066-2073.
10. Hooley R. Auxin signalling: homing with targeted genetics// Plant Cell. – 1998. – 10. – 1581-1583.
11. Steinmann T., Geldner N., Grebe M., Mangold S., Jackson C.L., Paris S., Golweiller L., Palme K., Jurgens G. Coordinated polar localisation of auxin efflux carrier PIN1 by GNOM ARF GEF// Science. – 1999. – 286. – N10, 316-318.
12. Liu C., Xu Z., Chua N. Auxin polar transport is essential for the establishment of bilateral symmetry during early plant embryogenesis// Plant Cell. – 1993. – 5. – 621-630.
13. Abel S., Theologis A. Early genes and auxin action// Plant Physiol. – 1996. – 111. – 9-17.
14. Kim J., Harter K., Theologis A. Protein-protein interactions among the Aux/IAA proteins// Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1997. – 94. – 11786-11791.
15. Ciechanover A., Schwartz A.L. The ubiquitin-proteasome pathway: the complexity and myriad functions of protein death// Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1998. – 95. – 2727-2730.
16. Lammer D., Mathias N., Laplaza J.M., Jiang W., Liu Y., Callis J., Goebel M., Estelle M. Modification of yeast Cdc53p by the ubiquitin-related protein Rub1 affects function of the SCF^{cdc4} complex// Genes Dev. – 1998. – 12. – 914-926.
17. Liakopoulos D., Doenges G., Matuschewski K., Jentsch S. A novel protein modification pathway related to the ubiquitin system// EMBO J. – 1998. – 17. – 2208-2214.
18. del Pozo J.C., Timppe C., Tan S., Callis J., Estelle M. The ubiquitin-related protein RUB1 and auxin response in Arabidopsis// Science. – 1998. – 280. – 1760-1763.
19. Kovtun Y., Chiu W.L., Zeng W., Sheen J. Suppression of auxin signal transduction by a MAPK cascade in higher plants// Nature. – 1998. – 395. – 716-720.
20. Cernac A., Lincoln C., Lammer D., Estelle M. The SARI gene of Arabidopsis acts downstream of the AXR1 gene in auxin response// Development. – 1997. – 124. – 1583-1591.
21. Rouse D., Mackay P., Stirnberg P., Estelle M., Leyser O. Changes in auxin response from mutations in an Aux/IAA gene// Science. – 1998. – 279. – 1371-1373.
22. Ulmasov T., Murfett J., Hagen G., Guilfoyle T. Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements// Plant Cell. – 1997. – 9. – 1963-1971.
23. Bennett M.J., Marchant A., May S.T., Swarup R. Going the distance with auxin: unravelling the molecular basis of auxin transport// Phil. Trans. R. Soc. Lond. – 1998. – 353. – 1511-1515.
24. Przemeck G.K. H., Mattsson J., Hardtke C.S., Sung R.Z., Berleth T. Studies on the role of the Arabidopsis gene MONOPTEROS in vascular development and plant cell axialization// Planta. – 1998. – 200. – 229-237.
25. Muller A., Guan C., Galweiler L., Tanzler P., Huijser P., Marchant A., Parry G., Bennett M., Wisman E., Palme K. AtPIN2 defines a locus of Arabidopsis for root gravitropism control// EMBO J. – 1998. – 17. – 6903-6911.
26. Bennett M.J., Marchant A., Green H.G., May S.T., Ward S.P., Millner P.A., Walker A.R., Schulz B., Feldmann F.A. Arabidopsis AUX1 gene: a permease-like regulator of root gravitropism// Science

УДК 630*182.21 (471.82)

П.Т. Яценко¹, В.В. Турич²

ПРО ПРИРОДНЕ ПОВНОВЛЕННЯ СОСНИ НА ЗГАРИЩАХ У ЛІСАХ ШАЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ

Відображено роль вогню як вагомого екологічного фактора і його вплив на функціонування лісових екосистем. Охарактеризовані особливості заростання згаріщ та природного поновлення сосни звичайної на горільниках у соснових лісах Шацького національного природного парку.

¹ Інститут екології Карпат НАН України

² Шацький національний природний парк