



© А. И. Жернаков¹,
В. Е. Цыганов¹, А. Ю. Борисов¹,
И. А. Тихонович^{1,2}

УДК 577.175.19

ГЕН ГОРОХА *SCR*, КОНТРОЛИРУЮЩИЙ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КОРНЯ, ВОВЛЕЧЕН В РЕГУЛЯЦИЮ АКТИВНОСТИ АЦК-ОКСИДАЗЫ

¹ ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии; ² Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и селекции

ВВЕДЕНИЕ

Корневая система является неотъемлемой частью всех высших растений и выполняет широкий ряд жизненно важных для растений функций. В частности, корень закрепляет растение в субстрате и обеспечивает снабжение остальных вегетативных и репродуктивных органов водой и минеральными питательными веществами (для обзора см. сборник Gašparíková et al., 1998). Кроме того, корень играет важную роль в общесистемной регуляции развития растений, и, само по себе, развитие корня зависит от комплексного воздействия факторов различной природы, как внешних, так и внутренних (см. обзор Aiken, Smucker 1996). Рост и нормальное развитие корня обеспечивается двумя фундаментальными процессами, описанными еще в XIX веке (Hofermeister, 1867; Sachs, 1882): (1) деление клеток и (2) растяжение и дифференцировка вновь образованных клеток. Механизмы, вовлеченные в реализацию данных программ, являются предметом интенсивного изучения, однако, многие молекулярно-генетические основы контроля развития корневой системы до сих пор остаются неизвестными (см. обзор Jovanovic et al., 2008).

✿ В работе произведено изучение этиленового статуса мутанта гороха *SGEcr1*, характеризующегося измененной морфологией корневой системы, развитие которой значительно зависит от физико-механических условий среды. Подтверждена зависимость проявления фенотипа корневой системы мутанта от этиленового статуса растения. Показано, что мутант характеризуется повышенной продукцией и повышенной чувствительностью к этилену на фоне нарушения механизмов регуляции биосинтеза этилена, приводящих к повышенной активности этилен-продуцирующего фермента АЦК-оксидазы.

Мутации в различных группах генов приводят к нарушениям развития корня. Прежде всего, это мутации в генах непосредственно контролирующей работу корневых меристем и дифференциацию новых клеток. Например, гены арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) *SCARECROW (SCR)* (Di Laurenzio et al., 1996) и *SHORTROOT (SHR)* (Helariutta et al., 2000), отвечают за нормальную работу покоящегося центра корневой апикальной меристемы и дифференциацию клеток. Далее, известны гены, непосредственно обеспечивающие процесс растяжения клеток, например: гены экспанзинов (Choia et al., 2003), гены, обеспечивающие нормальную работу целлюлозосинтазного аппарата (Chen et al., 2010; Finaev, 2007) реорганизацию микротрубочек цитоскелета (Buschmann, Lloyd, 2008). Кроме того, на развитие корня огромное влияние оказывает общесистемная регуляция растений, в частности фитогормоны. Так ауксин вызывает наиболее заметный ответ растений, приводящий к интенсификации растяжения клеток корня (Evans, Cleland 1985) и многие мутанты по генам, вовлеченным в транспорт ауксина, характеризуются измененной морфологией корня (Ephritikhine et al., 1999; Estelle, Somerville, 2001).

✿ **Ключевые слова:** морфогенез корня; тигмоморфогенез; фитогормоны; этилен; АЦК-оксидаза; механический стресс.

Изменениями в развитии корня также характеризуются многие мутанты по генам, ответственным за синтез и действие фитогормона этилена. Этилен является очень важным в жизни растений и очень широким по спектру действия фитогормоном. Конститутивный тройной ответ растений на этилен — (1) замедление роста в длину и утолщение проростка; (2) «не разгибающаяся» апикальная петелька; (3) изменение ориентации проростка в пространстве — был описан в начале XX века Дмитрием Николаевичем Нелюбовым (Нелюбов, 1914). За более чем столетнее изучения влияния этилена на рост и развитие растений была открыта важная

Поступила в редакцию 01.09.2011
Принята к публикации 10.02.2012

роль этого фитогормона в регуляции многих процессов в жизни растений.

Этилен может вызывать различные изменения роста и развития растений в зависимости от множества других факторов как внешних, так и внутренних. Так, например, широко известно противоположное влияние этилена на рост этиолированных и растущих при свете проростков. В небольших концентрациях (менее 0,1 мкл/л) этилен может стимулировать рост и растяжение органов растений. Это показано для многих видов растений, в том числе табака (*Nicotiana tabacum* L.) (Pierik et al., 2003), пшеницы (*Triticum aestivum* L.) (Suge et al., 1997) и арабидопсиса (Smalle et al., 1997). Для растений, произрастающих в условиях затопления, таких как рис (*Oryza sativa* L.), концентрация этилена, при которой наблюдается стимуляция, может быть на порядок выше (Kende et al., 1998). Это, наряду с важностью концентрационного фактора, демонстрирует и важность внешних условий, и, соответственно, взаимодействия с другими регуляторными процессами в растениях. О взаимодействии между медиаторами, участвующими в передаче этиленового сигнала, и медиаторами других сигнальных каскадов известно крайне мало (Gazzarrini, McCourt, 2003).

За последние три десятилетия, были изучены ферменты, участвующие в процессе биосинтеза этилена (Kende, 1993) и, во многом благодаря использованию арабидопсиса в качестве модельного растения, идентифицированы важнейшие компоненты каскада передачи этиленового сигнала (см. обзоры Cho, Yoo 2009; Lin et al., 2009).

У растений предшественником этилена выступает S-аденозил-L-метионин, от которого под действием фермента АЦК-синтазы отщепляется аденозилная составляющая с образованием 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК), из которой затем под действием фермента АЦК-оксидазы образуется этилен, синильная кислота и CO_2 . У растений данные ферменты (АЦК-синтаза и АЦК-оксидаза) представлены семействами белков. Так, у арабидопсиса известно 12 генов кодирующих АЦК-синтазы и 5 генов кодирующих АЦК-оксидазы (Lin et al., 2009). Экспрессия генов различных представителей данных семейств происходит под воздействием различных факторов тканеспецифично и в зависимости от стадии развития растения. Относительная биохимическая простота биосинтеза этилена контрастирует со сложностью его регуляции. Большинство работ посвящено изучению семейства АЦК-синтаз — как основному регулятору биосинтеза этилена (Kim et al., 2001; Peck, Kende 1998; Tsuchisaka, Theologis 2004). Увеличение активности и накопление транскриптов АЦК-оксидаз отмечено лишь под влиянием некоторых внешних воздействий, например гипоксии (Geisler-Lee et al., 2009) или повреждениях целостности тканей растений (Wouquin

et al., 1997; O'Donnell et al., 1996), и регуляторных компонентов, например гиббереллиновой кислоты (Calvo et al., 2004). Кроме того, известен эффект положительной обратной связи между содержанием этилена в тканях и биосинтезом этилена, прежде всего за счет регуляции активности АЦК-оксидазы (Jung et al., 2000; Petruzzelli et al., 2000).

Рецепция этилена и дальнейшая передача этиленового сигнала осуществляется через сложную цепь транмиттеров, среди которых имеются как отрицательные, так и положительные регуляторы передачи сигнала. У арабидопсиса в качестве рецепторов этилена выступает семейство из 5 белков (*ETR1*, *ETR2*, *ERS1*, *ERS2* и *EIN4*) (Schaller, Kieber, 2002), которые являются негативными регуляторами передачи сигнала, т.е., будучи несвязанными с этиленом, они подавляют передачу сигнала, предположительно, за счет поддержания в активной форме следующего компонента сигнального каскада, MAPKKK-подобной серин-треониновой киназы *CTR1* (Kieber et al., 1993; Clark et al., 1998). Киназа *CTR1*, находясь в активной форме, дезактивирует нижележащие компоненты сигнального каскада, т.е. также является негативным регулятором передачи сигнала (Kieber et al., 1993). Мишенью для *CTR1* является белок *EIN2* (Alonso et al., 1999) (и возможно ряд других белков), который является положительным регулятором и способен активизировать (механизм неизвестен) группу транскрипционных факторов (*EIN3* и семейство подобных ему транскрипционных факторов) (Lin et al., 2009; Solano et al., 1998), непосредственно и опосредованно изменяющих профиль генной экспрессии.

Данная картина передачи этиленового сигнала является базисной, однако она не отражает всю комплексность процесса влияния этилена на рост и физиологию растений. Работы по изучению передачи этиленового сигнала, в которых проводился анализ единичных и множественных мутантов по известным генам сигнального каскада, применялись методы, обеспечивающие искусственное подавление экспрессии («сайленсинг») или, наоборот, сверхэкспрессию данных генов (и отдельных их участков, соответствующих функциональным доменам белков), значительно усложнили картину понимания процесса (см. обзор Yoo et al., 2009). Можно заключить, что чувствительность растения и/или его органов, как правило, коррелирует с количеством конкретных функциональных элементов сигнального пути (O'Malley et al., 2005).

Выявлена обратная связь между влиянием этилена и экспрессией компонентов, участвующих в передаче этиленового сигнала. Примером положительной обратной связи между этиленом и чувствительностью растения к этилену является накопление транскриптов гена *ein2* и повышение стабильности его продукта за счет снижения степени его протеасомной деграда-

ции (Qiao et al., 2009). Связывание этилена с рецепторами также может отражаться на чувствительности растений. Показано, что под действием этилена у арабидопсиса происходит усиление экспрессии генов, кодирующих рецепторы ERS1, ERS2 и ETR2 (Hua et al., 1995; Sakai et al., 1998), что, в свою очередь, должно приводить к снижению чувствительности растений к этилену, так как рецепторы являются негативными регуляторами передачи сигнала. С другой стороны, связывание этилена с рецептором ETR2 активирует его протеасомо-зависимую деградацию (Chen et al., 2007).

Этилен стал первым кандидатом на роль медиатора ингибирования роста корней в условиях механического стресса (условиях, когда клеткам приходится генерировать значительное давление, а корню расширять собственный диаметр для раздвигания частичек субстрата, закоривания и дальнейшего роста). Известно, что при механическом стрессе, продукция этилена корнями увеличивается (Kays et al., 1974; Moss et al., 1988), и эффекты действия плотных почв и действия этилена на морфологию корня довольно схожи (Crossett, Campbell, 1975; Moss et al., 1988). В ряде случаев замедление роста корней растений в субстрате повышенной плотности удается нивелировать с помощью действия ингибиторов синтеза и действия этилена (Okamoto et al., 2008). С другой стороны, работы с использованием этилен-нечувствительных мутантов арабидопсиса указывают на то, что этилен не является первичным фактором, непосредственно реализующим изменение морфологии растения, вызванные механическим воздействием (Johnson et al., 1998). Очевидно, что рост корня в условиях, затрудняющих свободное растяжение клеток, определяется комплексным действием внешних условий и внутренних программ развития растений, реагирующих на внешние условия. Однако взаимодействие данных факторов и роль этилена остаются еще слабо изученными.

Настоящее исследование посвящено изучению этиленового статуса мутанта гороха SGE_{cr}t (*Pisum sativum* L.), характеризующегося нарушением морфогенеза корневой системы (Tsyganov et al., 2000). Данный мутант представляет особый интерес, так как характеризуется чувствительностью корневой системы к тигморфогенетическим (thigma — греч. касание) стимулам. В субстрате повышенной плотности (кварцевый песок) мутант образует небольшую, компактную корневую систему с сильно утолщенными волнистыми корнями, а в субстрате низкой плотности (вспученный вермикулит) в корневой системе мутанта не наблюдается значительных фенотипических отличий от корневой системы дикого типа SGE (Tsyganov et al., 2000). Ранее этилен-зависимость фенотипа мутанта SGE_{cr}t была продемонстрирована при использовании ингибиторов действия и синтеза этиле-

на (аминоэтоксивинилглицин (АВГ) и ионы серебра) (Tsyganov et al., 2005).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал

В исследовании использовали линию дикого типа SGE (Kosterin, Rozov, 1993) и мутантную линию SGE_{cr}t (Tsyganov et al., 2000). Семена ранжировали по весу с шагом 0,01 г, для каждого эксперимента использовали семена одного ранга.

Выращивание растений

Семена растений дикого типа SGE и мутантной линии SGE_{cr}t стерилизовали в концентрированной серной кислоте в течение 30 минут. Далее семена после многократного промывания фильтрованной водопроводной водой (бытовой фильтр-насадка АКВАФОР В300) помещали в пластиковый контейнер с фильтрованной водой и проводили барботирование воздухом водной фазы с помощью аквариумного компрессора. Спустя 24 часа, после того как происходила инициация роста корня проростка, семена переносили в условия, в которых происходил их дальнейший рост. Использовали три системы, характеризующиеся различным механическим воздействием на проростки: кварцевый песок, вспученный вермикулит и аэропоника.

Кварцевый песок (мелкая фракция, средний размер частиц 0,05–0,5 мм) — характеризуется большой истинной плотностью ($> 1,8 \text{ г/см}^3$) и небольшим объемом порового пространства, недостаточным для роста корней в порах без смещения прилегающих элементов субстрата (песчинок). Таким образом, для роста корни должны генерировать значительное тургорное давление в клетках, необходимое не только для роста (растяжения) клеток, но и для образования пор за счет смещения песчинок.

Вспученный вермикулит (фракция $2 \pm 0,71 \text{ мм}$) — характеризуется небольшой истинной плотностью ($0,1 \text{ г/см}^3$) и большим размером пор, достаточным для роста корней без сдвига прилегающих элементов субстрата.

Аэропоника (субстрат отсутствует, корни находятся в воздушном пространстве) — характеризуется минимальным (практическим нулевым) механическим воздействием на корни, при влажности среды, определяемой условиями эксперимента (давление водяного пара в закрытой двухфазной водно-воздушной системе при температуре 21°C и нормальном атмосферном давлении).

В случае песка и вермикулита использовали пластиковые сосуды объемом 500 мл. В случае аэропоники использовали квадратные пластиковые контейнеры с крышками объемом приблизительно 900 мл (контейнеры сужены у основания, высота приблизительно 10 см). На внутренней поверхности сосуды содержали

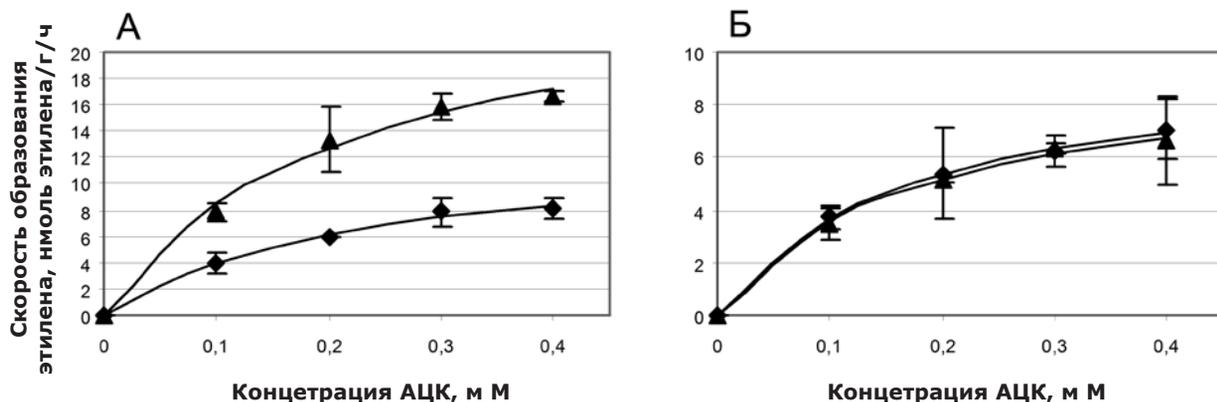


Рис. 1. Зависимость скорости образования этилена корнями проростков гороха дикого типа SGE (◆) и мутанта SGEcrt (▲) в зависимости от концентрации АЦК; А — проростки, выращенные в песке, Б — проростки, выращенные в вермикулите.

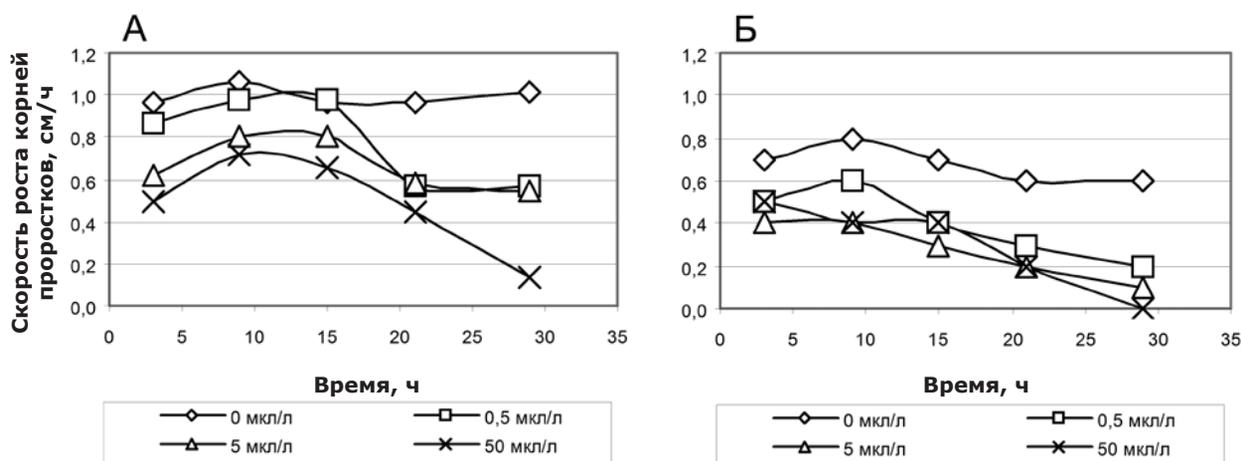


Рис. 2. Скорость роста корней проростков гороха дикого типа SGE (А) и мутанта SGEcrt (Б) в условиях aeropоники при различном содержании этилена в воздухе.

кронштейны, которые позволяли располагать пластину размером 10×10 см на высоте приблизительно 9 см от основания. В сосуды наливали приблизительно 120–150 мл дистиллированной воды (уровень приблизительно 2–2,5 см) и помещали на кронштейны пластину из полипропилена с отверстиями, через которые росли корни проростков. Проводили барботирование водной фазы либо чистым атмосферным воздухом, либо воздухом, содержащим 0,5, 5 и 50 мкл/л этилена. Проростки выращивали в течение 72 часов, после чего их использовали для анализа.

Определение содержания эндогенного этилена

Для определения содержания эндогенного этилена в корнях проростков применяли озоление корней в закрытом флаконе (Sanders et al., 1989). После извлечения растений из субстрата корень отделяли от семядоли, взвешивали и помещали во флакон (объем 22 мл), который закрывали резиновой пробкой, а пробку закрепляли алюминиевым колпачком (приблизительно на 30–40 секунд). Во флакон заранее помещали несколько «чешуек» щелочи (гидроксид натрия) для поглощения выделяемой воды. Для предотвращения

утечек вследствие повышения давления внутри флакона при нагревании, из флакона с помощью шприца отбирали некоторое количество газовой фазы (2 раза по 5 мл). Флаконы помещали в термостат с температурой 75°C. Первые обугленные участки у корней наблюдались уже через 10 минут. Корни находились в термостате, по крайней мере, 14 часов, после чего флаконы остужали до комнатной температуры. Перед определением количества выделившегося этилена проводили проверку герметичности флакона путем введения в него шприца с поднятым плунжером. Если герметичность не была нарушена и атмосфера во флаконе оставалась разреженной, то плунжер, из-за разности давлений, опускался. Давление во флаконе нормализовали путем введения во флакон иглы шприца на 1–2 секунды, после чего проводили измерение концентрации этилена в газовой фазе флакона методом газовой хроматографии (см. ниже пункт Определение концентрации этилена).

Определение активности АЦК-оксидазы

Для определения активности АЦК-оксидазы отделенный корень заворачивали в фильтровальную бу-

магу (5×5 см), помещали в стеклянный флакон (объемом 18 мл) и смачивали завернутый корешок 1,5 мл раствора субстрата. Использовали несколько растворов с различной концентрацией АЦК (1-аминоциклопропан-1-карбоновая кислота), приготовленных на основе 0,1 М калий-фосфатного буфера (рН 6,5), и содержащих 10 мкМ тартрата железа и аскорбиновую кислоту в соотношении к АЦК 16:1. Пробирку закупоривали резиновой пробкой, пробку закрепляли с помощью алюминиевого колпачка, флакон скашивали под углом 30° таким образом, что бы излишки жидкости соприкасались с основанием завернутого корешка. Пробы из флаконов (не менее 3) отбирали с интервалом примерно один час (точное время записывалось и использовалось при расчетах) и определяли концентрацию этилена в газовой фазе флакона (см. ниже пункт Определение концентрации этилена). Скорость образования этилена в течение инкубации принимали как начальную скорость прохождения реакции и, согласно модели Михаэлиса-Ментен, рассчитывали значения V_{max} (максимальная скорость прохождения реакции) и k_m (константа Михаэлиса).

Определение концентрации этилена

Концентрацию этилена в отобранных пробах определяли с помощью газового хроматографа GC-2014 (Shimadzu, Япония), оснащенного пламенно-ионизационным детектором. Разделение анализируемых веществ проводилось в стальной насадочной колонке (длина 1 м, внутренний диаметр 3 мм), заполненной коммерческим адсорбентом Рогарак N. Газ-носитель — азот, скорость потока 80 мл/мин, температура колонки 60 °С.

Определение скорости роста корней проростков

Скорость роста главного корня проростков определяли у растений, выращиваемых в условиях аэропоники (см. пункт Выращивание растений), и подвергнутых воздействию (барботирование водной фазы) либо чистым атмосферным воздухом, либо воздухом, содержащим 0,5, 5 и 50 мкл/л этилена. Длину главного корня измеряли в среднем каждые 6 часов с момента извлечения проростков из системы. Общее время воздействия составило 34 часа. Скорость роста на каждом временном промежутке определяли как dl/dt (мм/ч) (l — длина главного корня проростка, t — время с начала воздействия этиленом).

Математическая обработка результатов

Достоверность различий в содержании эндогенного этилена в корнях проростков оценивали с помощью t -критерия Стьюдента. В результатах представлены: среднее значение, показатель вариации (стандартная ошибка) и вероятность достоверности различий между сравниваемыми выборочными значениями (P , %).

Для расчета максимальной скорости прохождения ферментативной реакции и коэффициента Ми-

Таблица 1

Длина главного корня проростков мутанта SGE_{crt} и SGE, выращенных в различных условиях

Условия выращивания	SGE _{crt} ср. знач ± ст. ошибка, мм	SGE ср. знач ± ст. ошибка, мм
Песок	17,9 ± 0,8	49,4 ± 0,9
Вермикулит	31,7 ± 1,5	53,5 ± 1,7
Аэропоника	74,5 ± 4,1	92,8 ± 3,0

хаэлиса (уравнение Михаэлиса-Ментен) использовали инструмент оптимизации программы Microsoft Excell — «Поиск решения». Скорость прохождения реакции в зависимости от концентрации субстрата (АЦК) определяли как $dC(C_2H_4)/dt$ (данные представлены на графиках в виде точек). Далее с помощью функции «Поиск решения» подбирали такие значения V_{max} и k_m при которых бы сумма квадратов отклонений экспериментальных значений от расчетных была бы минимальной (полученные расчетные значения скорости представлены на рисунках в виде кривых аппроксимирующих экспериментальные данные).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительный анализ роста корней проростков мутанта SGE_{crt} и линии дикого типа SGE в субстратах различной плотности

Данные о длине главного корня проростков мутанта SGE_{crt} и дикого типа SGE при выращивании растений в песке, вермикулите и гидропонике приведены в таблице 1.

Во всех типах субстратов растения мутанта SGE_{crt} образовывали главный корень меньшей длины по сравнению с растениями дикого типа SGE. При выращивании растений в песке средняя длина главного корня мутанта составляла 35 % от средней длины главного корня дикого типа (снижение более чем 2,5 раза), в то же время в вермикулите средняя длина главного корня мутанта составляла 60 %, а в аэропонике 80 % от средней длины главного корня дикого типа. Таким образом, выявлена зависимость длины главного корня, формируемого растениями мутантной линии от плотности субстрата, что свидетельствует о повышенной чувствительности корневой системы мутанта SGE_{crt} к механическим воздействиям.

Сравнительный анализ этиленового статуса мутанта SGE_{crt} и линии дикого типа SGE в субстратах различной плотности

Данные о содержании эндогенного этилена в корнях проростков мутанта SGE_{crt} и дикого типа SGE, выращенных в различных условиях, приведены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание эндогенного этилена в корнях проростков мутанта SGE^{ert} и SGE, выращенных в различных условиях

Условия выращивания	SGE ^{ert}		SGE		P, между генотипами
	ср.знач. ± ст. ошиб., нмоль C ₂ H ₄ /г корня	P, между вариантами	ср.знач. ± ст. ошиб., нмоль C ₂ H ₄ /г корня	P, между вариантами	
Вермикулит	14,8 ± 0,8	98,64 %	11,4 ± 0,6	25,57 %	99,60 %
Песок	18,1 ± 0,9		11,7 ± 0,5		> 99,99 %

P — вероятность достоверности различий между сравниваемыми выборочными значениями, согласно t-критерию Стьюдента

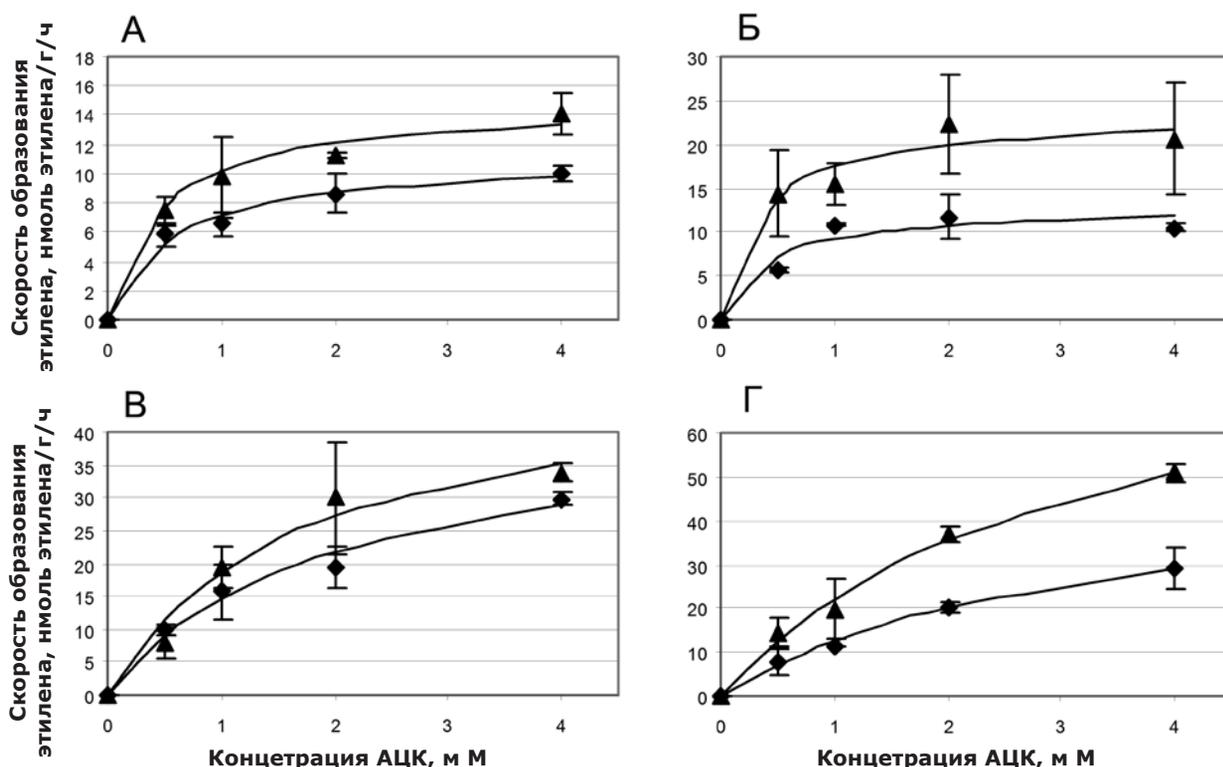


Рис. 3. Зависимость скорости образования этилена корнями проростков гороха дикого типа SGE (◆) и мутанта SGE^{ert} (▲) в зависимости от концентрации АЦК; растения выращены в условиях аэропоники, А — контроль, Б — 0,5 мкл/л этилена в воздухе, В — 5 мкл/л этилена в воздухе, Г — 50 мкл/л этилена в воздухе

Мутант SGE^{ert} характеризовался повышенным содержанием этилена в корнях проростков, по сравнению с диким типом SGE, что наблюдалось при выращивании растений в обоих твердых субстратах песке и вермикулите. При этом содержание этилена в проростках корней мутанта зависело от условий выращивания, наибольшее повышение уровня этилена наблюдается при выращивании растений в песке. В то же время в корнях проростков дикого типа содержание этилена оставалось, по существу, постоянным при всех условиях выращивания.

Помимо повышенного уровня эндогенного этилена в корнях проростков мутанта SGE^{ert}, в условиях плотного субстрата мутант характеризовался повышенной, по сравнению с диким типом SGE, актив-

ностью АЦК-оксидазы (рис. 1), в то время, как в условиях субстрата меньшей плотности (вермикулит) отличий в активности АЦК-оксидазы между мутантом и диким типом не наблюдалось.

Сравнительный анализ влияния экзогенного этилена на рост корней проростков мутанта SGE^{ert} и линии дикого типа SGE в условиях отсутствия механических стимулов

Для анализа влияния экзогенного этилена на рост корней проростков мутанта SGE^{ert} и дикого типа SGE выращивали в условиях аэропоники с барботированием водной фазы либо чистым атмосферным воздухом, либо воздухом, содержащим 0,5, 5 или 50 мкл/л этилена. Экспозицию корней в данных условиях проводили в течение 34 часов на протяжении которых проростки

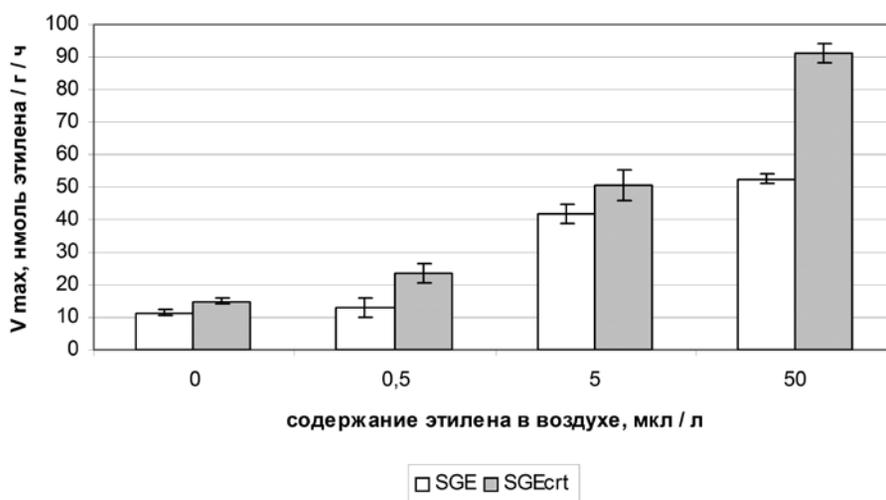


Рис. 4. Значение V_{max} согласно модели Михаэлиса-Ментен для реакции образования этилена из АЦК под действием АЦК-оксидазы гороха в корнях проростков дикого типа SGE и мутанта SGEcrt, выращенных в условиях аэропоники при различных концентрациях этилена в воздухе

периодически извлекали и измеряли их длину. Данные об изменении скорости роста корней проростков мутанта и дикого типа приведены на рисунке 2.

В контрольных условиях скорость роста главного корня проростков дикого типа SGE оставалась практически постоянной и составляла приблизительно 1 мм/ч. Этилен приводил к ингибированию роста корней в ходе первых 6 часов воздействия и стимулировал рост на протяжении следующих 6–12 часов, после чего наблюдалось вторичное снижение скорости роста. При концентрации этилена в воздухе для барботирования 0,5 мкл/л ингибирование роста главного корня было незначительным, однако к концу воздействия скорость роста корней проростков была такой же, как и при барботировании воздухом, содержащим 5 мкл/л этилена. При концентрации этилена 50 мкл/л ингибирующий эффект этилена на рост главного корня дикого типа был максимальным.

Мутант SGEcrt характеризовался меньшей, по сравнению с диким типом, скоростью роста главного корня в контрольных условиях и большей чувствительностью к экзогенному этилену. Влияние 5 и 50 мкл/л этилена на скорость роста корней было практически одинаковым и к концу воздействия приводило к снижению скорости роста корней мутанта практически до нуля.

Сравнительный анализ влияния экзогенного этилена на активность АЦК-оксидазы в корнях проростков мутанта SGEcrt и линии дикого типа SGE в условиях отсутствия механических стимулов

В виду того, что у мутанта SGEcrt активность АЦК-оксидазы зависит от плотности субстрата (рис. 1), анализ влияния экзогенного этилена на активность АЦК-

оксидазы проводили в проростках, выращенных в условиях отсутствия механических воздействий. Проростки растений мутанта SGEcrt и линии дикого типа SGE выращивали в условиях аэропоники, барботируя водную фазу воздухом, содержащим 0,5, 5 и 50 мкл/л этилена. Данные о зависимости скорости образования этилена корнями проростков, выращенных при различных концентрациях этилена, в зависимости от концентрации АЦК приведены на рисунке 3. Мутант SGEcrt характеризовался повышенной, по сравнению с диким типом SGE, активностью АЦК-оксидазы даже в контрольных условиях. Повышение концентрации этилена, логарифмически-пропорционально увеличивало активность АЦК-оксидазы в корнях проростков мутанта (рис. 4) на всем интервале концентраций. У линии дикого типа также наблюдалось увеличение активности АЦК-оксидазы в корнях проростков под действием этилена. Однако увеличение концентрации этилена имело ограниченное действие. Увеличение концентрации этилена с 5 до 50 мкл/л не приводило к увеличению активности АЦК-оксидазы в корнях проростков дикого типа (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее было показано, что развитие корневой системы мутанта гороха SGEcrt строго зависит от физико-механических условий среды, в которой растет растение. В субстрате с большой истинной плотностью (2,0–2,8 г/см³) и низким гранулометрическим составом (0,05–0,5 мм) — кварцевом песке, а также в гелеобразной дисперсной системе (агарозный гель, 0,8 %) мутант образует небольшую компактную корневую систему с сильно утолщенными скрученны-

ми корнями (Tsyganov et al., 2000). В субстрате же с небольшой истинной плотностью ($0,09-0,1 \text{ г/см}^3$) и крупным гранулометрическим составом ($2 \pm 0,71 \text{ мм}$) мутант формирует корневую систему, незначительно отличающуюся от дикого типа. Данная особенность мутанта SGE_{cr1} не позволяет выделить схожие с ним мутации у других видов растений, возможно, главным образом, из-за отсутствия экспериментальных систем, позволяющих селективировать данный признак.

В настоящей работе был проведен сравнительный анализ длины главного корня у проростков мутанта гороха SGE_{cr1} и дикого типа SGE выращенных в песке, вермикулите, а также в условиях отсутствия механических стимулов (аэропонная культура) (табл. 1). Для растений, выращенных в условиях аэропоники, также было произведено измерение скорости роста корня (рис. 2). Анализ показал, что даже в условиях отсутствия механических стимулов рост главного корня мутанта замедлен по сравнению с диким типом.

Ранее нами было показано, что негативный эффект мутации в гене *crt* можно в значительной степени нивелировать под воздействием ингибиторов синтеза (аминоэтоксивинилглицин — ЗАВГ) и действия (ионы серебра — Ag^+) этилена (Tsyganov et al., 2005). Проведенное в настоящей работе изучение этиленового статуса мутанта SGE_{cr1} показало, что мутант характеризуется повышенной аккумуляцией этилена (табл. 2) и повышенной чувствительностью к этилену (рис. 2). Таким образом, можно заключить, что этилен играет ключевую роль в развитии корневой системы мутанта SGE_{cr1} и эффект от воздействия этилена значительно увеличивается под действием внешних факторов, таких как условия роста корней.

Регуляция уровня биосинтеза этилена является важным механизмом, позволяющим растению адекватно реагировать на внешние условия. Этилен-нечувствительные мутанты ограничены в своей способности к прорастанию корня сквозь субстрат (Okamoto et al., 2008; Zacarias, Reid, 1992).

Многочисленные исследования показали, что главным инструментом, позволяющим регулировать уровень биосинтеза этилена в растении, является регуляция активности фермента АЦК-синтазы, который катализирует предпоследнюю стадию в пути биосинтеза этилена. Различные представители семейства АЦК-синтаз тканеспецифично активируются под воздействием различных факторов (He et al., 1996; Kende, 1993; Riov, Yang, 1998; Tsuchisaka, Theologis, 2004). Увеличение активности АЦК-оксидаз, ферментов, катализирующих заключительную стадию в пути биосинтеза этилена, отмечено лишь при некоторых воздействиях, таких как нарушение целостности тканей растений, гипоксия (Geisler-Lee et al., 2010; He et al., 1996; Lin et al., 2009). Сравнительный анализ активности АЦК-оксидазы в проростках корней му-

танта SGE_{cr1} и линии дикого типа SGE показал, что измененная морфология корневой системы мутанта ассоциирована с повышением активности АЦК-оксидазы (рис. 1). У дикого типа не наблюдалось разницы в активности АЦК-оксидазы между проростками, выращенными в песке и вермикулите. В то же время у проростков мутанта, выращенных в песке, активность АЦК-оксидазы была в два раза выше по сравнению с проростками, выращенными в вермикулите и проростками дикого типа.

Регуляция активностей АЦК-синтаз и АЦК-оксидаз происходит как на транскрипционном, так и на посттрансляционном уровне. Инактивация ферментов биосинтеза этилена может быть критичной для нормального развития растения. Среди мутантов арабидопсиса с повышенной продукцией этилена известны мутанты *eto2* и *eto3*, содержащие мутации на С-концах генов АЦК-синтаз, приводящие к нарушению убиквитин-зависимой протеасомной деградации данных изоферментов (Chae et al., 2003). Мутанты по генам *ETO1*, *EOL1* и *EOL2* дефектны по генам убиквитин-лигаз, что также увеличивает стабильность некоторых членов семейства АЦК-синтаз (Christians et al., 2008).

О посттрансляционной регуляции активности АЦК-оксидаз известно меньше. У томата (*Solanum lycopersicum*) известен ген *E8* (Cara, Giovannoni, 2008), белковый продукт которого относится к классу диоксигеназ и имеет 34 % гомологии с аминокислотной последовательностью АЦК-оксидаз. Репрессия гена *E8* путем РНК-интерференции у нормальных растений приводила к семикратному накоплению транскриптов АЦК-оксидаз и более чем двукратному транскриптов АЦК-синтазы в плодах на стадии созревания. Однако механизм, определяющий данный контроль, остается еще неизвестным.

Кроме того, важным представляется способность этилена стимулировать собственный биосинтез за счет увеличения активности, в первую очередь АЦК-оксидазы. В то же время активность АЦК-синтаз под воздействием этилена может снижаться, что было показано на проростках гороха (Pesch, Kende 1998). Возможно, повышенное накопление этилена в растениях мутанта SGE_{cr1} частично определяется данным механизмом. Увеличение активности АЦК-оксидаз под действием экзогенного этилена, в том числе в проростках гороха, была показана в работе Petruzzelli с соавторами (2000). В настоящей работе была проанализирована концентрационная зависимость степени активирования АЦК-оксидазы от этилена (рис. 3, 4). Анализ влияния экзогенного этилена на активность фермента в корнях проростков гороха линии дикого типа SGE показал, что после достижения определенной концентрации этилена (концентрация насыщения этиленом, приблизительно 5 мкл/л), дальнейшее

повышение концентрации не приводит к увеличению активности АЦК-оксидазы. В то же время у мутанта данный лимит концентрации этилена определен не был, и на всем интервале использованных концентраций активность АЦК-оксидазы в корнях проростков мутанта SGEcrt возрастал прямо пропорционально логарифму концентрации этилена. Таким образом, можно предположить, что у мутанта SGEcrt нарушен механизм регуляции активности АЦК-оксидазы.

Другой возможной причиной значительного влияния этилена на изменение морфологии корневой системы мутанта SGEcrt можно считать повышенную чувствительность мутанта к этилену. Работы по изучению мутанта арабидопсиса *eer1* (Larsen, Cancel 2003), характеризующегося повышенной продукцией этилена, дали основания полагать, что фенотипическое проявление данной мутации является не только результатом сверхпродукции этилена, но также измененной чувствительностью к этилену. Продукт гена *eer1* представляет собой регуляторную субъединицу протеинфосфатазы 2A (PP2A). В настоящее время данный белок затруднительно соотносить с каким-либо известным компонентом передачи этиленового сигнала. Предполагают, что он может принимать участие в регуляции активности STR1 или родственной МАРККК-киназы. Другими словами, повышение содержания эндогенного этилена может быть ассоциировано с измененной чувствительностью к этилену. Другим примером данной связи может служить изучение аналога белка EIN3 арабидопсиса (одного из группы транскрипционных факторов, активирующихся под действием этилена) у риса (*Oryza sativa* L.) — *OsEIL1*. Сверхэкспрессия гена *OsEIL1* у растений риса приводила к заметному уменьшению длины корней и повышенной чувствительностью к этилену, также у данных трансгенных растений было детектировано накопление транскриптов гена АЦК-оксидазы *AsACO1* (Mao et al., 2006).

Таким образом, нельзя исключить, что причиной повышенного накопления этилена в корнях мутанта SGEcrt и, следовательно, изменения морфологии корневой системы является нарушение в каскаде передачи этиленового сигнала.

В настоящее время проводятся интенсивные исследования с целью идентификации генетических и химических факторов, участвующих в регуляции синтеза этилена и передачи этиленового сигнала. Помимо классического мутагенеза и отбора мутантов проводят анализ природного полиморфизма по признаку продукции этилена с использованием QTL-анализа (Dal Cin et al., 2009). Также проводят анализ изменения профилей экспрессии генов под действием этилена (Lin et al., 2009) и применяют так называемый фармакологический подход для выявления роли кон-

кретных химических агентов в регуляции передачи этиленового сигнала и реализации ответа на этилен у растений (Jung et al. 2000). Такими способами был идентифицирован ряд генов, кодирующих белковые продукты различной природы, такие как, например, регуляторы/стабилизаторы протеасомной деградации белков, белки-транспортеры-металлов и этилен-зависимые транскрипционные факторы (ERF) (Lin et al., 2009; Yoo et al., 2009).

Можно предположить, что нарушение регуляции биосинтеза этилена у мутанта гороха SGEcrt в корне может быть опосредовано как нарушениями непосредственной регуляции биосинтеза, так и нарушениями в механизмах восприятия и передачи этиленового сигнала. Локальное действие многих этилен-зависимых генов согласуется с тем фактом, что фенотипическому изменению подверглась, главным образом, корневая система растения. Клонирование и определение продукта гена *Pscrt* может расширить наше понимание процессов, лежащих в основе гормональной регуляции развития растений. Окончательный вывод относительно причин нарушения этиленового статуса у мутанта SGEcrt может быть сделан только после определения последовательности гена *Pscrt* и функции его продукта.

Благодарности:

Работа поддержана Российской академией сельскохозяйственных наук, грантом Президента России (НШ-337.2012.4), Министерством образования и науки РФ (государственные контракты 16.512.11.2155, П1301).

ЛИТЕРАТУРА

1. Нелюбов Д. Н., 1914. Качественные изменения геотропизма. Часть II. Влияние лабораторного воздуха и этилена на геотропизм стеблей // Записки Императорской академии наук. Серия VIII, по физико-химическому отделению. Том XXXII. №3.
2. Aiken R. M., Smucker A. J. M., 1996. Root system regulation of whole plant growth // Annu. Rev. Phytopathol. Vol. 34. P. 325–346.
3. Alonso J. M., Hirayama T., Roman G. et al., 1999. EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in *Arabidopsis* // Science. Vol. 284. N 5423. P. 2148–2152.
4. Bouquin T., Lasserre E., Pradier J. et al., 1997. Wound and ethylene induction of the ACC oxidase melon gene *CM-ACO1* occurs via two direct and independent transduction pathways // Plant Mol. Biol. Vol. 35. N 6. P. 1029–1035.
5. Buschmann H., Lloyd C. W., 2008. Arabidopsis mutants and the network of microtubule-associated functions // Mol. Plant. Vol. 1. N 6. P. 888–898.

6. Calvo A. P., Nicolás C., Nicolás G., et al., 2004. Evidence of a cross-talk regulation of a GA 20-oxidase (FsGA20ox1) by gibberellins and ethylene during the breaking of dormancy in *Fagus sylvatica* seeds // *Physiol. Plant.* Vol. 120. N 4. P. 623–630.
7. Cara B., Giovannoni J. J., 2008. Molecular biology of ethylene during tomato fruit development and maturation // *Plant Sci.* Vol. 175. N 1–2. P. 106–113.
8. Chae H.S., Faure F., Kieber J. J., 2003. The *eto1*, *eto2*, and *eto3* mutations and cytokinin treatment increase ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* by increasing the stability of ACS protein // *Plant Cell.* Vol. 15. N 2. P. 545–559.
9. Chen S., Ehrhardt D. W., Somerville C. R., 2010. Mutations of cellulose synthase (*CESA1*) phosphorylation sites modulate anisotropic cell expansion and bidirectional mobility of cellulose synthase // *PNAS.* Vol. 107. N 40. P. 17188–17193.
10. Chen Y. F., Shakeel S. N., Bowers J., et al., 2007. Ligand-induced degradation of the ethylene receptor ETR2 through a proteasome-dependent pathway in *Arabidopsis* // *J. Biol. Chem.* Vol. 282. N 34. P. 24752–24758.
11. Cho Y.-H., Yoo S.-D., 2009. Emerging complexity of ethylene signal transduction // *J. Plant Biol.* Vol. 52. N 4. P. 283–288.
12. Choia D., Leea Y., Cho H.-T. et al., 2003. Regulation of expansin gene expression affects growth and development in transgenic rice plants // *Plant Cell.* Vol. 15. N 6. P. 1386–1398.
13. Christians M. J., Gingerich D. J., Hansen M. et al., 2008. The BTB ubiquitin ligases ETO1, EOL1 and EOL2 act collectively to regulate ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* by controlling type-2 ACC synthase levels // *Plant J.* Vol. 57. N 2. P. 332–345.
14. Clark K. L., Larsen P. B., Wang X., et al., 1998. Association of the *Arabidopsis* CTR1 Raf-like kinase with the ETR1 and ERS ethylene receptors // *PNAS.* Vol. 95. N 9. P. 5401–5406.
15. Crossett R. N., Campbell D. J. 1975. The effects of ethylene in the root environment upon the development of barley // *Plant Soil.* Vol. 42. N 2. P. 453–464.
16. Dal Cin V., Kevany B., Fei Z., Klee H. J. 2009. Identification of *Solanum habrochaites* QTL that affect ethylene emissions in tomato fruit // The 8th International Symposium on the Plant Hormone Ethylene, Book of abstracts, Ithaca, New York, USA, P. 23.
17. Di Laurenzio L., Wysocka-Diller J. Malamy J. E. et al., 1996. The SCARECROW gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the *Arabidopsis* root // *Cell.* Vol. 86. N 3. P. 423–433.
18. Ephritikhine G., Fellner M., Vannini C. et al., 1999. The sax1 dwarf mutant of *Arabidopsis thaliana* shows altered sensitivity of growth responses to abscisic acid, auxin, gibberellins and ethylene and is partially rescued by exogenous brassinosteroid // *Plant J.* Vol. 18. N 3. P. 303–314.
19. Estelle M. A., Somerville C. 2001. Auxin-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* with an altered morphology // *Mol. Gen. Genet.* Vol. 206. N 2. P. 200–206.
20. Evans M. L., Cleland R. E., 1985. The action of auxin on plant cell elongation // *Crit. Rev. Plant Sci.* Vol. 2. N 4. P. 317–365.
21. Finaev D., 2007. Some aspects of cellulose biosynthesis // *Biol. Plantarum.* Vol. 51. N 3. P. 407–413.
22. Gaspariková O., Ciamporová M., Mistrik I., Baluska F. 1998. Recent Advances of Plant Root Structure and Function. Proceedings of the 5th International Symposium on Structure and Function of Roots. Slovakia Stara Lensna.
23. Gazzarrini S., McCourt P., 2003. Cross-talk in plant hormone signalling: what *Arabidopsis* mutants are telling us // *Ann Bot.* Vol. 91. N 6. P. 605–612.
24. Geisler-Lee J., Caldwell C., Gallie D. R., 2010. Expression of the ethylene biosynthetic machinery in maize roots is regulated in response to hypoxia // *J. Exp. Bot.* Vol. 61. N 3. P. 857–871.
25. He Cj., Finlayson S. A., Drew M. C. et al., 1996. Ethylene biosynthesis during aerenchyma formation in roots of maize subjected to mechanical impedance and hypoxia // *Plant Physiol.* Vol. 112. N 4. P. 1679–1685.
26. Helariutta Y., Fukaki H., Wysocka-Diller J. et al., 2000. The *SHORT-ROOT* gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling // *Cell.* Vol. 101. N 5. P. 555–567.
27. Hofmeister W., 1867. Die Lehre von der Pflanzenzelle. Engelmann W., Leipzig.
28. Hua J., Chang C., Sun Q. et al., 1995. Ethylene insensitivity conferred by *Arabidopsis* ERS gene // *Science.* Vol. 269. N 5231. P. 1712–1714.
29. Johnson K. A., Sistrunk M. L., Polisensky D. H., et al., 1998. *Arabidopsis thaliana* responses to mechanical stimulation do not require ETR1 or EIN2 // *Plant Physiol.* Vol. 116. N 2. P. 643–649.
30. Jovanovic M., Lefebvre V., Laporte P. et al., 2008. How the environment regulates root architecture in dicots // *Adv. Bot. Res.* Vol. 46. P. 35–74.
31. Jung T., Lee J. H., Cho M. H. et al., 2000. Induction of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase mRNA by ethylene in mung bean roots: possible involvement of Ca²⁺ and phosphoinositides in ethylene signalling // *Plant Cell Environ.* Vol. 23. N 1. P. 205–213.

32. Kays S. J., Nicklow C. W., Simons D. H., 1974. Ethylene in relation to the response of roots to physical impedance // *Plant Soil*. Vol. 40. N 3. P. 565–571.
33. Kende H., 1993. Ethylene biosynthesis // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* Vol. 44. P. 283–307.
34. Kende H., Knaap E. van der, Cho H.-T., 1998. Deep-water rice: A model plant to study stem elongation // *Plant Physiol.* Vol. 118. N 4. P. 1105–1110.
35. Kieber J. J., Rothenberg M., Roman G. et al., 1993. CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the raf family of protein kinases // *Cell*. Vol. 72. N 3. P. 427–441.
36. Kim J.-H., Kim W.-T., Kang B. G., 2001. IAA and N6-benzyladenine inhibit ethylene-regulated expression of ACC oxidase and ACC synthase genes in mungbean hypocotyls // *Plant Cell Physiol.* Vol. 42. N 10. P. 1056–1061.
37. Kosterin O. E., Rozov S. M., 1993. Mapping of the new mutation *blb* and the problem of integrity of linkage group I // *Pisum Genet.* Vol. 25. P. 27–31.
38. Larsen P. B., Cancel J. D., 2003. Enhanced ethylene responsiveness in the *Arabidopsis eer1* mutant results from a loss-of-function mutation in the protein phosphatase 2AA regulatory subunit, RCN1 // *Plant J.* Vol. 34. N 5. P. 709–718.
39. Lin Z., Zhong S., Grierson D., 2009. Recent advances in ethylene research // *J. Exp. Bot.* Vol. 60. N 12. P. 3311–3336.
40. Mao C., Wang S., Jia Q. et al., 2006. *OsEIL1*, a rice homolog of the *Arabidopsis EIN3* regulates the ethylene response as a positive component // *Plant Mol. Biol.* Vol. 61. N 1–2. P. 141–152.
41. Moss G. I., Hall K. C., Jackson M. B., 1988. Ethylene and the response of root of maize (*Zea mays* L.) to physical impedance // *New Phytol.* Vol. 109. N 3. P. 303–311.
42. O'Donnell P. J., Calvert C., Atzorn R., et al., 1996. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants // *Science*. Vol. 274. N 5294. P. 1914–1917.
43. Okamoto T., Tsurumi S., Shibasaki K., 2008. Genetic dissection of hormonal responses in the roots of *Arabidopsis* grown under continuous mechanical impedance // *Plant Physiol.* Vol. 146. N 4. P. 1651–1662.
44. O'Malley R. C., Rodriguez F. I., Esch J. J. et al., 2005. Ethylene-binding activity, gene expression levels, and receptor system output for ethylene receptor family members from *Arabidopsis* and tomato // *Plant J.* Vol. 41. N 5. P. 651–659.
45. Peck S. C., Kende H., 1998. Differential regulation of genes encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase in etiolated pea seedlings: effects of indole-3-acetic acid, wounding, and ethylene // *Plant Mol. Biol.* Vol. 38. N 6. P. 977–982.
46. Petruzzelli L., Coraggio I., Leubner-Metzger G., 2000. Ethylene promotes ethylene biosynthesis during pea seed germination by positive feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase // *Planta*. Vol. 211. N 1. P. 144–149.
47. Pierik R., Visser E. J. W., Kroon H. de, et al., 2003. Ethylene is required in tobacco to successfully compete with proximate neighbours // *Plant Cell Environ.* Vol. 26. N 8. P. 1229–1234.
48. Qiao H., Chang K. N., Yazaki J., et al., 2009. Interplay between ethylene, ETP1/ETP2 F-box proteins, and degradation of EIN2 triggers ethylene responses in *Arabidopsis* // *Genes Dev.* Vol. 23. N 4. P. 512–521.
49. Riov J., Yang S. F., 1998. Ethylene and auxin-ethylene interaction in adventitious root formation in mung bean (*Vigna radiata*) cuttings // *J. Plant Growth Regul.* Vol. 8. N 2. P. 131–141.
50. Sachs J., 1882. Vorlesungen über Pflanzen // *Physiologie: XXXIII Vorlesung*. Engelmann W., Leipzig.
51. Sakai H., Hua J., Chen Q. G. et al., 1998. *ETR2* is an *ETR1*-like gene involved in ethylene signaling in *Arabidopsis* // *PNAS*. Vol. 95. N 10. P. 5812–5817.
52. Sanders I. O., Smith A. R., Hall M. A., 1989. Ethylene metabolism in *Pisum sativum* L. // *Planta*. Vol. 179. N 1. P. 104–114.
53. Schaller G.E., Kieber, J.J., 2002. Ethylene // *The Arabidopsis Book* / Eds. Somerville C. R., Meyerowitz E. M., Rockville, American Society of Plant Physiologists.
54. Smalle J., Haegman M., Kurepa J. et al., 1997. Ethylene can stimulate *Arabidopsis* hypocotyl elongation in the light // *PNAS*. Vol. 94. N 6. P. 2756–2761.
55. Solano R., Stepanova A., Chao Q. et al., 1998. Nuclear events in ethylene signaling: a transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1 // *Genes Dev.* Vol. 12. N 23. P. 3703–3714.
56. Suge H., Nishizawa T., Takahashi H. et al., 1997. Phenotypic plasticity of internode elongation stimulated by deep-seeding and ethylene in wheat seedlings // *Plant Cell Environ.* Vol. 20. N 7. P. 961–964.
57. Tsuchisaka A., Theologis A., 2004. Unique and overlapping expression patterns among the *Arabidopsis* 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase gene family members // *Plant Physiol.* Vol. 136. N 2. P. 2982–3000.
58. Tsyganov V. E., Pavlova Z. B., Kravchenko L. V., et al., 2000. New gene *crt* (*curly roots*) controlling

- pea (*Pisum sativum* L.) root development // Ann Bot. Vol. 86. N 5. P. 975–981.
59. Tsyganov V. E., Zhernakov A. I., Khodorenko A. V. et al., 2005. Genetic approach to study pea (*Pisum sativum* L.) adaptations to mechanical and cadmium stresses during development its symbioses with *Rhizobium* and arbuscular mycorrhizal fungi // The First Symposium on Plant Neurobiology, Book of Abstracts Florence, Italia. P. 80.
60. Yoo S.-D., Cho Y., Sheen J., 2009. Emerging connections in the ethylene signaling network // Trends Plant Sci. Vol. 14. N 5. P. 270–279.
61. Zacarias L., Reid M. S., 1992. Inhibition of ethylene action prevents root penetration through compressed media in tomato (*Lycopersicon esculentum*) seedlings // Physiol Plant. Vol. 86. N 2. P. 301–307.

THE PEA GENE *CRT* CONTROLLING THE MORPHOGENETIC RESPONSE OF THE ROOT IS INVOLVED IN REGULATION OF ACC-OXIDASE ACTIVITY

Zhernakov A. I., Tsyganov V. E., Borisov A. Yu., Tihonovich I. A.

✿ **SUMMARY:** The ethylene status of the pea mutant SGE_{cr}t with altered morphology of the root system, whose development is dramatically dependent on the mechanical conditions of the environment, was studied. The role of ethylene in phenotypic manifestation of mutant root system was confirmed. It was shown that the mutant is characterized by increased production of and increased sensitivity to ethylene and by changes in regulation of ethylene biosynthesis leading to increased activity of the ethylene-producing enzyme ACC-oxidase.

✿ **KEY WORDS:** root morphogenesis; thigmomorphogenesis; phytohormones; ethylene; ACC-oxidase; mechanical stress.

✿ Информация об авторах

Жернаков Александр Игоревич — Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, д. 3. E-mail: tsyganov@arriam.spb.ru.

Цыганов Виктор Евгеньевич — заведующий лабораторией, кандидат биологических наук. Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии. Лаборатория молекулярной и клеточной биологии. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, д. 3. E-mail: tsyganov@arriam.spb.ru.

Борисов Алексей Юрьевич — заведующий лабораторией, доктор биологических наук. Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии. Лаборатория генетики растительно-микробных взаимодействий. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, д. 3. E-mail: ayborisov@yandex.ru.

Тихонович Игорь Анатольевич — директор, профессор, доктор биологических наук, академик Россельхозакадемии. Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, д. 3. E-mail: arriam@arriam.spb.ru, contact@arriam.spb.ru.

Zhernakov Alexandr Igorevich — All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology RAAS, Laboratory of Molecular and Cellular Biology. Podbelsky chausse 3, Saint-Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia. E-mail: tsyganov@arriam.spb.ru.

Tsyganov Viktor Evgenyevich — Head of the laboratory. All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology RAAS, Laboratory of Molecular and Cellular Biology. Podbelsky chausse 3, Saint-Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia. E-mail: tsyganov@arriam.spb.ru.

Borisov Aleksei Yurievich — Head of the Laboratory. All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology RAAS, Laboratory of Genetics of Plant-Microbe Interactions. Podbelsky chausse 3, Saint-Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia. E-mail: ayborisov@yandex.ru.

Tikhonovich Igor Anatolievich — Director, Professor, Full Member of RAAS. All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology. Podbelsky chausse 3, Saint-Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia. E-mail: arriam@arriam.spb.ru, contact@arriam.spb.ru.