

10. GelAnalyser [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://www.GelAnalyser.com /downloads/ users_manual_2010.pdf](http://www.GelAnalyser.com/downloads/users_manual_2010.pdf)
11. Peakall R., Smouse P. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Mol. Ecol.* – 2006. – 6. – P. 288–295.
12. POPGENE [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html
13. Aldrich P.R., Jagtap M., Michler C.H., Romero-Severson J. Amplification of North American red oak microsatellite markers in European white oaks and Chinese chestnut // *Silvae Genet.* – 2003. – 52, № 3–4. – P. 176–179.
14. Neophytou C., Aravanopoulos F., Fink S., Dounavi A. Detecting interspecific and geographic differentiation patterns in two interfertile oak species (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Q. robur* L.) using small sets of microsatellite markers // *For. Ecol. Manag.* – 2010. – 259, № 10. – P. 2026–2035.
15. Cottrell J.E., Munro R.C., Tabbener H.E., Milner A.D., Forrest G.I., Lowe A.J. Comparison of fine-scale genetic structure using nuclear microsatellites within two British oakwoods differing in population history // *For. Ecol. Manag.* – 2003. – 176, № 1–3. – P. 287–303.
16. Vranckx G., Jacquemyn H., Mergeay J., Cox K., Kint V., Muys B., Honnay O. Transmission of genetic variation from the adult generation to naturally established seedling cohorts in small forest stands of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) [Электронный ресурс] // *For. Ecol. Manag.* – 2013. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2013.10.027>
17. Каган Д.И. Популяционно-генетическая структура дуба черешчатого в лесосеменных плантациях и насаждениях Белорусского Полесья: автореф. дис. на соискание уч. степени кандидата биол. наук: спец. 06.03.01 «Лесные культуры, селекция, семеноводство». – Гомель, 2012. – 23 с.
18. Ковалевич О.А. Геногеография дуба черешчатого на территории Беларуси по данным анализа хлоропластной ДНК: автореф. дис. на соискание уч. степени кандидата биол. наук: спец. 06.03.01 «Лесные культуры, селекция, семеноводство». – Гомель, 2013. – 24 с.
19. Габитова А.А. Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) на Южном Урале: эколого-генетический анализ популяционной структуры: автореф. дис. на соискание уч. степени кандидата биол. наук: спец. 03.02.08 «Экология» (биологические науки) и 03.02.07 «Генетика». – Уфа, 2012. – 18 с.
20. Муллагулов Р.Ю., Редькина Н.Н., Янбаев Ю.А. Аллозимная изменчивость дуба черешчатого *Quercus robur* L. (Fagaceae) в изолированных популяциях на восточной границе ареала // *Вестник ОГУ.* – 2008. – № 81. – С. 107–110.

ДЕМКОВИЧ А.Е., KORSHIKOV I.I., MAKOGON I.V.

Donetsk Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 83059, Donetsk, Pr. Illicha, 110, e-mail: dbsgenetics@gmail.com

POLYMORPHISM OF *QUERCUS ROBUR* L. INVESTIGATED BY MICROSATELLITE LOCI IN DONETSKIY KRYAZH

Aims. Analysis of tree genetic polymorphism at four nSSR loci in two highland populations of *Quercus robur* L. in Donetskii Kryazh. **Methods.** To determine plant genotype, we used electrophoretic analysis in polyacrylamide gel of PCR-products of four nSSR loci. **Results.** There were detected 2 to 9 (total 24) alleles at the investigated loci. Observed heterosigosity (H_O) = 0.22, expected (H_E) = 0.47. A significant excess of homozygous genotypes was detected. **Conclusions.** Microsatellite loci provide more exact determination of the allele diversity and heterozygosity of *Q. robur*.

Key words: *Quercus robur* L., population, polymorphism, microsatellite loci, Donetskii Kryazh.

УДК 581.1

ЖУК О.И.

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Украина, 03022, г. Киев, ул. Васильковская, 31/17, e-mail: zhuk_bas@voliacable.com

ЭВОЛЮЦИЯ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ ФИТОГОРМОНОВ РАСТЕНИЙ

В процессе эволюции растительных организмов сформировались сложные сигнальные системы, координирующие экспрессию генов, клеточную активность в

процессе роста и развития, формирование ответа на стресс [1]. Критической детерминантой эволюции наземных растений является необходимость формирования органов для

поглощения воды, питательных веществ и элементов минерального питания из почвы. Существенный вклад в эти процессы вносят сигнальные системы фитогормонов. К одним из наиболее эволюционно ранних относят сигнальный комплекс ауксинов, которые были идентифицированы у водорослей, микроорганизмов, грибов, растений и необходимы для инициации роста [2]. Эволюционная дистанция между микроводорослями и наземными растениями значительна, однако уже у водорослей был идентифицирован AUX-IAA-ARF сигнальный комплекс.

Материалы и методы

Ключевую роль в ауксиновом сигналинге играют рецепторный белок TIR1-AFB, репрессор AUX-IAA и транскрипционный фактор ARF. ARF и AUX-IAA содержат консервативные участки и домены для их взаимодействия в сигнальном каскаде. ARF контактирует с TGTCTC промоторным элементом, который реагирует на ауксин и является главным транскрипционным регулятором экспрессии генов ответа на этот фитогормон. Последний функционирует как молекулярный клей, повышая взаимодействие между AUX-IAA и рецептором TIR-AFB-семейства, который также является компонентом комплекса протеинкиназ, регулирующих вступление клеток в S-фазу клеточного цикла.

У наземных растений описаны альтернативные ауксиновые сигнальные пути, в которых функционируют белки ABP1 и IBR5. Растительный белок ABP1 является членом суперсемейства запасных белков семян 7S и связывается с ауксином через домен BoxA. ABP1 локализован в растительных клетках преимущественно внутри эндоплазматического ретикулума и в значительно меньшем количестве – на внешней стороне плазмалеммы. Этот белок участвует в деполяризации мембран, росте клетки растяжением, контроле клеточных делений.

Результаты и обсуждение

Для ауксинов характерен векторный или полярный тип транспорта, который лежит в основе регуляции всех процессов морфогенеза. Полярные потоки ауксина контролируют эмбриогенез, апикальное доминирование, формирование почек и побегов, филлотаксис, опадение листьев, развитие сосудистой системы и боковых корней, цветение и тропизмы [3].

Система сигналинга ауксинов

непосредственно взаимодействует с сигнальной сетью микро РНК (mi RNA) в контроле функционирования апикальной меристемы побега растений, процессе образования листового примордия. Образование микро РНК происходит в зоне прокамбия, откуда они распределяются по листу и взаимодействуют с факторами ответа на ауксин [4]. В последние годы установлена важная роль в эволюционном процессе малых РНК, представленных некодирующими регуляторными элементами, которые идентифицированы в клетках большинства эукариот [5]. Определены 132 числовых последовательности 3343 генов кодирующих микроРНК. Показано, что в ходе эволюции стабилизация генома происходила по признакам, связанным с основаниями аденином или урацилом. В растениях микроРНК выполняют сигнальные функции, участвуют в регуляции экспрессии генов, процессов роста и развития, стрессовых реакциях растений на дефицит элементов минерального питания, воды, механические повреждения [7].

Малые интерферирующие РНК, имеющие 21–22 нуклеотидных последовательности, участвуют в создании позиционной информации в апексе побега, распределяются в пространстве отдельных зон апикальной меристемы [8]. Для формирования таких РНК необходима сборка комплекса из белка семейства AGO, микро РНК, малой РНК (tasi RNA от trans-acting small interfering RNA). Малые РНК транспортируются по плазмодесмам до листовых примордиев. Мишенью действия tasiRNA являются факторы ответа на ауксин AUXIN RESPONSE FACTOR 3 и 4 (ARF3 и ARF4). При этом формируется позиционная информация позволяющая создать верхнюю (адаксиальную) и нижнюю (абаксиальную) стороны листа, флоэмный и ксилемный прокамбий. Для обеспечения этого процесса направленные потоки ауксинов передвигаются по апопласту. Вектор распределения ауксинов по слоям туники апекса вегетативного побега обуславливает места инициации примордиев листьев и тяжелой прокамбия [9]. Сигнал о формировании проводящей системы необходим для обеспечения меристемы фотоассимилятами и элементами минерального питания и поддержания пролиферации.

Сигнал ауксинов находится в тесной взаимосвязи с экспрессией гена WUS (WUSCHEL) из подсемейства WOX. Ген WUS кодирует белок, содержащий 291 аминокислоту, и контролирует размеры пула стволовых клеток

апекса побега *Arabidopsis* [10]. Установлена отрицательная обратная связь между направлением и интенсивностью потоков ауксина, формирующих тяжи прокамбия и экспрессией гена WUS. Этот ген контролирует пределы центральной зоны меристемы побега в пространстве. Сигнал WUS по плазмодесмам достигает слоев туники и блокирует связь между клетками туники и центральной зоны, формирует купол. Временное снижение экспрессии гена WUS приводит к тому, что часть стволовых клеток может переходить в состав периферической зоны. Мутация *wus* приводит к преждевременному исчерпанию пула стволовых клеток в стеблевом апексе. Сигнальная роль ауксина в процессах формирования строения апикальной меристемы известна не только для высших цветковых растений, но и для таких древних представителей растительного царства как папоротники.

В контроле процессов морфогенеза у растений принимают участие также цитокинины и стриголактоны [11]. Стриголактоны (СЛ) относят к классу фитогормонов с сигнальной активностью, которые характеризуются общей структурой из двух лактонов и являются производными каротиноидов. Предшественником СЛ считают β -каротен, который последовательно метаболизируется с помощью CAROTENOID CLEAVAGE DIOXIGENASE 7 (CCD7) и CCD8. СЛ контролируют ветвление побега, могут служить вторичными месенджерами для ауксина и способны регулировать уровни цитокининов в клеточном соке, блокировать образование придаточных корней, снимая эффект ауксина [12]. В формировании СЛ принимает участие Fe-связывающий белок, представляющий собой бета-каротинизомеразу. Она превращает олл-транс-бета каротин до альдегида с 9 цис-конфигурацией, который в дальнейших превращениях образует карлактон, обладающий СЛ биоактивностью [13]. С помощью мутанта гороха показано, что экспрессия гена *P₃BRC1* в верхушечной почке усиливала синтез СЛ и фенотип ветвления, который мог быть подавлен применением цитокинина бензиламинопурина [14]. Участие сигналинга СЛ в процессах формирования архитектуры растения продемонстрировано также для кукурузы [15]. Использование мутантов *Arabidopsis* позволило установить, что регуляция СЛ ветвления побегов опосредована геном *MAX2* и коррелирует с индукцией рецептора ауксина

TIR1 и транспортом фосфора корнями, особенно в условиях его дефицита в среде [16]

Использование синтетического биоактивного СЛ GR24 показало, что он подавлял ветвление корней, однако стимулировал удлинение корневых волосков [17]. Недавно выявлено взаимодействие сигналинга ауксинов и стриголактонов в процессах формирования арбускулярной микоризы у растений гороха, особенно ранних событий колонизации корней [18]. Известно, что растущие в почве растения с помощью арбускулярной микоризы обеспечивают эффективное поглощение элементов минерального питания корнями. Симбиоз растений и грибов арбускулярной микоризы считают древним и относят к периодам выхода первых растений на сушу.

Участие сигналинга цитокининов в регуляции ростовых процессов эволюционно древних растений было продемонстрировано на примере хвощей, которые появились в девоне палеозойской эры и достигли расцвета в каменноугольном периоде и практически все вымерли до начала мезозойской эры [19]. В настоящее время отдел хвощеподобных представлен одним родом Хвощ, который насчитывает 25 видов, выживших в течение 300 миллионов лет. В листьях хвоща вида *Equisetum arvense* L. были найдены изопентениладензин и изопентениладенин. В весенних генеративных побегах были также идентифицированы зеатин, зеатинрибозид, зеатин-о-глюкозид в высоких концентрациях. Наиболее значительные количества зеатиновых цитокининов были идентифицированы в корневище. Авторы допускают, что уменьшение размеров хвощей в процессе эволюции обусловлено мутациями, которые привели к доминированию гена *ZOG*, кодирующего фермент о-глюкозилтрансферазу и катализирующего образование о-глюкозидов цитокининов, повышением содержания связанных форм цитокининов.

Исследования последних десятилетий продемонстрировали, что взаимодействие цитокининового и ауксинового сигналинга является ключевым и наиболее древним звеном в контроле роста и развития растений [20]. Главной сигнальной и регуляторной молекулой в процессах формирования побегов и корней считают N⁶-аденин. Изопентениладенин, транс-зеатин и дегидрозеатин относятся к главным цитокининам растений, активность которых контролируется балансом их синтеза и катаболизма. Скорость лимитирующим шагом

биосинтеза цитокининов у *Arabidopsis* является АТФ/АДФ-изопентенилтрансфераза (IPT). Изучение экспрессии генов семейства IPT свидетельствует, что цитокинины продуцируются в разных частях растений, включая корни, побеги, созревающие семена. Необратимая деградация цитокининов осуществляется цитокининовой оксидазой/дегидрогеназой. Цитокинины в качестве основной формы транспортной РНК (tRNK) встречаются у большинства организмов, а изопентениловый тип цитокининов считают наиболее распространенным. Однако в растениях встречаются также производные аденина [21]. Пространственный образец экспрессии генов, контролирующих метаболизм цитокининов, неравномерный тип распределения в проводящей транспортной системе позволяют полагать, что они действуют как локальные и дальние сигналы и медиаторы. Ответ на цитокинины формируется посредством двухкомпонентного сигнального пути, в котором задействованы в качестве трансмембранных рецепторов гистидинкиназы АНК2, АНК5, АУК4/WOL1/CRE1. Они передают сигнал посредством фосфорилирования к ядру, активируют два класса регуляторов ARR_s типа А и В. Тип В ARR_s индуцирует экспрессию генов первичного ответа на цитокинин. Рецепторы АНК4/CRE1 и АНР6 у *Arabidopsis* контролируют развитие проводящей системы стеблей и листьев, АНК3 – листа, АНК3/ARR1 – размеры корневой меристемы и скорость дифференциации клеток корня [20]. Цитокининовый сигналинг по двухкомпонентному пути идентифицирован также у бактерий и грибов,

что свидетельствует о его эволюционной древности.

Ауксины контролируют биосинтез цитокининов путем активации транскрипции гена SHY2, продукт которого также регулирует транспорт ауксина. Цитокинины и ауксины взаимодействуют как антагонисты в процессах развития корня, стебля и эмбриона растений, однако способны однонаправленно влиять на экспрессию многих генов, обслуживающих движение клеток по митотическому циклу [22].

Выводы

Сигнальная сеть растений сложна и разнообразна и не ограничивается участием какой-либо одной группы регуляторов. В формировании сигнальных растений в процессе эволюции принимали активное участие фитогормоны ауксины, цитокинины, стриголактоны, а также малые некодирующие РНК. Они тесно взаимодействуют между собой в контроле процессов морфогенеза, образования корней, листьев, проводящей системы. Эволюционная древность сигнальных систем фитогормонов подтверждена исследованием различных биологических объектов и идентификацией компонентов транспорта и акцепторов, экспрессии генов первичного ответа на фитогормоны. В сигнальной сети тесно взаимодействует множество компонентов различной природы, однако их роль в процессе эволюции все еще изучена слабо, полученные результаты фрагментарны и порой противоречивы. Интерес к этой проблеме продолжает возрастать, и обусловлен необходимостью сохранения биоразнообразия планеты для будущих поколений.

Литература

1. Barajas-Lopez Ide D., Blanco N.E., Strand A. Plastid-to nucleus communication, signals controlling the running of the plant cell // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2013. – 1833, N 2. – P. 425–437.
2. Lau S., Shao N., Bock R., Jurgens G., Smet I. Auxin signaling in algae lineages: fact or myth? // *Trends Plant Sci.* – 2009. – 14, N 4. – P. 182–188.
3. Медведев С.С. Механизмы формирования и физиологическая роль полярности в растениях // *Физиол. раст.* – 2012. – 59, N 4. – С. 543–556.
4. Чуб В.В., Синюшин Ф.Ф. Фасциация цветка и побега: от феноменологии к построению моделей преобразования апикальной меристемы // *Физиол. раст.* – 2012. – 59, N 4. – С. 574–590.
5. Zhu R., Li X., Chen Q. Discovering numerical laws of plant microRNA by evolution // *Biochim. Biophys. Acta Res. Commun.* – 2011. – 415, N 2. – P. 313–318.
6. Zhu R., Li X., Chen Q. Discovering numerical laws of plant of plant microRNA by evolution // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 2011. – 415, N 2. – P. 313–318.
7. Guleria P., Mahajan M., Bhardwaj J., Yadav S.K. Plant small RNAs: biogenesis mode of action and their roles in abiotic stresses // *Genomic, Proteomics, Bioinf.* – 2011. – 9, N 6. – P. 183–199.
8. Chen H.-M., Chen L.-T., Patel K., Li Y.-H., Baulcombe D.C., Wu S.-H. 22-Nucleotide RNAs trigger secondary siRNA biogenesis in plant // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010. – 107. – P. 15269–15274.
9. Vernoux F., Kronenberger J., Greandjean O., Laufs P., Traas J. PIN-FORMED 1 regulates cell fate at the periphery of the shoot apical meristem // *Development.* – 2000. – 127. – P. 5157–5165.

10. Mayer K.F.X., Schoof H., Haecker A, Lenhard H., Jurgens G., Laux T. Role of WUSCHEL in regulating stem cell fate in the Arabidopsis shoot meristem // *Cell*. – 1998. – 95. – P. 805–815.
11. Dun E.A., de Saint Germain A., Rameau C., Beveridge C.A. Antagonistic action of strigolactone and cytokinin in bud outgrowth control // *Plant Physiol*. – 2012. – 158, N 1. – P. 487–498.
12. Rasmussen A., Mason M.G., De Cuyper C., Brewer P.B., Herold S., Agusti J., Geelen D., Greb T., Goormachtig S., Beekman T. Strigolactones suppress adventitious rooting in Arabidopsis and pea // *Plant Physiol*. – 2012. – 158, N 4. – P. 1976–1987.
13. Aldes A., Januel M., Marzorati M., Bruno M., Vermathen M., Bigler P., Chisla S., Bouwmeester H., Beyer P., Al-Babili S. The path from β -carotene to carlactone, a strigolactone-like plant hormone // *Science*. – 2012. – 335, N 6074. – P. 1348–1351.
14. Braun N., de Saint G.A., Pillot J.-P., Boutet-Mercey S., Dalmais M., Antoniadis I., Li X., Maia-Grondard A., Le Signor Ch., Bouteiller N. The pea TCP transcription factor P₅BRC1 acts downstream of strigolactones to control shoot branching // *Plant Physiol*. – 2012. – 158, N 1. – P. 225–238.
15. Guan J.Ch., Koch K.E., Suzuki M., Wu S., Labshaw S., Petrucci T., Goulet Ch., Klee H.J., McCarty D.K. Diverse roles of strigolactone signaling in maize architecture and the uncoupling of a branching-specific subnetwork // *Plant Physiol*. – 2012. – 160, N 3. – P. 1303–1317.
16. Mayzlish-Gati E., De-Cuyper C., Goormachtig S., Beekman T., Vuylsteke M., Brewer Ph., Beveridge Ch.A., Yermiyahu Uri, Kaplan Y. Strigolactones are involved in root response to low phosphate conditions in Arabidopsis // *Plant Physiol*. – 2012. – 160, N 3. – P. 1329–1341.
17. Kapulnik V., Delaux P.-M., Resnick N., Mayzlish-Gati E., Wininger S., Bhattacharya Ch., Sejalon-Delmas N., Combier J.-P., Becard G., Belauson E., Beekman E. Strigolactones affect lateral root formation and root-hair elongation in Arabidopsis // *Planta*. – 2011. – 233, N 1. – P. 209–216.
18. Foo E. Auxin influences strigolactones in pea mycorrhizal symbiosis // *J. Plant Physiol*. – 2013. – 170, N 5. – P. 523–528.
19. Веденичова Н.П., Ситник К.М. Локалізація і динаміка цитокінінів у різних частинах рослин *Equisetum arvense* L. // *Доп. НАН України*. – 2013. – N 11. – С. 150–157.
20. Moubayidin L., Mambro R.D., Sabatini S. Cytokinin-auxin crosstalk // *Trend. Plant Sci*. – 2009. – 14, N 10. – P. 557–562.
21. Haber G., Kieber J.J. Cytokinins. New insights into classic phytohormones // *Plant Physiol*. – 2002. – 128. – P. 354–362.
22. Новикова Т.В., Носов А.В., Степанченко Н.С., Фоменков Ф.Ф., Мамаева Ф.С., Мошков І.Е. Пролиферація кліток рослин і її регулятори // *Физиол. раст.* – 2013. – 60, N 4. – С. 529–536.

ZHUK O.I.

*Institute of Plant Physiology and Genetics NAS Ukraine,
Ukraine, 03022, Kiev, Vasylykivska str., 31/17, e-mail: zhuk_bas@voliacable.com*

THE EVOLUTION OF PLANT SIGNAL PHYTOGORMONAL SYSTEMS

Aims. Aim of this work was to examine the evolutionary formation of signaling systems phytohormones – auxin, cytokinins and strigolactones that have been identified in algae, microorganisms, fungi, plants.

Methods. The evolution of signaling systems was conducted using mutants that allowed the identification of individual components of the signaling cascade and the interaction of plant hormones in the regulation of morphogenesis, stress response. **Results.** Receptor protein TIR1-AFB, AUX-IAA repressor and transcription factor ARF play key role in auxin signaling. Auxin signaling system interacts directly with the signaling network of micro RNA (mi RNA) in monitoring the functioning of the shoot apical meristem of plants, leaf primordia formation process. Auxin signal strongly correlates with the expression of the gene WUS (WUSCHEL) of subfamily WOX. Strigolactones and cytokinins also participate in the control processes of morphogenesis in plants. Strigolactones and cytokinins are characterized by the general structure of the two lactones and are derived from carotenoids. **Conclusions.** Investigations of recent decades have demonstrated that the interaction between cytokinin and auxin signaling is the key and the most ancient bridge in the control of plant growth and development.

Key words: signal systems, phytohormones, evolution.