

УДК 581.1:577.171.54

ВЛИЯНИЕ АНТИЦИТОСКЕЛЕТНОГО И МЕМБРАНОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА РАСТЕНИЯ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ

М.А. Бочкарева, М.А. Чепуренкова, Л.П. Хохлова

Аннотация

Исследовали зависимость проницаемости мембран и водоудерживающей способности корней незакаленных и закаленных к холоду (3 °С, 3 сут) проростков разных по морозоустойчивости сортов озимой пшеницы (*Triticum aestivum*) от состояния мембрано-цитоскелетного комплекса. Модификацию комплекса осуществляли с использованием мембранотропных препаратов, изменяющих текучесть мембран – диметилсульфоксида (ДМСО, 2%) и бензилового спирта (БС, 0.2%), а также специфического ингибитора полимеризации растительных тубулиновых белков – оризалина (3,5-динитро- N^4, N^4 -дипропилсульфониламида) (10 мкМ). Исследуемые агенты увеличивали выход электролитов из тканей корней проростков пшеницы всех сортов как до, так и после закаливания, что указывает на повышение проницаемости мембран. Деструкция тубулинового цитоскелета в большей степени индуцировала экзосмос электролитов из тканей закаленных растений, чем изменение текучести мембран. При совместной обработке растений оризалином с БС (или ДМСО) выявлено взаимоусиливающее их действие на проницаемость мембран по сравнению с влиянием этих препаратов по отдельности. В опытах с оризалином и БС синергетический эффект прямо коррелировал с уровнем морозоустойчивости растений, однако, после закаливания был менее выраженным. На водоудерживающую способность корней и деструктор цитоскелета, и БС влияли однонаправленно, снижая этот показатель, а ДМСО, напротив, повышал его. Закаливание в основном уменьшало действие БС, ДМСО и оризалина на водоудерживающую способность тканей. Сделано заключение, что вклад отдельных составляющих мембрано-цитоскелетного комплекса в проницаемость мембран зависит от физиологического состояния растений. В норме доминирует влияние текучести мембран, а после низкотемпературной адаптации растений – влияние структурной целостности цитоскелета.

Ключевые слова: проницаемость мембран, мембрано-цитоскелетный комплекс, состояние и транспорт воды, *Triticum aestivum*.

Введение

При изменении внешних условий клетка перестраивает функциональную активность всех своих структур, причем значительную роль в формировании адекватных реакций на экзогенные факторы отводят мембрано-цитоскелетному комплексу, включающему взаимодействия цитоскелета с плазмалеммой и эндомембранами [1–3]. Цитоскелет, состоящий из микротрубочек (МТ), актиновых (МФ) и промежуточных филаментов (ПФ), взаимосвязанных между собой и с другими компонентами клетки, играет важную роль в интеграции метаболизма и его субклеточной организации [4]. Известно, что МТ с плазматической

мембраной могут взаимодействовать как с участием специальных белков-посредников [5], так и непосредственно [6], и это сопровождается стабилизирующим эффектом на МТ [5, 7]. Имеются данные о контактах цитоскелета с локализованными в мембранах Ca^{2+} - и K^{+} -каналами [8, 9]. Кроме того, цитоскелетные компоненты могут влиять на активность аквапориновых водных каналов [10], способствующих движению воды через мембрану согласно градиенту водного потенциала.

Текучесть мембран считается важной детерминантой клеточного метаболизма. Клеточные мембраны быстро и обратимо реагируют на экзогенные воздействия, в частности температурные изменения через усиление (повышение температуры) или уменьшение (снижение температуры) текучности [11], что может быть триггером, запускающим трансдукцию сигналов и способствующим тем самым адаптации растений [11–13]. На суспензионной культуре клеток люцерны было показано, что действие на растения высоких температур ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$) можно имитировать обработкой бензиловым спиртом (БС), усиливающим текучесть мембран, а действие низких температур ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) – диметилсульфоксидом (ДМСО), увеличивающим их жесткость [12, 13]. При этом значительную роль в температурной чувствительности, наряду с ионами Ca^{2+} , авторы отводят цитоскелетным структурам.

Адекватная реакция клеток растений на действие холода тесно связана с регуляцией водного обмена [14], интегральным физиологическим показателем которого является водоудерживающая способность. Повышение водоудерживающей способности в процессе низкотемпературного закаливания способствует защите тканей озимых злаков от обезвоживания при морозном стрессе [15]. Значительный вклад в эту величину, наряду с осмотическим и тургорным потенциалами, вносит матричный водный потенциал, обусловленный процессами гидратации мембран и биополимеров [16], и в частности цитоскелетных структур, обладающих большой поверхностью связывания с водой [17]. Ранее нами было установлено, что ингибиторы полимеризации тубулиновых и актиновых белков снижают водоудерживающую способность тканей проростков озимой пшеницы предположительно из-за усиления процессов дегидратации цитоскелета и повышения водопроницаемости мембран [18].

Несмотря на то что многое известно о структурных и функциональных контактах цитоскелета и мембран, тем не менее недостаточно изученным является вопрос о влиянии этих взаимодействий на свойства мембран и их генотипическую зависимость в связи с адаптацией растений к изменяющимся условиям среды. С учетом сказанного цель настоящей работы заключалась в выяснении влияния направленной модификации мембрано-цитоскелетного комплекса, обусловленной изменением текучности мембран и реорганизацией цитоскелета, на проницаемость мембран для электролитов и воды растений озимой пшеницы разных генотипов при закаливании низкими температурами.

1. Материалы и методы исследования

Объектом исследований служили корни проростков трех отличающихся по морозоустойчивости сортов озимой пшеницы (*Triticum aestivum*): Безостой 1 – маломорозоустойчивого, Мироновской 808 – среднеморозоустойчивого и Аль-

бидум 114 – высокоморозоустойчивого. Растения выращивали в лабораторных условиях в течение 7 сут в кюветах на водопроводной воде при 23 °С, освещенности 100 Вт/м² и 12-часовом фотопериоде. В 7-суточном возрасте часть проростков закачивали 3 сут при 3 ± 1 °С в термокамере ONEGA (Россия).

Модификацию цитоскелета *in situ* осуществляли с помощью высокоспецифического для растительных клеток антимиотического препарата – оризалина (3,5-динитро-*N*⁴,*N*⁴-дипропилсульфониламида), относящегося к динитроанилиновым гербицидам [19]. Навеску оризалина растворяли в небольшом количестве метанола и разбавляли бидистиллированной водой до получения концентрации 10 мкМ. Конечная концентрация метанола в растворе оризалина составляла 0.02%.

В качестве мембранотропных препаратов использовали диметилсульфоксид (ДМСО, 2%), повышающий вязкость клеточных мембран, и бензиловый спирт – фенилпропанол (БС, 0.2%), усиливающий их текучесть [12, 13]. В растворы этих препаратов и в контрольный вариант (бидистиллированная вода) также добавляли метанол (0.02%). При анализе совместного действия антицитоскелетного и мембранотропных агентов к 2%-ному раствору ДМСО или к 0.2%-ному раствору БС добавляли соответствующую аликвоту оризалина (10 мкМ).

Очищенные от эндосперма и промытые водопроводной водой пучки проростков с отсеченной надземной частью (оставляли 2–3 см побега) инкубировали в течение 3 ч в растворах оризалина, БС или ДМСО отдельно и совместно с оризалином. Для опытов брали корни, отделенные от оставшейся надземной части.

Проницаемость мембран для электролитов контролировали по их экзосмосу из тканей путем определения кондуктометрическим методом электропроводности (ЭП) водных вытяжек, которые получали, помещая навеску корней (0.25 г) в колбу с 25 мл бидистиллированной воды и перемешивая в течение 2 ч на ротаторе. ЭП выражали в процентах от полного выхода электролитов из убитых кипячением тканей (100 °С, 30 мин) [20].

В качестве показателя водоудерживающей способности использовали содержание воды, оставшейся в корнях после их инкубации в течение 1.5 ч в гипертоническом 20%-ном растворе полиэтиленгликоля-600 (ПЭГ-6000) с осмотическим потенциалом равным –0.65 МПа. Количество этой воды определяли по разнице между общим содержанием воды в навеске и количеством отнятой воды. Для расчета извлекаемой из ткани воды использовали измеренный на рефрактометре ИРФ-454Б (Россия) показатель преломления растворов ПЭГ-6000 [18].

На рис. 1, 2 представлены средние арифметические значения трех биологических опытов и их стандартные ошибки. Аналитическая повторность каждого опыта была 4-кратной.

2. Результаты и их обсуждение

Изменение проницаемости мембран, тестируемое по выходу электролитов из тканей, является одним из интегральных показателей их структурно-функционального состояния [20]. Из рис. 1 и 2 видно, что для контрольных вариантов незакаленных растений прослеживается некоторое снижение выхода электролитов из тканей корней в ряду Безостая 1 → Мироновская 808 → Альбидум 114, что указывает на обратную зависимость между проницаемостью мембран и морозоустойчивостью растений.

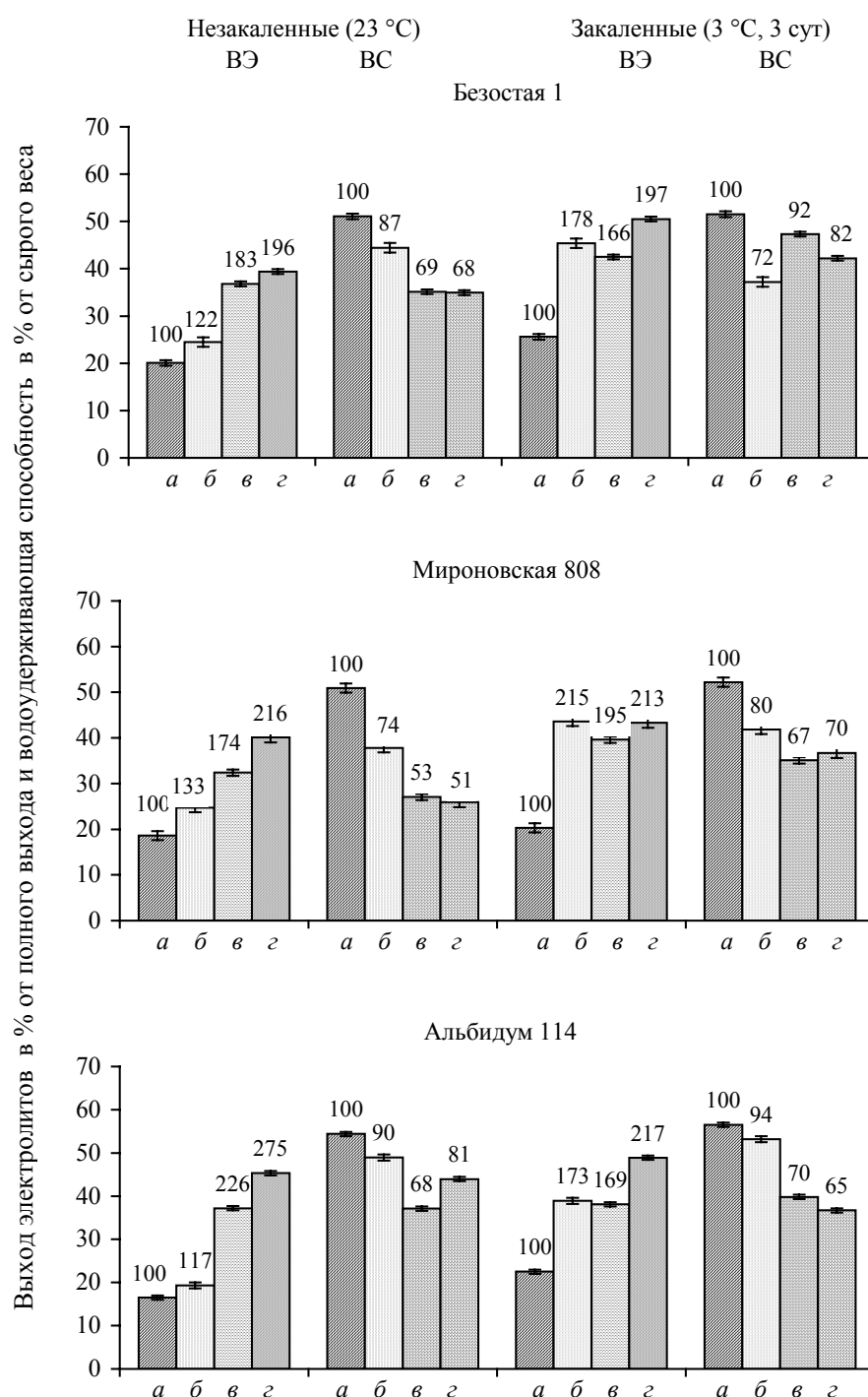


Рис. 1. Влияние оризалина и БС на выход электролитов (ВЭ) и водоудерживающую способность (BC) тканей корней незакаленных и закаленных проростков разных сортов озимой пшеницы: а – контроль; б – оризалин (10 мкМ); в – БС (0.2%); г – БС (0.2%) + оризалин (10 мкМ). Приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки; цифры над столбиками соответствуют значениям ВЭ и BC в процентах от контроля

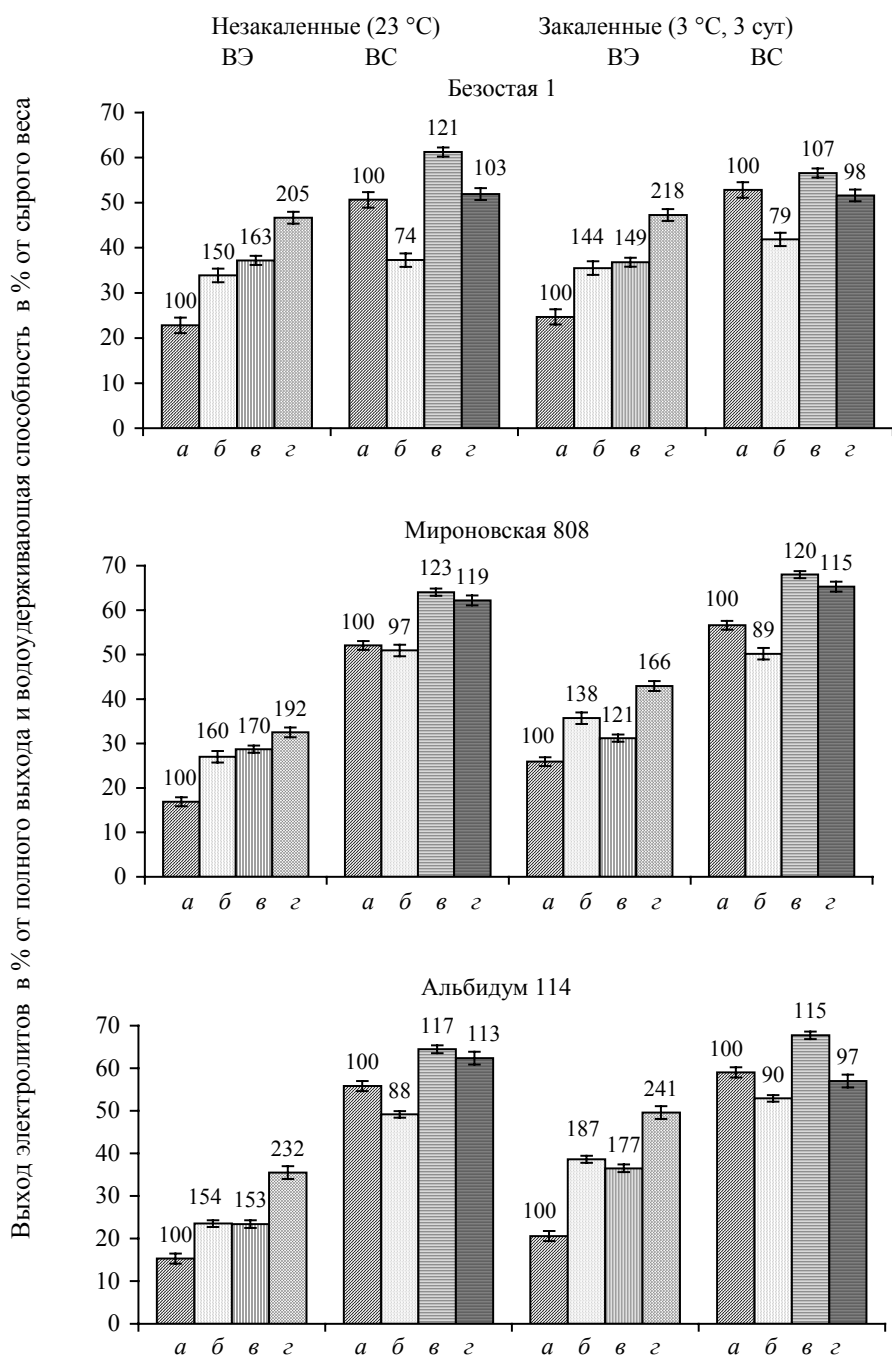


Рис. 2. Влияние оризалина и ДМСО на выход электролитов (ВЭ) и водоудерживающую способность (ВС) тканей корней незакаленных и закаленных проростков разных сортов озимой пшеницы: *а* – контроль; *б* – оризалин (10 мкМ); *в* – ДМСО (2%); *г* – ДМСО (2%) + оризалин (10 мкМ). Приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки; цифры над столбиками соответствуют значениям ВЭ и ВС в процентах от контроля

Обработка незакаленных проростков оризалином усиливала по сравнению с контролем выход электролитов из тканей корней озимой пшеницы всех исследуемых сортов. Это свидетельствует об оризалин-индуцированном повышении проницаемости мембран (рис. 1, 2). Оризалин, являясь ингибитором полимеризации тубулиновых белков, широко используется в фармакологических исследованиях МТ растений. Этот препарат быстро и с высокой константой средства связывается с димером тубулина, образуя тубулин-оризалиновый комплекс, который, в свою очередь, препятствует полимеризации новых МТ. Помимо этого оризалин может отщеплять тубулиновые димеры как с «+», так и с «-» конца уже полимеризованных МТ и вызывать их разборку [19]. Согласно современным представлениям первичные ответные реакции растительных клеток на экзогенные воздействия возникают в плазматической мембране [11, 21]. Модификация последней тесно связана с изменениями в цитоплазматическом матриксе, который образован цитоскелетом, ассоциированными с ним белками и структурами, связывающими цитоскелет с мембранами. Структурные перестройки цитоскелета модифицируют проницаемость мембран через изменение подвижности мембранных белков и их способности к агрегации [22]. Кроме того, цитоскелет участвует в регуляции работы ионных каналов плазмалеммы, в частности Ca^{2+} - и K^{+} -каналов [8, 9]. В связи с этим возможной причиной повышения проницаемости мембран при действии оризалина может быть изменение активности ионных каналов вследствие нарушений цитоскелет-мембранных контактов, обусловленных деструкцией кортикальных МТ. Сильнее всего оризалин увеличивал экзосмос электролитов из корней незакаленных проростков Мироновской 808, в клетках которых, как установлено [23], содержание тубулиновых белков выше, чем у двух других сортов, и, соответственно, больше мишеней для антицитоскелетного препарата.

При действии БС проницаемость мембран для электролитов у незакаленных растений также увеличивалась, причем в большей степени по сравнению с таковой «оризалинового» варианта (рис. 1). Поскольку плазмалемма обладает наименьшей среди мембран текучестью [21], то в нашем случае более значительное по сравнению с деструктором цитоскелета увеличение экзосмоса электролитов под влиянием мембранного «разжижителя» представляется закономерным следствием индуцированного данным агентом усиления текучести мембран [13] и, значит, их проницаемости. Как видно из рис. 1, наименьший эффект по сравнению с контролем и другими сортами препарат оказал на незакаленные проростки Мироновской 808 и Безостой 1 и наибольший – на Альбидум 114. Известно, что у более устойчивых сортов в норме (то есть без закаливания) мембраны являются более вязкими, а у менее устойчивых, наоборот, более текучими [24]. Таким образом, преобладающее действие БС на Альбидум 114 объясняется тем, что, усиливая изначально невысокую текучесть мембран клеток корней незакаленных проростков этого сорта, «разжижитель» мембран в большей мере повышает их проницаемость. Вероятно, на мембраны с меньшей текучестью БС действует сильнее, чем на мембраны с большей текучестью.

ДМСО, аналогично оризалину и БС, также увеличивал выход электролитов из тканей незакаленных растений (рис. 2) и, следовательно, повышал мембранную проницаемость, однако слабее, чем БС. Усиление экзосмоса электролитов

под влиянием ДМСО является неожиданным, поскольку этот препарат уменьшает текучесть мембран [12, 13] и, казалось бы, должен снижать их проницаемость. В связи с этим можно высказать предположение о том, что индуцированное ДМСО увеличение жесткости мембран сопровождается формированием белково-липидных доменов с нарушенной мембранной структурой (происходит так называемое «комкование» мембраны). Это, в свою очередь, может вызвать образование дополнительных «дефектных» пор, способствующих повышению мембранной проницаемости, отражением чего и является отмеченное в опытах увеличение экзосмоса электролитов. Влияние «затвердителя» мембран на выход электролитов из тканей незакаленных растений было выражено сильнее среди всех сортов у Мироновской 808 и слабее – у Альбидум 114 по сравнению с контролем.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что увеличению проницаемости мембран незакаленных растений в большей мере способствует усиление текучести мембран (БС), чем повышение их вязкости (ДМСО) или деструкция цитоскелета (оризалин).

При совместной обработке проростков оризалином с БС или ДМСО проницаемость мембран усиливалась, превышая в большинстве случаев действие каждого из этих препаратов по отдельности (рис. 1, 2), что свидетельствует о синергетическом характере влияния данных агентов. Синергизм оризалина с мембранотропными препаратами вполне понятен, поскольку направленность действия каждого из них является одинаковой (в сторону повышения проницаемости мембран).

При совместном действии БС с оризалином у незакаленных растений наблюдалось усиление синергетического эффекта исследуемых препаратов по мере повышения морозоустойчивости сорта. В связи с этим можно предположить, что более высокая степень синергетики действия БС и оризалина на проницаемость мембран может служить диагностическим критерием морозоустойчивости растений.

У обработанных ДМСО с оризалином корней незакаленных растений взаимоусиливающий эффект препаратов на выход электролитов возрастал в ряду Мироновская 808 → Безостая 1 → Альбидум 114. Из этого следует, что наибольшей чувствительностью экзосмоса электролитов к одновременной модификации цитоскелета и текучести мембран (как в сторону усиления, так и уменьшения) характеризуются корни незакаленных проростков Альбидум 114. Это указывает на высокую лабильность и отзывчивость мембран данного сорта к исследуемым препаратам.

На фоне гипотермии (рис. 1, 2) экзосмос электролитов из тканей проростков контрольных вариантов незначительно, но достоверно усиливался, то есть проницаемость мембран несколько повышалась в отличие от таковой незакаленных растений, однако такой сортоспецифичности ее изменения, какая была выявлена до закаливания, обнаружено не было.

Влияние оризалина на проницаемость мембран корней закаленных проростков в основном усиливалось у разных сортов с неодинаковой степенью, что выразилось в повышении экзосмоса электролитов из тканей по сравнению с незакаленными растениями. В клетках корней холодозакаленных проростков формируется плотная интенсивно флуоресцирующая сеть высоко агрегированных тубулиновых структур, иммуновизуализирующихся в виде толстых пучков

МТ [23]. Наличие таких стабилизированных пучков МТ может способствовать образованию более прочных контактов цитоскелета с плазмалеммой, и их разрушение под действием оризалина приведет к повышению степени повреждения и, значит, проницаемости мембран по сравнению с незакаленными растениями.

Низкие температуры в большинстве опытов ослабляли действие мембранотропных препаратов на экзосмос электролитов из тканей, в отличие от вариантов до закаливания и с оризалином. Так, восприимчивость к БС на фоне гипотермии снижалась у Безостой 1 и Альбидум 114, но несколько увеличивалась у Мироновской 808 по сравнению с незакаленными проростками (рис. 1). Под влиянием ДМСО у Мироновской 808 и Безостой 1 выход электролитов из корней закаленных растений происходил в меньшей степени, а у Альбидум 114 – в большей, чем до гипотермии (рис. 2). У проростков маломорозоустойчивого сорта на фоне закаливания снижалась чувствительность мембран как к БС, так и к ДМСО.

Из полученных результатов следует, что после низкотемпературного закаливания сильнее влиял на экзосмос электролитов оризалин, а не мембранотропные агенты. Таким образом, разрушение тубулинового цитоскелета в большей мере усиливает мембранную проницаемость корней закаленных проростков, чем повышение текучести мембран. Можно заключить, что вклад разных механизмов, регулирующих проницаемость мембран незакаленных и закаленных растений, различен и сортоспецифичен.

При одновременной обработке проростков БС с оризалином на фоне гипотермии так же, как и у незакаленных растений, отмечен синергизм их действия, наибольший – у Альбидум 114 и наименьший – у Безостой 1, однако менее выраженный, чем до закаливания. Последнее, возможно, объясняется формированием в адаптирующихся к холоду клетках более стабильного мембрано-цитоскелетного комплекса, меньше реагирующего на факторы, усиливающие проницаемость мембран (деструкцию цитоскелета и повышение мембранной текучести).

Совместный эффект ДМСО с оризалином на выход электролитов из холодозакаленных проростков в основном был выше, чем до закаливания (рис. 2).

При исследовании водообмена корней по величине водоудерживающей способности установлено, что у незакаленных растений контрольных вариантов способность корней удерживать воду увеличивалась в направлении от малок высокоморозоустойчивому сорту, что говорит о прямой связи морозоустойчивости проростков с водоудерживающей способностью.

Влияние оризалина на водообмен корней незакаленных растений проявилось в усилении выхода воды из тканей, то есть в снижении водоудерживающей способности. Одной из причин такого ответа, по-видимому, является изменение состояния клеточной воды, а именно повышение водного потенциала в связи с дегидратационными процессами как филаментов цитоскелета, создающих в цитоплазме вследствие своей сильной разветвленности большую гидрофильную поверхность [17], так и связанных с ними клеточных структур. Другим не менее важным фактором, приводящим к уменьшению водоудерживающей способности может быть также усиление водопроницаемости мембран, происходящее в результате структурной реорганизации аквапориновых водных каналов из-за нарушения цитоскелет-мембранных взаимодействий и/или везикулярного транспорта и процессов эндоцитоза [18].

БС, так же как и оризалин, стимулировал выход воды из тканей, то есть уменьшал водоудерживающую способность. При этом по аналогии с проницаемостью мембран эффект мембранотропного препарата на водоудерживающую способность незакаленных растений был значительно больше, чем оризалина (рис. 1). Отсюда можно заключить, что у незакаленных проростков индукция текучести мембран при действии БС оказывает на их водопроницаемость более сильное влияние, чем вызываемое оризалином разрушение тубулиновой сети. Возможно, снижение водоудерживающей способности связано с тем, что БС, повышая текучесть мембран и активируя тем самым аквапорины, а также процессы экзо- и эндоцитоза, усиливает трансмембранный перенос воды, что и отражается в увеличении выхода ее из клеток.

Обработка ДМСО корней незакаленных растений приводила к повышению водоудерживающей способности относительно контроля у всех трех сортов (рис. 2). Сравнивая действие оризалина и ДМСО, следует отметить, что эти препараты оказывали противоположное влияние, снижая или увеличивая водоудерживающую способность соответственно. Известно, что ДМСО является фактором, имитирующим влияние низких температур и способным стабилизировать кортикальные МТ у высших растений, вызывая полимеризацию тубулина [12, 25]. В наших опытах этот препарат, вероятно, стабилизируя цитоскелет, усиливал связывание воды, что проявилось в снижении извлекаемости ее из клеток корней и, соответственно, в повышении водоудерживающей способности. При этом нельзя исключить и возможность прямого стабилизирующего действия ДМСО как мембранотропного агента, увеличивающего жесткость мембран, на снижение функциональной активности аквапоринов плазмалеммы в результате их структурной перестройки и/или замедления секреторных процессов. Такое же влияние на водные каналы этот препарат мог оказать косвенным путем, модифицируя кортикальный цитоскелет. Следовательно, индуцированное ДМСО замедление мембранного переноса воды может быть еще одной из причин наблюдаемого в опытах возрастания водоудерживающей способности корней. Отметим, что, как и в случае проницаемости мембран, наибольшей чувствительностью водоудерживающей способности к действию ДМСО отличались корни незакаленных растений Мироновской 808 и Безостой 1, а наименьшей – Альбидум 114.

Двойная обработка оризалином и ДМСО (рис. 2) увеличивала водоудерживающую способность корней незакаленных растений относительно варианта с одним лишь оризалином, но уменьшала по сравнению с ДМСО у всех трех сортов.

На фоне гипотермии направленность действия оризалина на водообмен сохранялась, то есть водоудерживающая способность снижалась относительно контроля, и в то же время по сравнению с незакаленными проростками, антицитоскелетный препарат в основном оказывал меньший эффект. Более низкая чувствительность водоудерживающей способности корней закаленных проростков к действию оризалина может быть следствием повышения холодостойкости тубулинового цитоскелета за счет появления в клетках озимой пшеницы более холодостойких популяций МТ [26] и/или включения ряда стабилизирующих механизмов, к которым относят усиление взаимодействий МТ с мембранами [27] и, возможно, с защитными белками, а также изменение состава изотипов тубулиновых белков [26].

У закаленных растений отмечено снижение восприимчивости водоудерживающей способности к БС по сравнению с незакаленными (рис. 1). Менее значительно из всех сортов БС действовал на водоудерживающую способность закаленных проростков Безостой 1, то есть исследуемый показатель водообмена уменьшался в меньшей степени. Влияние ДМСО на фоне гипотермии также было выражено слабее, чем до закаливания, лишь у Безостой 1 (рис. 2).

На фоне закаливания взаимоослабляющее действие ДМСО и оризалина на водоудерживающую способность уменьшалось в ряду мало- → высоко- → среднеморозоустойчивый сорт.

Таким образом, в норме (без холодового закаливания) между проницаемостью мембран и морозоустойчивостью сорта обнаружена прямая зависимость. В основном антицитоскелетный (оризалин) и мембранотропные препараты (БС и ДМСО) сходным образом влияли на проницаемость мембран, усиливая выход электролитов из тканей корней. Различия проявились в разной степени повышения проницаемости мембран под действием этих агентов до и после гипотермии. У незакаленных проростков экзосмос электролитов из тканей усиливался в большей мере вследствие модификации текучести мембран, а у закаленных – в результате оризалин-индуцированной деструкции цитоскелета, и эти изменения носили сортоспецифический характер. Выход воды из тканей незакаленных проростков, как и экзосмос электролитов, также сильнее возрастал под влиянием БС по сравнению с оризалином. ДМСО оказывал прямопротивоположный эффект, повышая этот параметр. На фоне гипотермии чувствительность водоудерживающей способности к антицитоскелетному и мембранотропным препаратам в основном снижалась. На примере действия ДМСО, проявившемся в усилении экзосмоса электролитов из тканей, но снижении выхода воды, сделан вывод о существовании разных путей регуляции транспорта ионов и воды.

Вся совокупность полученных результатов позволяет заключить, что вклад разных механизмов в проницаемость мембран определяется физиологическим состоянием растений. У адаптированных к низким температурам растений доминирующим фактором является структурная целостность цитоскелета, а в норме – текучесть мембран.

Summary

M.A. Bochkareva, M.A. Chepurenkova, L.P. Khokhlova. The Effect of Anti-Cytoskeletal and Membrane Modulators on Winter Wheat Plants of Different Genotypes.

The dependence of membrane permeability and water-holding capacity in the roots of non-hardened and cold-hardened (3 °C, 3 days) winter wheat (*Triticum aestivum*) seedlings of different frost resistance on the state of the membrane-cytoskeleton complex was investigated. The complex was modified using the membrane fluidity modulators – dimethylsulfoxide (DMSO, 2%) and benzyl alcohol (BA, 0.2%), and a specific inhibitor of plant tubulin protein polymerization – oryzalin (10 mkM). These agents increased the electrolyte leakage from the seedling root tissues in all wheat cultivars both before and after their acclimation, which indicated the rise of the membrane permeability. The destruction of tubulin cytoskeleton was more effective for the electrolyte exoosmosis of the cold-hardened plant tissues, than the modification of the membrane fluidity. The joint treatment of the plants with oryzalin and BA (or DMSO) intensified their actions on the membrane permeability compared with the effects of these agents separately. In the experiments with oryzalin and BA, synergism correlated

directly with the level of frost resistance of the plants, whereas it was less expressed after hardening. Both the cytoskeleton destructor and BA decreased water-holding capacity of the roots, unlike DMSO, which, on the contrary, increased it. Cold-hardening generally reduced the effects of BA, DMSO and oryzalin on the water-holding capacity of the tissues. We assume that contribution of the individual components of the membrane-cytoskeleton complex to the membrane permeability depends on the physiological state of plants. In standard conditions, the effect of membrane fluidity predominates, but after low-temperature adaptation of plants, the influence of the cytoskeleton structural integrity prevails.

Key words: membrane permeability, membrane-cytoskeleton complex, state and transport of water, *Triticum aestivum*.

Литература

1. *Медведев С.С., Маркова И.В.* Цитоскелет и полярность растений // Физиол. растений. – 1998. – Т. 45, № 2. – С. 185–197.
2. *Baluška F., Witsh M., Peters M., Hlaváček A., Volkmann D.* Mastoparon alters subcellular distribution of profiling and remodels F-actin cytoskeleton in cells of maize root apices // Plant Cell Physiol. – 2001. – V. 42. – P. 92–98.
3. *Baluška F., Samaj J., Wojtaszek P., Volkmann D., Menzel D.* Cytoskeleton-plasma membrane-cell wall continuum in plants. Emerging links revisited // Plant Physiol. – 2003. – V. 133. – P. 482–491.
4. *Baskin T.I.* The cytoskeleton // Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L. (eds.) Biochemistry and molecular biology of plants. – San Diego: Amer. Soc. of Plant Biologists, 2000. – P. 202–258.
5. *Akashi T., Shibaoka H.* Involvement of transmembrane proteins in association of cortical microtubules with the plasma membrane in tobacco BY-2 cells // J. Cell Sci. – 1991. – V. 98. – P. 169–174.
6. *Laporte K., Rossignol M., Traas I.A.* Interaction of tubulin with the plasma membrane: tubulin is present in purified plasmalemma and behaves as an integral membrane protein // Planta. – 1993. – V. 191. – P. 413–416.
7. *Baluška F., Parker J.S., Barlow P.W.* The microtubular cytoskeleton in cells of cold-treated roots of maize (*Zea mays* L.) shows tissue-specific responses // Protoplasma. – 1993. – V. 172. – P. 84–96.
8. *Thion L., Mazars C., Thuleau P., Graziana A., Rossignol M., Moreau M., Ranjeva R.* Activation of plasma membrane voltage-dependent calcium-permeable channels by disruption of microtubules in carrot cells // FEBS Lett. – 1996. – V. 393. – P. 13–18.
9. *Lee Y., Kim M., Hepler P.K., Eun J., Lee H.-P.* Microfilaments regulate stomatal movements via modulating K⁺ channel currents in guard cells // 10th Int. Workshop on Plant Membrane Biology. – Regensburg, Germany, 1995. – P. 117.
10. *Шанигузов А.Ю.* Аквапорины: строение, систематика и особенности регуляции // Физиол. растений. – 2004. – Т. 51, № 1. – С. 142–152.
11. *Murata N., Los D.A.* Membrane fluidity and temperature perception // Plant Physiol. – 1997. – V. 115. – P. 875–879.
12. *Örvar B.L., Sangwan V., Ömann F., Dhindsa R.S.* Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity // Plant J. – 2000. – V. 23. – P. 785–794.
13. *Sangwan V., Örvar B.L., Beyerly J., Hirt H.* Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP kinase pathways // Plant J. – 2002. – V. 31. – P. 629–638.

14. *Туманов М.М.* Физиология закаливания и морозостойкость растений. – М.: Наука, 1979. – 350 с.
15. *Хохлова Л.П., Елисеева Н.С., Скирда В.Д.* Изменение водоудерживающей способности в связи с проницаемостью мембран и состоянием воды в клетках озимых злаков при осеннем закаливании и действии оризалина // Зимостойкость сельскохозяйственных растений. – Харьков, 1991. – С. 146–160.
16. *Гусев Н.А., Киваева Л.С.* О физиологическом значении и современных методах исследования водообмена и состояния воды растений // Физиол. и биохимия культурных растений. – 1978. – Т. 10, № 1. – С. 3–17.
17. *Clegg J.S.* Intracellular water and cytomatrix: some methods of study and current views // J. Cell Biol. – 1984. – V. 99. – P. 167–171.
18. *Хохлова Л.П., Олиневич О.В., Тараканова Н.Ю., Тимофеева О.А.* Оризалин-индуцированные изменения водного статуса и цитоскелетные белки проростков озимой пшеницы при закаливании к холоду и действию АБК // Физиол. растений. – 2004. – Т. 51, № 5. – С. 759–772.
19. *Morejohn L.C.* The molecular pharmacology of plant tubulin and microtubules // Lloyd C.W. (ed.) The cytoskeletal basis of plant growth and form. – London: Acad. Press, 1991. – P. 29–43.
20. *Лукаткин А.С., Шаркаева Э.Ш., Зауралов О.А.* Динамика изменений экзосмоса электролитов из листьев кукурузы при различной интенсивности холодового стресса // Физиол. растений. – 1993. – Т. 40, № 5. – С. 770–775.
21. *Трунова Т.И.* Растение и низкотемпературный стресс. LXVI Тимирязевские чтения. – М.: Наука, 2007. – 54 с.
22. *Pearce R.S., Willison J.H.M.* A freezeatch study of cellular membranes of wheat // Planta. – 1985. – V. 163. – P. 304–316.
23. *Хохлова Л.П., Олиневич О.В.* Реорганизация цитоскелета в клетках *Triticum aestivum* при закаливании растений к холоду и действию абсцизовой кислоты // Физиол. растений. – 2003. – Т. 50, № 4. – С. 528–540.
24. *Vigh L., Horvath T., Farkas T., Horvath L.I.* Adaptation of membrane fluidity of rye and wheat seedling according to temperature // Photochem. – 1979. – V. 18. – P. 787–789.
25. *Himes R.H., Burton P.R., Gaito J.M.* Dimethylsulfoxide-induced self assembly of tubulin lacking associated proteins // J. Bio. Chem. – 1977. – V. 252. – P. 222–228.
26. *Abdrakhamanova A., Wang Q.Y., Khokhlova L., Nick P.* Is microtubule disassembly a trigger for cold acclimation? // Plant Cell Physiol. – 2003. – V. 44, No 7. – P. 676–686.
27. *Sakiyama M., Shibaoka H.* Effects of abscisic acid on the orientation and cold stability of cortical microtubules in epicotyl cells of the dwarf pea // Protoplasma. – 1990. – V. 157. – P. 165–171.

Поступила в редакцию
02.04.09

Хохлова Людмила Петровна – профессор, доктор биологических наук, заведующий кафедрой физиологии и биотехнологии растений Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: ludmila.khokhlova@ksu.ru

Бочкарева Мария Александровна – аспирант кафедры физиологии и биотехнологии растений Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: maria-19_08@mail.ru

Чепуренкова Мария Александровна – студент кафедры физиологии и биотехнологии растений Казанского (Приволжского) федерального университета.