

ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM TUBEROSUM* ПРИ ДЕЙСТВИИ ИНГИБИТОРА МИКРОТРУБОЧЕК КОЛХИЦИНА

© Т. И. Пузина,¹ Н. С. Власова, И. Ю. Макеева, В. Л. Ланцев

Кафедра ботаники, физиологии и биохимии растений
Орловского государственного университета им. И. С. Тургенева, Орел, 302026;

¹электронный адрес: tipuzina@gmail.com

Исследовали содержание и соотношение фитогормонов, активность ферментов-антиоксидантов и перекисного окисления липидов, содержание пролина и каротиноидов в растениях картофеля при действии колхicina. Выявили специфическое изменение гормонального баланса растения, инициированное деструктором микротрубочек колхичином (1мМ): существенно уменьшилось количество индолилуксусной кислоты и зеатина, увеличилось содержание абсцизовой кислоты, не изменился уровень гибберелловой кислоты, снизилось соотношение между фитогормонами-стимуляторами и абсцизовой кислотой. На данном гормональном фоне активизировалась низкомолекулярная антиоксидантная система (возрос уровень пролина и каротиноидов), тогда как активность пероксидазы несколько снизилась, а каталазы — не изменилась. Мониторинг реакций перекисного окисления липидов показал активизацию его начальных этапов (накопление гидроперекисей), после которых процесс стабилизировался (уровень малонового диальдегида не менялся). Сделано заключение о связи формирования гормонального статуса *Solanum tuberosum* и работы антиоксидантной системы со структурным состоянием тубулинового цитоскелета.

Ключевые слова: тубулиновый цитоскелет, колхичин, фитогормоны, антиоксидантная система, перекисное окисление липидов.

Принятые сокращения: АБК — абсцизовая кислота, АФК — активные формы кислорода, ГА₃ — гибберелловая кислота, ИУК — индолилуксусная кислота, МДА — малоновый диальдегид, ПОЛ — перекисное окисление липидов.

Одним из направлений современной клеточной биологии является изучение физиолого-биохимической роли цитоскелета. Элементы цитоскелета, являясь надмолекулярной высокодинамичной системой, обладают полифункциональностью. Они не только регулируют внутриклеточное движение и цитоархитектонику (Фултон, 1987), каскад сигнальных молекул (Хохлова, Невмержицкая, 2011), но и влияют на деление клеток, их дифференцировку, полярность (Медведев, Маркова, 1998), участвуют в формировании устойчивости к засолению, засухе, низкой температуре (Чэ Ван и др., 2011), т. е. связаны с процессами, которые находятся под гормональным контролем. Поэтому несомненно должна существовать взаимосвязь между элементами цитоскелета и активностью фитогормонов. Однако экспериментальных данных, подтверждающих это взаимодействие, недостаточно.

Обзоры Клячко (2003) и Блюма с соавторами (2012) свидетельствуют о том, что основное внимание исследователи уделяют изучению влияния фитогормонов на элементы цитоскелета. Отмечают их участие в экспрессии генов цитоскелетных белков, ответственных за синтез тубулина и актлина, а также белков, ассоциированных с ними (Lee et al., 2005). Показано влияние фитогормонов на расположение, ориентацию, стабилизацию, морфоло-

гию микротрубочек и микрофиламентов (Медведев, Маркова, 1998). Однако работы по влиянию цитоскелета на активность и содержание гормонов растений единичны. Выявлено, что для функционирования фитогормонов имеет значение пространственная организация цитоскелета (Godbole et al., 2000). Цитоскелетзависимым является транспорт фитогормонов, а также их рецепторов (Godbole et al., 2000; Пожванов, 2012). Имеются сведения о том, что разборка тубулинового цитоскелета влияет на экспрессию генов биосинтеза гиббереллина и абсцизовой кислоты (Komorisono et al., 2005; Lu et al., 2007). В работе Ковалевой и соавторов (2015) выявлено изменение количества эндогенных ауксинов в прорастающем мужском гаметофите *Petunia hybrida* при нарушении пространственной организации актинового цитоскелета латрункулином Б. Других сведений о влиянии элементов цитоскелета на содержание гормонов как в животных, так и в растительных организмах в литературе не найдено.

Ряд авторов отмечают значение полимерного состояния микротрубочек (Lu et al., 2007; Wang et al., 2007), их ориентации (Лазарева и др., 2008) в формировании устойчивости растительного организма. Из обзорной работы Чэ Ван с соавторами (2011) следует, что цитоскелет является потенциальным сенсором, ассоциированным с кле-

точной мембраной, инициирующим адаптивный ответ. В этой связи имеет значение исследование активности антиоксидантной системы растения, регулирующей процессы перекисного окисления липидов, от которых во многом зависит целостность мембран. Вместе с тем практически отсутствуют экспериментальные доказательства взаимосвязи активности антиоксидантной системы и состояния цитоскелета. Неизвестен физиологический механизм участия цитоскелета в регуляции работы системы антиоксидантной защиты. Но известно, что фитогормоны участвуют в регуляции активности ферментов антиоксидантной системы (Веселов и др., 2001; Guan, Scandalios, 2002).

Цель настоящей работы состояла в исследовании содержания фитогормонов, активности антиоксидантной системы и реакций ПОЛ у картофеля *Solanum tuberosum* при действии антимикротрубочкового агента колхицина.

Материал и методика

Объектом исследований являлись растения картофеля *Solanum tuberosum* L. сорта Удача селекции ВНИИ КХ (Коренево, Россия). Растения выращивали в почвенной культуре в условиях вегетационного домика на агробиостанции Орловского государственного университета. В сосуде, содержащем 10 кг серой лесной среднесуглинистой почвы, выращивали одно растение и поддерживали влажность 60 % от полной влагоемкости. Перед началом эксперимента в почву вносили оптимальное для картофеля количество азота, фосфора и калия — соответственно 2,3, 0,7 и 3,1 г на 1 кг почвы.

Деструкцию тубулинового цитоскелета всходов картофеля проводили через 15 сут после их появления, опрыскивая растения раствором алкалоида трополонового ряда колхицина в концентрации 1 мМ (Fluka, Швейцария). Известно, что в этой концентрации колхицин связывается с гетеродимером тубулина и предотвращает его полимеризацию, а также вызывает быструю разборку микротрубочек (Фултон, 1987; Медведев, Шарова, 2011). Колхицин в концентрации 1 мМ использовали в исследованиях на целом ряде растений — пшенице (Абдрахимова и др., 2003), элодее (Воробьев, Анисимов, 2010) и др. В наших предыдущих работах (Пузина, Власова, 2012) показано, что 1 мМ раствор колхицина через 8 сут после обработки растений картофеля снижал ростовую активность побегов (высоту) на 42 %. Контрольные растения опрыскивали водой. Анализировали листья седьмого яруса срединной формации через 7 сут после обработки растений.

Фитогормоны экстрагировали 80%-ным этанолом из одной навески листьев, предварительно зафиксированных жидким азотом.

Содержание ИУК, зеатина и АБК определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (Кудоярова и др., 1986, 1990). После сорбирования белкового конъюгата гормона в лунки полистиролового планшета вносили сыровотку с антителами к соответствующему гормону, а затем раствор стандартного гормона или экспериментальных образцов. Количество антител, специфически связанных с белковым конъюгатом гормона, определяли с помощью бараньих антител против иммуноглобулинов кролика, меченных пероксидазой. Для определения активности связавшейся пероксидазы использовали ортофенилендиамин. Интенсивность хромо-

форного ответа определяли на микрофотометре Dombi plate (Диа·М, Россия) при длине волны 492 нм. Для анализов использовали отечественные реактивы фирмы «Уралинвест» (Уфа). В качестве стандартных растворов фитогормонов были взяты ИУК, зеатин и АБК (Serva, Германия). Содержание гибберелловой кислоты (ГАЗ) определяли методом биологической пробы. В качестве биотеста использовали проростки гороха сорта Шустрик (ВНИИ ЗБК, Орел). Количество гибберелловой кислоты рассчитывали по калибровочной кривой, построенной для ГАЗ (Phylaxia, Венгрия).

Содержание пролина определяли в кислой среде с помощью нингидринового реактива по описанному методу (Bates et al., 1973). Для этого навески листьев помещали в пробирки с дистиллированной водой для горячей экстракции. Экстракт отфильтровывали, затем добавляли нингидриновый реактив и ледяную уксусную кислоту. Полученную смесь инкубировали 1 ч при 96 °С. Реакцию останавливали, помещая пробирки в холодную воду. Оптическую плотность окрашенных растворов измеряли на фотометре КФК-3-01 (ЗОМЗ, Россия) против контроля при длине волны 520 нм. Содержание пролина рассчитывали с использованием калибровочной кривой.

Содержание каротиноидов определяли на том же фотометре при 440 нм после извлечения их из листьев 80%-ным ацетоном и рассчитывали по формуле Ветштейна (Гавриленко, Жигалова, 2003).

Активность каталазы определяли газометрическим методом в каталазнике по количеству выделяющегося кислорода (Ермаков и др., 1987) с последующим пересчетом на количество пероксида водорода, разлагающегося каталазой. Активность пероксидазы определяли методом Бояркина (Ермаков и др., 1987) по времени образования синей окраски в результате окисления бензидина. Для этого навеску листьев растирали с ацетатным буфером (рН 5,4), настаивали, а затем центрифугировали при 4000 об/мин на лабораторной медицинской центрифуге ОПн-8 («Дастане», Киргизия). К центрифугату добавляли буферный раствор и бензидин. В контрольный вариант добавляли воду, а в экспериментальный — 0,3%-ный раствор пероксида водорода. Измерение времени окисления бензидина проводили на фотометре КФК-2 (ЗОМЗ, Россия) при длине волны 590 нм.

Содержание гидроперекисей жирных кислот липидов оценивали по реакции взаимодействия их с роданистым аммонием (Романова, Стальная, 1977). Навеску листьев растирали в 0,1 М буферном растворе Трис-НСl, содержащем 0,35 М NaCl (рН 7,6), затем в течение 1 мин центрифугировали при 2000 об/мин на центрифуге ОПн-8 («Дастане», Киргизия). К осажденному белку добавляли 0,4 мл 50%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, фильтровали и доводили объем экстракта до 10 мл этанолом. Затем добавляли концентрированную HCl и 5 %-ный раствор соли Мора в 3%-ной HCl. Пробу интенсивно встряхивали и приливали 20%-ный раствор роданистого аммония. Через 10 мин определяли оптическую плотность раствора при 480 нм.

Содержание малонового диальдегида определяли по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой при нагревании (Лукаткин, Голованова, 1988). Для этого навеску листьев растирали в смеси 0,1 М буферного раствора Трис-НСl (рН 7,6) и 0,35 М NaCl. К вытяжке из центрифугата (6000 об/мин, 30 мин на центрифуге ОПн-8) добавляли 0,5%-ный раствор тиобарбитуровой кислоты в 20%-ной трихлоруксусной кислоте. Смесь

Таблица 1

Содержание свободных фитогормонов в листьях картофеля при действии колхицина

Агент	ИУК, мкг	Зеатин, нг	ГАЗ, мкг-экв.	АБК, мкг
– (Контроль)	19.56 ± 1.36	141.6 ± 8.5	6.30 ± 0.57	10.02 ± 0.60
Колхицин	7.20 ± 0.50	40.3 ± 2.4	6.70 ± 0.60	14.62 ± 0.87

Примечание. Приведены средние значения и их ошибки в расчете на 1 г сухой массы.

Таблица 2

Влияние колхицина на соотношение фитогормонов в листьях

Агент	ИУК/АБК	Зеатин/АБК	ГАЗ/АБК	ИУК/зеатин
– (Контроль)	1.95	0.014	0.63	139.7
Колхицин	0.49	0.003	0.46	180.0

нагревали на водяной бане в течение 30 мин. После быстрого охлаждения пробы центрифугировали (15 мин, 6000 об/мин на той же центрифуге) и измеряли оптическую плотность супернатанта при 532 нм.

В таблицах и на рисунках представлены средние арифметические значения из пяти биологических повторностей и их стандартные ошибки. Аналитическая повторность 5—7-кратная. Достоверность результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента, считая достоверными различия при уровне доверительной вероятности выше 0.95.

Результаты

Обработка растений картофеля 1 мМ раствором колхицина оказала специфическое влияние на уровень разных групп фитогормонов в листьях (табл. 1). Так, через 7 сут после действия колхицина содержание ауксинов существенно (в 2.7 раза) снизилось. В еще большей степени (в 3.5 раза) уменьшилось количество цитокининов. Действие колхицина не сказалось на содержании ГАЗ в отличие от ИУК и зеатина, тогда как количество АБК возросло на 45 %.

Известно, что ход физиологических процессов определяется не столько содержанием фитогормонов, сколько

их соотношением — гормональным балансом. Колхицин существенно уменьшил соотношение между гормонами, стимулирующими и ингибирующими рост (табл. 2). Прежде всего это касается отношения ИУК/АБК и зеатин/АБК (в 4 раза против контроля). Отношение ГАЗ/АБК снизилось в меньшей степени — в 1.4 раза.

Ответ антиоксидантной системы на фармакологическое разрушение тубулинового цитоскелета колхицином был неоднозначным. Так, активность пероксидазы уменьшилась на 25 %, тогда как активность каталазы оставалась на уровне контрольного варианта (рис. 1).

Иначе реагировало на действие колхицина содержание низкомолекулярных органических антиоксидантов — пролина и каротиноидов (рис. 2). Оно возросло по сравнению с контролем на 32 и 47 % соответственно.

Проведенный мониторинг содержания первичных продуктов ПОЛ (гидроперекисей жирных кислот липидов) и конечного продукта МДА свидетельствует об их разной реакции на действие колхицина. Из данных рис. 3, а, б следует, что обработка растений 1 мМ раствором колхицина повысила на 25 % уровень гидроперекисей в листьях срединной формации, но не способствовала накоплению МДА. Его количество оставалось на уровне контроля.

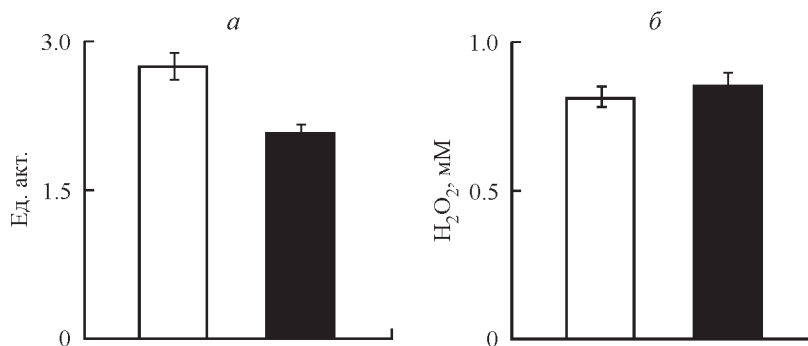


Рис. 1. Активность антиоксидантных ферментов пероксидазы (а) и каталазы (б) в листьях картофеля в контроле (белые столбцы) и при действии 1 мМ колхицина (черные столбцы).

Здесь и на рис. 2 и 3 все единицы указаны на 1 г сырой массы; вертикальные отрезки указывают ошибку среднего арифметического (n = 5).

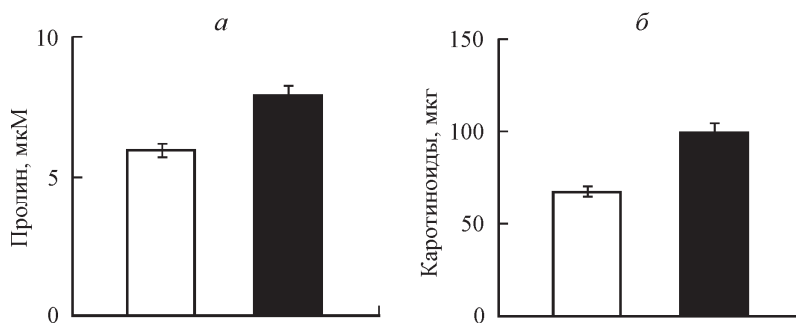


Рис. 2. Содержание низкомолекулярных антиоксидантов пролина (а) и каротиноидов (б) в листьях картофеля при действии колхицина.

Белые столбцы — контроль, черные — при действии колхицина.

Обсуждение

Содержание фитогормонов в растительном организме зависит не только от внешних факторов, которые переключают «метаболические вилки» в их биосинтезе из общих предшественников, но и от многих внутренних, способствующих биосинтезу, распаду, инактивации, транспорту данных регуляторных веществ. Участие элементов цитоскелета в формировании гормонального статуса растений остается до сих пор открытым. Полученные нами результаты показывают, что фитогормональная система растений картофеля чувствительна к состоянию микротрубочкового цитоскелета, зависящему от действия колхицина. Однако имеющиеся в литературе сведения не дают возможности объяснить механизм действия компонентов цитоскелета на содержание фитогормонов. Можно лишь отметить, что снижение уровня ауксинов в листьях, возможно, связано с нарушением их транспорта. Показана зависимость внутриклеточного транспорта ИУК с участием PIN-белков от сборки и реорганизации актинового цитоскелета (Пожванов, 2012). Известно, что существует тесное взаимодействие между микрофиламентами и микротрубочками через ассоциированные белки. По-видимому, микротрубочки также могут регулировать симпластический транспорт ауксина через мембраны. Действительно, показано (Godbole et al., 2000), что деструкция кортикальных микротрубочек в клетках коллеоптилей риса тормозила транспорт ауксина.

Относительно взаимосвязи уровня цитокининов с состоянием цитоскелета имеются лишь сведения о незначительном снижении содержания зеатина в прорастающем

мужском гаметофите петунии при нарушении микрофиламентов латрункулином Б (Ковалева и др., 2015). Что касается тубулинового цитоскелета, то показана его дестабилизация на протонеме мха *Funarium* под влиянием экзогенных цитокининов в высоких концентрациях (Doonan et al., 1987). В этой связи можно предположить обратное действие, а именно: деструкция микротрубочек, по-видимому, приводит к уменьшению количества цитокининов, что и наблюдалось в листьях картофеля (табл. 1).

Есть данные о гиперэкспрессии генов синтеза ГА₃ у карликового риса, вызванной разьединением микротрубочек катаниноподобным белком, кодируемым мутантным геном DGL1; однако при этом растения оставались карликовыми, что может свидетельствовать, по мнению авторов, о нарушении процесса трансляции (Komogiso et al., 2005). Подтверждением этого являются исследования, в которых деструкция микротрубочек у озимой пшеницы гербицидом оризалином приводила к распаду полисом и, как следствие, снижала содержание растворимых белков (Тимофеева и др., 2008). Не исключено, что обнаруженное нами отсутствие реакции гиббереллинов в листьях *Solanum tuberosum* на действие колхицина также может быть связано с состоянием рибосомного аппарата, участвующего в синтезе этой группы фитогормонов.

Фармакологическое разрушение элементов цитоскелета является стрессующим фактором. Как известно, увеличение внутриклеточного содержания АБК является неспецифической реакцией на развитие окислительного стресса. В исследовании (Lu et al., 2007) показано, что нарушение организации микротрубочек в корнях кукурузы

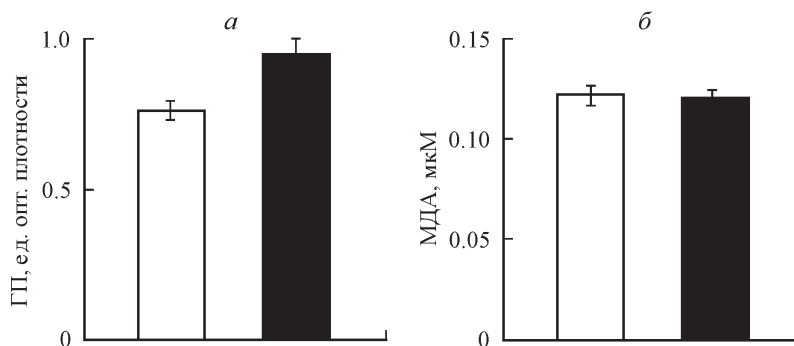


Рис. 3. Содержание продуктов ПОЛ — гидроперекисей (ГП) жирных кислот липидов (а) и малонового диальдегида (МДА) (б) в листьях картофеля при действии колхицина.

Белые столбцы — контроль, черные — при действии колхицина.

в большей степени стимулировало накопление АБК, чем действие осмотического стресса. По мнению авторов, это может свидетельствовать об участии тубулинового цитоскелета в образовании АБК. Однако механизм такого эффекта остается невыясненным. По-видимому, полученное в наших экспериментах накопление АБК в листьях картофеля в условиях действия колхицина также может быть следствием не только развивающегося окислительного стресса, но и изменения в синтезе данной группы фитогормонов.

Остается малоизученным взаимодействие фитогормонов и антиоксидантной системы, от которой зависит процесс ПОЛ. Имеются лишь некоторые сведения, касающиеся в основном действия отдельных групп экзогенных фитогормонов на экспрессию генов каталазы (Guan, Scandalios, 1998), супероксиддисмутазы (Веселов и др., 2001), а также влияния ингибиторов транспорта ИУК и биосинтеза этилена на содержание МДА (Атри и др., 2008). Вместе с тем важно сравнить работу системы антиоксидантной защиты с эндогенным уровнем фитогормонов, так как далеко не всегда влияние экзогенных и эндогенных фитогормонов совпадает.

Обнаруженное нами снижение активности пероксидазы и отсутствие реакции каталазы на действие колхицина может быть связано с перестройкой в фитогормональном балансе (табл. 1, 2). В литературе имеются данные об увеличении активности одного из антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы — в тканях гороха в условиях гипертермического стресса под влиянием экзогенной ИУК (Веселов и др., 2001). Можно полагать, что значительное снижение уровня ИУК и соотношения ИУК/АБК в наших экспериментах не способствовало активизации изученных ферментов, нейтрализующих перекись водорода.

В последнее время все больше внимания уделяется изучению роли низкомолекулярных органических антиоксидантов при адаптации растений к действию разных стрессов (Sharma et al., 2011; Николаева и др., 2015). Существует мнение, что в ряде случаев они более эффективно по сравнению с антиоксидантными ферментами защищают макромолекулы и мембраны от действия активных форм кислорода (Blokhina et al., 2003). К таким соединениям относятся пролин и каротиноиды, которые благодаря своему строению могут «тушить» АФК. Так, пролин способен окисляться за счет разрыва пиррольного кольца и образовывать лактон, что приводит к обрыву свободно-радикальных реакций под влиянием синглетного кислорода и гидроксильного радикала (Радюкина и др., 2008). Обнаруженное нами увеличение содержания пролина при действии колхицина происходило на фоне возрастания уровня АБК (рис. 2; табл. 1). Есть данные о том, что АБК в условиях стресса вызывает экспрессию двух генов ключевого фермента биосинтеза пролина пирролин-5-карбоксилатсинтазы (Strizhov et al., 1997).

При нарушении структуры тубулинового цитоскелета реакция ПОЛ активизировалась только на начальном этапе, но не заканчивалась накоплением конечного продукта МДА (рис. 3). Причинами увеличения гидроперекисей жирных кислот (первичных продуктов ПОЛ) могут быть отсутствие реакции каталазы и снижение работы пероксидазы, вызванное падением уровня ИУК. Показано (Радюкина и др., 2008), что антиоксидантная функция пролина в утилизации АФК реализуется позже вовлечения ферментов антиоксидантной системы. По-видимому, увеличение содержания пролина и каротиноидов стабили-

зировало процесс развития окислительного стресса, что проявилось в прекращении реакций ПОЛ.

Таким образом, специфические изменения содержания фитогормонов, индуцированные антимиотрубочковым агентом колхицином, могут свидетельствовать об участии тубулинового цитоскелета в формировании гормонального статуса растений картофеля. Однако способ и механизм этого действия требует дальнейших исследований. На фоне снижения уровня ауксинов, цитокининов и увеличения АБК при действии колхицина антиоксидантные ферменты не активизировали свою работу, однако содержание низкомолекулярных антиоксидантов пролина и каротиноидов возрастало. В этих условиях мониторинг реакций ПОЛ выявил накопление только первичных продуктов (гидроперекисей), а затем процесс стабилизировался.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Госзадание 2014/369, проект 1373).

Список литературы

- Абдрахимова Й. Р., Абдрахимов Ф. А., Абдрахманова А. Ф., Хохлова Л. П. 2003. Влияние антимиотрубочковых агентов на дыхание ультраструктурную организацию клеток листьев пшеницы. Физиол. раст. 50 (5) : 653—660. (Abdrakhimova I. R., Abdrakhimov F. A., Abdrakhmanova A. F., Khokhlova L. P. 2003. Effect of anti-microtubular agents on respiration and ultrastructural organization of wheat leaf cells. Russ. J. Plant Physiol. 50 (5) : 653—660.)
- Атри Л. К., Нейяр Х., Бханра Р. К., Вуй С. П. 2008. Окислительный стресс при индуцированном опылении старении цветков орхидей. Физиол. раст. 55 (6) : 908—915. (Attri L. K., Nayyar H., Bhanwra R. K., Vij S. P. 2008. Pollination-induced floral senescence in orchids: status of oxidative stress. Russ. J. Plant Physiol. 55 (6) : 908—915.)
- Блюм Я. Б., Красиленко Ю. А., Емец А. И. 2012. Влияние фитогормонов на цитоскелет растительной клетки. Физиол. раст. 59 (4) : 557—573. (Blume Ya. B., Krasylenko Yu. A., Yemets A. I. 2012. Effects of phytohormones on the cytoskeleton of the plant cell. Russ. J. Plant Physiol. 59 (4) : 557—573.)
- Веселов А. П., Курганова Л. Н., Брилкина А. А. 2001. Изменение активности ферментов антиоксидантной защиты и экспрессии гена СОД под влиянием экзогенной ИУК. Вестник ННГУ. Сер. биол. 1 : 159—163. (Veselov A. P., Kurganova L. N., Brilkina A. A. 2001. The change of the activity of antioxidant enzymes and gene expression of SOD under the influence of exogenous IAA. Herald of UNN. Ser. Biol. 1 : 159—163.)
- Воробьев В. Н., Анисимов А. В. 2010. Гидродинамические параметры цитоплазматического потока и тубулиновый компонент цитоскелета в клетках междоузлия *Elodea densa*. Физиол. раст. 57 (3) : 478—480. (Vorob'ev V. N., Anisimov A. V. 2010. Hydrodynamics of cytoplasmic streaming and the cytoskeletal tubulin component in cells of *Elodea densa* internodes). Russ. J. Plant Physiol. 57 (3) : 478—480.)
- Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. 2003. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Академия. 256 с. (Gavrilenko V. F., Zhigalova T. V. 2003. Large workshop on photosynthesis. M.: Academy. 256 p.)
- Ермаков А. И., Арасимович В. В., Хром Н. П., Труанский Ю. В., Луковникова Г. А., Иконникова М. И. 1987. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат. Лен. отд. 430 с. (Ermakov A. I., Arasimovich V. V., Chrom N. P., Turanskiy Y. V., Lukovnikova G. A., Ikonnikova M. I. 1987. Methods of biochemical research of plants. L.: Agropromizdat. 430 p.)
- Клячко Н. Л. 2003. Фитогормоны и цитоскелет. Физиол. раст. 50 (3) : 475—480. (Klyachko N. L. 2003. Phytohormones and Cytoskeleton. Russ. J. Plant Physiol. 50 (3) : 475—480.)

- Ковалева Л. В., Воронов А. С., Захарова Е. В. 2015. Роль ауксина и цитокинина в регуляции актинового цитоскелета прорастающего *in vitro* мужского гаметофита петунии. Физиол. раст. 62 (2) : 195—203. (Kovaleva L. V., Voronov A. S., Zakharova E. V. 2015. Role of auxin and cytokinin in the regulation of the actin cytoskeleton in the *in vitro* germinating male gametophyte of *petunia*. Russ. J. Plant Physiol. 62 (2) : 195—203.)
- Кудоярова Г. Р., Веселов С. Ю., Еркеев М. И., Гюли-Заде В. З., Гимаева Р. М., Загидуллин Н. В., Шакирова Ф. М. 1986. Иммуноферментное определение индолилуксусной кислоты в семенах кукурузы с использованием меченых антител. Физиол. раст. 33 (6) : 1221—1227. (Kudoyarova G. R., Veselov S. Yu., Erkeev M. I., Gulyi-Zade V. Z., Gimaeva R. M., Zagidullin N. V., Shakirova F. M. 1986. An enzyme immunoassay for estimating indolescetic acid content in maize seed with a use of labeled antibodies. Russ. J. Plant Physiol. 33 (6) : 1221—1227.)
- Кудоярова Г. Р., Веселов С. Ю., Каравайко Н. Н., Гюли-Заде В. З., Чередова Е. П., Мустафина А. Р., Мошков И. Е., Кулаева О. Н. 1990. Иммуноферментная тест-система для определения цитокининов. Физиол. раст. 37 (1) : 193—199. (Kudoyarova G. R., Veselov S. Yu., Karavaiko N. N., Gulyi-Zade V. Z., Cheredova E. P., Mustafina A. R., Moshkov I. E., Kulaeva O. N. Immunoenzyme test system for assaying cytokinins. Russ. J. Plant Physiol. 37 (1) : 193—199.)
- Лазарева Е. М., Цеңцов Ю. С., Смирнова Е. А. 2008. Влияние низкой температуры на системы микротрубочек в клетках корневой меристемы ярового и озимого сортов пшеницы *Triticum aestivum* L. Цитология. 50 (7) : 597—612. (Lazareva E. M., Chentsov Yu. S., Smirnova E. A. 2008. The effect of low temperature on the microtubules in root meristem cells of spring and winter cultivars of wheat *Triticum aestivum* L. Tsitologiya (Russ.). 50 (7) : 597—612.)
- Лукаткин А. С., Голованова В. С. 1988. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений. Физиол. раст. 35 (4) : 773—780. (Lukatkin A. S., Golovanova V. S. 1988. Lipid peroxidation in chilled leaves of heat-loving plants. Russ. J. Plant Physiol. 35 (4) : 773—780.)
- Медведев С. С., Маркова И. В. 1998. Цитоскелет и полярность растений. Физиол. раст. 45 (2) : 185—197. (Medvedev S. S., Markova I. V. 1998. The cytoskeleton and plant polarity. Russ. J. Plant Physiol. 45 (2) : 185—197.)
- Медведев С. С., Шарова Е. И. 2011. Биология развития растений. Начала биологии развития растений. Фитогормоны. СПб.: Изд-во СПбГУ. 1. 253 с. (Medvedev S. S., Sharova E. I. 2011. The biology of plants development. The beginning of biology of developmental of plants. Phytohormones. SPb.: Publ. House of St. Petersburg University. 1. 253 p.)
- Николаева М. К., Маевская С. Н., Воронин П. Ю. 2015. Активность антиоксидантной и осмopопротекторной систем и фотосинтетический газообмен проростков кукурузы в условиях засухи. Физиол. раст. 62 (3) : 340—348. (Nikolaeva M. K., Maevskaya S. N., Voronin P. Y. 2015. Activities of antioxidant and osmoprotective systems and photosynthetic gas exchange in maize seedlings under drought conditions. Russ. J. Plant Physiol. 62 (3) : 340—348.)
- Пожванов Г. А. 2012. Роль фитогормонов и актинового цитоскелета в регуляции гравитропизма у арабидопсиса: Автореф. канд. дис. СПб.: БИН им. В. Л. Комарова РАН. 20 с. (Pozhvanov G. A. 2012. The role of plant hormones and the actin cytoskeleton the regulation of *Arabidopsis* gravitropism: Abstract of Ph dissertation. St. Petersburg: V. L. Komarov Bot. Institute RAS. 20 p.)
- Пузина Т. И., Власова Н. С. 2012. Особенности роста *Solanum tuberosum* при воздействии структурного модификатора микротрубочек колхицина. Уч. зап. Орлов. гос. ун-та. Сер. естественные, технич. и мед. науки. 3 (47) : 148—151. (Puzina T. I., Vlasova N. S. 2012. The growth peculiarities of *Solanum tuberosum* under the influence of structural modifier of microtubules colchicine. Scientific Notes of Oryol State Univ. Ser. natural, tech. med. sci. 3 (47) : 148—151.)
- Радюкина Н. Л., Шашукова А. В., Шевякова Н. И., Кузнецов Вл. В. 2008. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и парахвата. Физиол. раст. 55 (5) : 721—730. (Radyukina N. L., Shashukova A. V., Shevyakova N. I., Kuznetsov Vl. V. 2008. Proline involvement in the common sage antioxidant system in the presence of NaCl and paraquat. Russ. J. Plant Physiol. 55 (5) : 721—730.)
- Романова Л. А., Стальная И. Д. 1977. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоционата аммония. В кн.: Современные методы в биохимии. М.: Медицина. 64—66. (Romanova L. A., Stalnaya I. D. 1977. The method of determination of lipid hydroperoxide with using of ammonium thiocyanate. In: Modern methods in biochemistry. M.: Medicine. 64—66.)
- Тимофеева О. А., Гараева Л. Д., Чулкова Ю. Ю., Хохлова Л. П. 2008. Влияние картолина на орзалин-индуцированные изменения активности лектинов при низкотемпературном закаливании растений. Физиол. раст. 55 (3) : 368—373. (Timofeeva O. A., Garaeva L. D., Chulkova Yu. Yu., Khokhlova L. P. 2008. Effect of cartolin on oryzalin-induced changes in lectin activity during low-temperature plant hardening. Russ. J. Plant Physiol. 55 (3) : 368—373.)
- Фултон А. 1987. Цитоскелет. Архитектура и хореография клетки. М.: Мир. 120 с. (Fulton A. 1987. The cytoskeleton. Architecture and choreography of cell. M.: Mir. 120 p.)
- Хохлова Л. П., Невмержицкая Ю. Ю. 2011. Роль цитоскелета в сигнальных системах растений. Уч. зап. Казан. гос. ун-та. Естественные науки. 153 (2) : 147—179. (Khokhlova L. P., Nevmerzhitskaya Yu. Yu. 2011. The role of cytoskeleton in plant signaling systems. Scientists Notes of Kazan State Univ. Nat. Sci. 153 (2) : 147—179.)
- Чэ Ван, Лицзюнь Чэжан, Вэньфу Чэнь. 2011. Кортикальные микротрубочки растений как потенциальные сенсоры абиотического стресса. Биохимия. 76(3) : 391—399. (Che Wang, Lijun Zhang, Wenfu Chen. 2011. Plant cortical microtubules are potential sensors under abiotic stresses. Biochemistry (Moscow). 76 (3) : 391—399.)
- Bates L. S., Walden R. P., Teare I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39 : 205—207.
- Blokhina O., Vitolainen E., Fagerstedt K. V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Ann. Bot. 91 : 179—194.
- Doonan J. H., Cove D. J., Corke F. M. K., Lloyd C. W. 1987. Preprophase band of microtubules, absent from tip-growing moss filaments, arises in leafy shoots during transition to intercalary growth. Cell Motil. Cytoskeleton. 7: 138—153.
- Godbole R., Michalke W., Nick P., Hertel R. 2000. Cytoskeletal drugs and gravity-induced lateral auxin transport in rice cobpods. Plant Biol. 2 : 176—181.
- Guan L. M., Scandalios J. G. 2002. Catalase gene expression in response to auxin-mediated developmental signals. Physiologia Plantarum. 114 : 288—295.
- Komorisono M., Ueguchi-Tanaka M., Aichi I., Hasegawa Y., Ashikari M., Kitano H., Matsuoka M., Sazuka T. 2005. Analysis of the rice mutant dwarf and gladius leaf 1. Aberrant katanin-mediated microtubule organization causes up-regulation of gibberellin biosynthetic genes independently of gibberellin signaling. Plant Physiol. 138 : 1982—1993.
- Lee E. A., Jo H. Y., Han I. S. 2005. Auxin activates promoter of a soybean β -tubulin, B 1 Gene. Korean J. Genet. 27 : 383—388.
- Lu B., Gong Z., Wang J., Zhang J., Liang J. 2007. Microtubule dynamics in relation to osmotic stress-induced ABA accumulation in *Zea mays* roots. J. Exp. Bot. 58 : 2565—2572.
- Sharma S., Villamor J. G., Verslues P. E. 2011. Essential role of tissue-specific praline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. Plant Physiol. 157 : 292—304.
- Strizov N., Abraham E., Okresz L., Blicking S., Zilberstein A., Schell J., Koncz C., Szabados L. 1997. Differential expression of two PSCS genes controlling praline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1 and AXR2 in *Arabidopsis*. Plant J. 12 : 557—569.
- Wang C., Li J., Yuan M. 2007. Soft tolerance requires cortical microtubule reorganization in *Arabidopsis*. Plant Cell Physiol. 48 : 1534—1547.

HORMONAL STATUS AND ACTIVITY OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM
OF *SOLANUM TUBEROSUM* UNDER THE ACTION OF COLCHICINES
AS THE INHIBITOR OF MICROTUBULE

T. I. Puzina,¹ N. S. Vlasova, I. Yu. Makeeva, V. L. Lantsev

Department of Botany, Plant Physiology and Biochemistry, Orel State University named of I. S. Turgenev, Orel, 302026;
¹ e-mail: tipuzina@gmail.com

The content and the ratio of phytohormones, the activity of enzymes-antioxidants and lipid peroxidation, contents of proline and carotenoids in potato plants under the action of colchicines have been investigated. We have identified specific changes in hormonal balance of the plant initiated by the destructor of microtubules, colchicines (1 mM). We have found significant decreased in the amount of indoleacetic acid and zeatin, increase in the content of abscisic acid, no changes in the level of gibberellic acid, a decreased in the ratio between hormones-stimulants and abscisic acid. At this hormonal background, we observed activation of low molecular weight antioxidant system (increased levels of proline and carotenoids), while the peroxidase activity decreased slightly, and catalase activity did not change. Monitoring of reactions of lipid peroxidation showed the activation of its initial stages (accumulation of hydroperoxides), and then the process stabilized (the level of malondialdehyde did not change). We have concluded that the formation of hormonal status *Solanum tuberosum*, as well as the work of the antioxidant system, depend on the structural condition of the tubulin cytoskeleton.

Key words: tubulin cytoskeleton, antimicrotubule agent colchicines, phytohormones, antioxidant system, reactions of POL.
