

Оригинальные работы

УДК 576.311.348.7+543.272.3

А.И. ЕМЕЦ, Ю.А. КРАСИЛЕНКО,
Я.А. ШЕРЕМЕТ, Я.Б. БЛЮМ

Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, Киев
E-mail: alyemets@mail.univ.kiev.ua

РЕОРГАНИЗАЦИЯ МИКРОТРУБОЧЕК КАК ОТВЕТ НА РЕАЛИЗАЦИЮ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ ОКСИДА АЗОТА (NO) В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ



Изучено влияние донора монооксида азота (NO), нитропруссид натрия, на организацию кортикальных микроотрубочек в клетках корней *Arabidopsis thaliana*, экспрессирующих GFP-MAP4 *in vivo*. Установлено, что обработка нитропруссидом натрия (10–500 мкМ, 24 ч) ускоряла темпы роста первичных корней и усиливала образование корневых волосков в зоне дифференциации. Отмечено, что под воздействием нитропруссид натрия также изменялись ориентация и организация микроотрубочек в разных типах клеток ростовых зон корня *A. thaliana*. Наибольшую чувствительность к действию нитропруссид натрия обнаруживали эпидермальные клетки зоны растяжения, где поперечная ориентация микроотрубочек изменялась на неупорядоченную, косую или продольную относительно основной оси корня. Предположено, что NO, участвуя в индукции дифференциации клеток, может вызывать реориентацию кортикальных микроотрубочек посредством нитротирозилирования тубулина.

© А.И. ЕМЕЦ, Ю.А. КРАСИЛЕНКО, Я.А. ШЕРЕМЕТ,
Я.Б. БЛЮМ, 2009

Введение. Монооксид азота (NO) – диффузный вторичный посредник, участвующий в регуляции физиологических и реализации патологических процессов у филогенетически отдаленных видов растений [1]. Незаменимого продуцента NO в биосфере – вегетирующую растительность [2] – обеспечивают оксидом азота (II) несколько ферментативных источников: цитозольная нитратредуктаза [3], корнеспецифичная плазматическая мембраносвязанная нитрит-NO-редуктаза [4], плазматическая мембраносвязанная нитратредуктаза [5] и, в незначительной степени, нитритредуктаза [6]. Кроме того, предполагается, что в клетках растений могут присутствовать NO-синтазоподобные ферменты, использующие L-аргинин, НАДФН и O₂ для образования NO, НАДФ⁺ и L-цитрулина [1], поскольку у них обнаружена NO-синтазоподобная активность, зависящая от ингибиторов NO-синтаз животных [7]. У *Arabidopsis thaliana* не так давно был описан белок AtNOS1, гомологичный одной из NO-синтаз *Helix pomatia* L. [8]. Следует также принимать во внимание и неферментативные пути образования NO в апопласте растений: восстанавливающие агенты, в частности аскорбиновая кислота и некоторые фенольные соединения, могут усиливать интенсивность образования NO из нитрита в зависимости от значения pH [9]. Показано, что у растений имеет место и светозависимое восстановление NO₂ в NO каротиноидами [10].

Установлено, что NO задействован в регуляции клеточного цикла растительной клетки [11], процессов дифференциации и морфогенеза растений, в частности, регуляции цветения [12] и корнеобразования [12–18]. Наряду с этим NO способствует адаптационной пластичности растений при инвазии патогенов [19], обеспечивая реакцию гиперчувствительности [20] и приобретенный системный ответ [21], опосредует реакцию на свет [22], силу гравитации [23], оксидативный стресс [22], повышает устойчивость к гипоксии [24], оказывает антиоксидантное [25] и криопротекторное действие [26], смягчает эффекты ультрафиолетового облучения [27].

Применение экзогенных доноров NO, высвобождающих в клетках дополнительные количества NO, позволяет изучать разнообразные эффекты этой молекулы *in vivo* и *in vitro*. Ранее было показано, что доноры NO стиму-

лируют удлинение корней *Zea mays* L. [14]. Обработка нитропруссидом натрия и *S*-нитрозо-*N*-ацетилпеницилламином эксплантов *Cucumis sativus* L. индуцирует органогенез корней *de novo*, имитируя эффект индолилуксусной кислоты (ИУК) [15]. Показано также, что формирование дополнительных корней под воздействием ИУК происходит при участии NO и цГМФ [16]. Кроме того, NO необходим для образования боковых корней, которое вызвано влиянием ауксинов [17, 18], а также для индукции образования боковых корней вследствие контакта растения с ризобактерией *Azospirillum* [13]. В свою очередь действие ауксина приводит к неупорядоченной ориентации (рандомизации) кортикальных микротрубочек, что необходимо для инициации роста корневых волосков *Lactuca sativa* L. [28]. При этом известно, что в осуществлении большинства перечисленных процессов принимают участие цитоскелетные структуры, в частности микротрубочки [29]. Пластичность организации микротрубочек растений, как и микротрубочек животных, обусловлена рядом посттрансляционных модификаций α - и β -тубулина: тирозилированием и детирозилированием, фосфорилированием, ацетилированием, полиглутамилированием и образованием $\Delta 2$ -тубулина [30].

В то же время некоторые посттрансляционные модификации тубулина, обнаруженные в клетках животных, до сих пор не найдены у растений. Например показано, что присутствие NO в клетках животных может изменять цикл тирозилирования/детирозилирования α -тубулина вследствие неспецифичности тубулинтирозинлигазы, которая включает в состав тубулинового димера производные тирозина, в частности 3-нитротирозин [31–34]. Невыясненными остаются обратимость нитротирозилирования α -тубулина животных и его влияние на морфологию и жизнедеятельность клеток, поскольку полученные до сих пор данные остаются противоречивыми [31, 33].

Возможное влияние нитротирозилирования α -тубулина растений на структуру микротрубочек было смоделировано нами ранее с помощью методов *in silico* [35], но прямых доказательств наличия такой модификации тубулина у растений, равно как и ее влияния на организацию микротрубочек *in vivo*, до сих

пор не было получено. Известно только, что у растений появление 3-нитротирозина в гидролизатах кислых белков является маркером реакций повреждения клеток, апоптоза, а также ксилогенеза [36].

Принимая во внимание тот факт, что NO в растительной клетке опосредует множество физиологических и патологических процессов, реализация которых обеспечивается микротрубочками, целью настоящей работы являлось изучение влияния экзогенного донора NO, нитропрусида натрия, на скорость роста и изменение морфологии корней *Arabidopsis thaliana* и установления взаимосвязи этих показателей с реориентацией и реорганизацией микротрубочек в клетках разных ростовых зон корня.

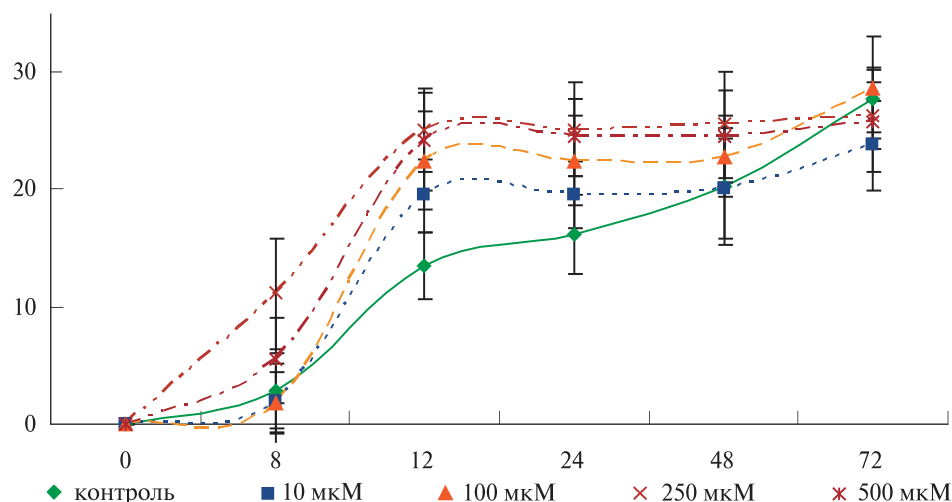
Материалы и методы. Для поверхностной стерилизации семена линии *A. thaliana* экотипа Landsberg erecta (Ler), экспрессирующей химерный ген *gfp-map4* [37], погружали в 6%-ный (v:v) раствор гипохлорита натрия на 15 мин с последующей пятикратной отмывкой в стерильной дистиллированной воде. Для проращивания асептические семена переносили на твердую среду Мурасиге-Скуга (МС) [38] с половинным набором солей МС и витаминами («Duchefa», Нидерланды), содержащую 10 г/л сахарозы, 4 г/л джелрайта («Duchefa», Нидерланды), pH 5,7. Затем их стратифицировали при температуре 4 °C в течение 24 ч и далее проращивали при температуре 24 °C и 16 ч световом/8 ч темновом фотопериоде. Четырехсуточные проростки *A. thaliana* обрабатывали донором NO в течение 4–72 ч в концентрациях 10–500 мкМ.

Донор NO, нитропруssid натрия (нитрозоферрицианит дегидрат натрия) («Sigma-Aldrich», США) растворяли в дистиллированной воде непосредственно перед проведением экспериментов.

Определение скорости роста корней *A. thaliana* проводили по методике, описанной ранее [39]. Показатели прироста длины корней четырехсуточных проростков *A. thaliana*, обработанных донором NO, сравнивали с соответствующими показателями прироста длин корней необработанных проростков.

Для визуализации микротрубочек в клетках корней *A. thaliana*, экспрессирующих белок GFP-MAP4, и получения трехмерного изоб-

Рис. 1. Прирост длины первичных корней *A. thaliana* (по вертикали, %) при обработке нитропруссидом натрия; по горизонтали – время обработки, ч



ражения с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM 510 META («Carl Zeiss», Германия) была выбрана 488 линия аргонового лазера (возбуждение 488/543 нм/эмиссия 510/540 нм), иммерсионный объектив Plan-Apochromat с 63-кратным увеличением. Индивидуальную конфигурацию определяли для каждого объекта изменением параметров скорости сканирования, точечной диафрагмы и детектора луча. Морфологию корня исследовали в проходящем свете с объективом EC Plan-Neofluar с 10-кратным увеличением.

Результаты исследований и их обсуждение.
Влияние донора оксида азота (II) на рост и морфологию корней *A. thaliana*. При 24-часовой обработке проростков нитропруссидом натрия в диапазоне концентраций 10–500 мкМ отмечено увеличение прироста первичных корней по сравнению с контролем (рис. 1). Наблюдаемый эффект носил дозозависимый характер: прирост первичных корней, обработанных нитропруссидом натрия (10 мкМ), составлял 20 % по сравнению с приростом корней необработанных проростков (14,5 %), 100 мкМ – 22,5 %, 250 мкМ – 25 %, 500 мкМ – 24 % соответственно. Более продолжительная обработка проростков донором NO (48–72 ч) в указанных концентрациях приводила к постепенному угасанию стимулирующего эффекта нитропрussa натрия, за исключением концентрации 100 мкМ, под действием которой наблюдался устойчивый прирост длины первичных корней через 72 ч от начала обработки.

Помимо изменения скорости роста первичных корней *A. thaliana* при обработке донором NO были отмечены и их морфологические изменения. Обработка в течение 24 ч проростков нитропруссидом натрия в концентрациях 10 и 100 мкМ существенно не отражалась на морфологии первичных корней, но при повышении его концентрации до 250 и 500 мкМ наблюдали интенсивную дифференциацию клеток и формирование новых корневых волосков (рис. 2, I, см. вклейку). Этот эффект имел дозозависимый характер: при обработке донором (500 мкМ) формирование корневых волосков было наиболее выраженным.

Более продолжительная обработка нитропруссидом натрия в концентрациях 250 и 500 мкМ (48 ч) еще значительно усиливала процессы дифференциации корней, что проявлялось в формировании избыточного количества корневых волосков непосредственно за зоной корневого апекса (рис. 2, II). При этом нитропруссид натрия в концентрации 500 мкМ вызывал образование укороченных корневых волосков в зоне дифференциации. Описанные морфологические изменения сохранялись и через 72 ч с момента обработки донором NO. Известно, что NO образуется в клетках перидола, что указывает на необходимость присутствия оксида азота на ранних стадиях формирования примордия [17]. Эти данные свидетельствуют в пользу предположения об участии NO в передаче сигнала от ауксинов на растворимую гуанилатциклазу, что обеспечи-

вает активацию деления и дифференциации клеток [17].

Кроме появления множества корневых волосков, нитропруссид натрия стимулировал образование боковых и дополнительных корней (данные не представлены), что соответствует результатам работ других авторов [13–18]. В пользу того, что NO является индуктором морфогенетических ответов, стимулирующим рост тканей растения, свидетельствует тот факт, что прирост длины корней *A. thaliana* изменялся в ответ на обработку нитропруссидом натрия в диапазоне концентраций 10–500 мкМ в течение 24 ч.

Было отмечено выраженное стимулирующее влияние нитропрусида натрия на удлинение корней, что является сходным с ранее обнаруженным усилением роста первичных корней кукурузы под действием ауксинов [14].

Влияние нитропрусида натрия на организацию кортикальных микротрубочек в корнях *A. thaliana*. Обработка нитропруссидом натрия корней *A. thaliana* вызывала не только их морфологические изменения, но и нарушение ориентации кортикальных микротрубочек в клетках некоторых ростовых зон корня. Ориентация кортикальных микротрубочек в эпидермальных клетках и клетках коры является специфической для корневого апекса и ростовых зон корня: меристемы, растяжения и дифференциации (рис. 3 и 4, см. вклейку). Так, микротрубочкам клеток корневого чехлика свойственна неупорядоченная ориентация (рис. 4, I). В эпидермальных клетках меристематической зоны корня кортикальные микротрубочки представлены близко прилежащими друг к другу параллельными рядами, расположенными непосредственно под цитоплазматической мембраной перпендикулярно к основной оси корня (рис. 3, б и 4, I). На стадии интерфазы в клетках меристемы различимы также и эндоплазматические микротрубочки, радиально отходящие от ядра (рис. 3, а). В эпидермальных клетках зоны растяжения кортикальные микротрубочки ориентированы поперечно (рис. 3, д и 4, II) и косо (рис. 4, II) относительно основной оси корня.

В клетках зоны дифференциации микротрубочки приобретают косую, а в более отдаленных от корневого апекса клетках — продольную

ориентацию [40]. В атрихобластах кортикальные микротрубочки имеют косую ориентацию (рис. 3, е). В развивающихся трихобластах кортикальные микротрубочки ориентированы неупорядоченно, а в зрелых корневых волосках — продольно (рис. 3, з и 4, III). Ранее было показано, что неупорядоченная ориентация динамически нестабильных кортикальных микротрубочек позволяет им направлять рост корневых волосков [41, 42].

При сравнении ориентации микротрубочек в корнях необработанных и обработанных нитропруссидом натрия проростков *A. thaliana* обнаружено, что донор NO в концентрации 250 мкМ (24 ч) обуславливал изменение исходной поперечной ориентации кортикальных микротрубочек на хаотическую в эпидермальных клетках зоны растяжения (рис. 5, а, см. вклейку). Наряду с наблюдаемой реориентацией в зоне растяжения кортикальные микротрубочки эпидермальных клеток меристематической зоны корня и зоны дифференциации (рис. 5, б), а также клеток коры сохраняли исходную ориентацию. В корневых волосках при обработке нитропруссидом натрия в концентрации 250 мкМ микротрубочки еще присутствовали, но их ориентация была неупорядоченной (рис. 5, б) по сравнению с ориентацией микротрубочек в корневых волосках необработанных проростков (рис. 3, з).

Более выраженное влияние нитропрусида натрия (250 мкМ) имело место при длительной обработке проростков в течение 48 ч. В этом случае в эпидермальных клетках и клетках коры зоны растяжения, значительно укороченной, кортикальные микротрубочки были ориентированы продольно (рис. 5, в, з).

В клетках зоны дифференциации микротрубочки приобретали хаотическую ориентацию (рис. 5, д). Следует отметить, что при этом количество корневых волосков значительно увеличивалось по сравнению с количеством волосков у контрольных проростков, однако микротрубочки в них не были видны (рис. 5, д). В то же время в эпидермальных клетках меристематической зоны корня и в клетках корневого чехлика сохранялась исходная ориентация микротрубочек.

Нитропруссид натрия в концентрации 500 мкМ вызывал изменение поперечной ориен-

тации кортикальных микротрубочек на неупорядоченную в эпидермальных клетках зоны растяжения уже через 4 ч после обработки (рис. 6, а, б, см. вклейку).

Спустя 24 ч после обработки изменение ориентации кортикальных микротрубочек на продольную было отмечено в эпидермальных клетках (рис. 6, в), а также клетках коры зоны растяжения (рис. 6, г). Для клеток меристематической зоны корня корневого апекса (рис. 6, д), а также атрихобластов (рис. 6, е) и клеток коры зоны дифференциации характерным являлось сохранение исходной ориентации микротрубочек. Как уже отмечалось, количество корневых волосков, образовавшихся через 24 ч после обработки донором в концентрации 500 мкМ, было значительно большим по сравнению с контролем, однако их рост был замедленным и останавливался на стадии примордия, а микротрубочки в них отсутствовали (рис. 6, е).

Обработка проростков нитропруссидом натрия в концентрации 500 мкМ на протяжении 48 ч также приводила к реориентации кортикальных микротрубочек в некоторых клетках корня.

Как и в случае длительной обработки нитропруссидом натрия в концентрации 250 мкМ, при 48-часовой обработке нитропруссидом натрия в концентрации 500 мкМ видимых изменений организации и ориентации микротрубочек в корневом апексе и клетках меристемы не наблюдалось (рис. 6, ж). Однако ориентация кортикальных микротрубочек в эпидермальных клетках зоны растяжения была хаотичной и продольной, в отдельных клетках микротрубочки отсутствовали вовсе (рис. 6, з). В некоторых трихобластах и атрихобластах зоны дифференциации кортикальные микротрубочки также отсутствовали, а в клетках коры зоны дифференциации обнаружены микротрубочки, ориентированные хаотично (рис. 6, и). В корневых волосках микротрубочки были полностью деполимеризованы.

Наблюдаемые изменения ориентации микротрубочек при обработке проростков *A. thaliana* нитропруссидом натрия согласуются с морфологическими изменениями корней. Формирование значительного количества корневых волосков с короткими неравномерными проме-

жутками между ними предположительно может возникать вследствие реориентации кортикальных микротрубочек в трихобластах. Известно, что роль кортикальных микротрубочек при формировании корневых волосков заключается в направлении их роста [43], в то время как актиновые микрофиламенты необходимы для образования примордия [44]. Реориентация микротрубочек обеспечивает развитие корневых волосков [45], но детальные механизмы этого процесса все еще не изучены. Возможно, такая реориентация достигается посредством полимеризации новых микротрубочек по механизму тредмиллинга [46].

Поскольку известно, что ауксин является фактором, приводящим к рандомизации микротрубочек и последующей инициации появления корневых волосков у *Lactuca sativa* L. [28, 44] и у *Zea mays* L. [47], а NO может быть вовлечен в реализацию сигнальных каскадов ауксина [18], можно предположить, что NO задействован в регуляции процессов дифференциации клеток корня, в том числе и посредством реориентации кортикальных микротрубочек. Обработка проростков нитропруссидом натрия в концентрации 500 мкМ на протяжении 48 ч способствовала появлению корневых волосков, рост которых останавливался на стадии примордия.

Возможным объяснением подобных морфологических изменений является утрата микротрубочками способности направлять рост корневых волосков, что в свою очередь может проявляться вследствие усиления нитротирозилирования α -тубулина, вызванного обработкой экзогенным донором оксида азота (II). Исследования на культурах животных клеток свидетельствуют о том, что нитротирозилирование α -тубулина клеток эпителиальной карциномы легких линии A549 у мышей приводит к их необратимым морфологическим изменениям [31]. В то же время другая группа исследователей выяснила, что нитротирозилирование α -тубулинов животных клеток линий CHO-7, HeLa, NIH-3T3 и A549 не вызывает морфофункциональных нарушений клеток [33]. Поэтому роль нитротирозилирования α -тубулина растений требует дальнейших исследований.

Первым шагом к пониманию значения нитротирозилирования α -тубулина растений

было создание нами пространственной модели нитротирозилированного α -тубулина *Eleusina indica* (L.) Gaerth [35]. Авторами высказано предположение, что нарушение цикла тирозилирования/детирозилирования α -тубулина вследствие встраивания 3-нитротирозина в его С-концевой домен нарушает взаимодействие субъединиц тубулина как друг с другом, так и с белками, ассоциированными с микротрубочками [35].

Выводы. Обработка экзогенным донором оксида азота (NO), нитропруссидом натрия, проростков *A. thaliana* приводит к изменениям скорости роста первичных корней и их морфологии, индуцируя образование новых корневых волосков в зоне дифференциации. Обнаружено что кортикальные микротрубочки в эпидермальных клетках зоны растяжения являются наиболее чувствительными к действию нитропрусида натрия, который вызывает изменение их исходной ориентации на хаотическую, косую или продольную в зависимости от концентрации и времени обработки. На основании полученных данных представляется возможным предположить, что оксид азота опосредует процессы роста и развития корня *A. thaliana*, которые обеспечиваются реориентацией кортикальных микротрубочек, вероятно, посредством нитротирозилирования тубулина.

A.I. Yemets, Yu.A. Krasylenko,
Ya.A. Sheremet, Ya.B. Blume

MICROTUBULE REORGANIZATION
AS A RESPONSE TO REALIZATION OF NO (II)
SIGNALS IN PLANT CELL

Effects of exogenic NO donor, sodium nitroprusside, on orientation and organization of cortical microtubules in *Arabidopsis thaliana* root cells that express GFP-MAP4 were studied *in vivo*. It was found that sodium nitroprusside treatment (10–500 μ M, 24 h) caused the acceleration of primary root growth and enhanced initiation of root hairs in differentiation zone. The influence of sodium nitroprusside revealed in alterations of cortical microtubules orientation and organization in different types of cells of *A. thaliana* root. The most sensitive to sodium nitroprusside exposure were microtubules in epidermal cells of elongation zone where native transverse orientation of cortical microtubules turned into random, oblique or longitudinal relatively to primary root axis. We suppose that NO as one of the intracellular secondary messengers triggers cells differentiation by cortical microtubules reorientation possibly via tubulin nitrotyrosination.

A.I. Yemets, Yu.A. Krasylenko,
Ya.A. Sheremet, Ya.B. Blume

РЕОРГАНІЗАЦІЯ МІКРОТРУБОЧОК
ЯК ВІДПОВІДЬ НА РЕАЛІЗАЦІЮ СИГНАЛЬНИХ
КАСКАДІВ ОКСИДУ АЗОТУ (II)
В РОСЛИННІЙ КЛІТИНІ

Досліджено вплив донора NO, нітропрусида натрію, на організацію кортикальних микротрубочок в клітинах коренів *Arabidopsis thaliana*, що експресують GFP-MAP4 *in vivo*. Встановлено, що обробка нітропруссидом натрію (10–500 мкМ, 24 год) прискорювала темпи росту первинних коренів і посилювала утворення корневих волосків в зоні диференціації. Показано, що під впливом нітропрусида натрію також змінюються орієнтація та організація микротрубочок в різних типах клітин ростових зон кореня *A. thaliana*. Найбільшу чутливість до дії нітропрусида натрію виявили епідермальні клітини зони розтягу, де поперечна орієнтація микротрубочок змінювалась на невідповідну, косу або поздовжню відносно основної вісі кореня. Припускається, що NO, приймаючи участь у диференціації клітин, може викликати реорієнтацію кортикальних микротрубочок шляхом нітротирозилування тубуліну.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Neill S.J., Desikan R., Hancock J.T. Nitric oxide signalling in plants // *New Phytol.* – 2003. – **159**. – P. 11–35.
2. Planchet E., Gupta K.J., Sonoda M., Kaiser W. M. Nitric oxide emission from tobacco leaves and cell suspensions: rate limiting factors and evidence for the involvement of mitochondrial electron transport // *Plant J.* – 2005. – **41**. – P. 732–743.
3. Oaks A. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation // *Can. J. Bot.* – 1994. – **72**. – P. 739–750.
4. Stöhr C., Strube F., Marx G., Ullrich W.R., Rockel P. A plasma membrane-bound enzyme of tobacco roots catalyses the formation of nitric oxide from nitrite // *Planta.* – 2001. – **212**. – P. 835–841.
5. Meyer C., Stöhr C. Nitrate reductase and nitrite reductase // *Advanced in photosynthesis and respiration. V. 12. Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon metabolism* / Eds C. Foyer, G. Noctor. – Dordrecht : Kluwer Acad. Publ., 2002. – P. 49–62.
6. Vaucheret H., Kronenberger J., Lépingle A., Vilaine F., Boutin J.P., Caboche M. Inhibition of tobacco nitrite reductase activity by expression of antisense RNA // *Plant J.* – 1992. – **2**. – P. 559–569.
7. Delledonne M., Zeier J., Marocco A., Lamb C. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2001. – **98**. – P. 13454–13459.
8. Guo F.Q., Okamoto M., Crawford N.M. Identification of

- a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signalling // *Science*. – 2003. – **302**. – P. 100–103.
9. Bethke P.C., Badger M.R., Jones R.L. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues // *Plant Cell*. – 2004. – **16**. – P. 332–341.
 10. Cooney R.V., Harwood P.J., Custer L.J., Franke A.A. Light-mediated conversion of nitrogen dioxide to nitric oxide by carotenoids // *Environ. Health Persp.* – 1994. – **102**. – P. 460–462.
 11. Ötvös K., Pasternak T.P., Dudits D., Domoki M., Dorjgotov D., Szűcs A., Bottka S., Dudits D., Fehér A. Nitric oxide, a signalling molecule in plant cell reactivation // *BMC Plant Biol.* – 2005. – **5**. – P. 527–529.
 12. Simpson G.G. NO in flowering // *Bioessays*. – 2005. – **27**. – P. 239–324.
 13. Creus C., Graziano M., Casanovas E., Pereyra M., Simontacchi M., Puntarulo S., Barassi C., Lamattina L. Nitric oxide is involved in the *Azospirillum brasilense*-induced lateral root formation in tomato // *Planta*. – 2005. – **221**. – P. 297–303.
 14. Gouve A., Souza J.F., Magalhaes A.C.N., Martins I.S. NO-releasing substances that induce growth elongation in maize root segments // *Plant Growth Regul.* – 1997. – **21**. – P. 183–187.
 15. Pagnussat G.C., Simontacchi M., Puntarulo S., Lamattina L. Nitric oxide is required for root organogenesis // *Plant Physiol.* – 2002. – **129**. – P. 954–956.
 16. Pagnussat G.C., Lanteri M.L., Lamattina L. Nitric oxide and cyclic GMP are messengers in the indole acetic acid-induced adventitious rooting process // *Plant Physiol.* – 2003. – **132**. – P. 1241–1248.
 17. Correa-Aragunde N., Graziano M., Lamattina L. Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato // *Planta*. – 2004. – **218**. – P. 900–905.
 18. Correa-Aragunde N., Graziano M., Chevalier C., Lamattina L. Nitric oxide modulates the expression of cell cycle regulatory genes during lateral root formation in tomato // *J. Exp. Bot.* – 2006. – **57**. – P. 581–588.
 19. Hausladen A., Stamler J.S. Nitric oxide in plant immunity // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1998. – **95**. – P. 10345–10347.
 20. Modolo L.V., Cunha F.Q., Braga M.R., Salgado I. Nitric oxide synthase-mediated phytoalexin accumulation in soybean cotyledons in response to the *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* elicitor // *Plant Physiol.* – 2002. – **130**. – P. 1288–1297.
 21. Romero-Puertas M.C., Delledonne M. Nitric oxide signalling in plant-pathogen interactions // *Life*. – 2003. – **55**. – P. 579–583.
 22. Beligni M. V., Lamattina L. Is nitric oxide toxic or protective? // *Trends Plant Sci.* – 1999. – **4**. – P. 299–300.
 23. Pedroso M.C., Durzan D.J. Effect of different gravity environments on DNA fragmentation and cell death in *Kalanchoe* leaves // *Ann. Bot.(Lond)*. – 2000. – **86**. – P. 983–994.
 24. Igamberdiev A.U., Hill R.D. Nitrate, NO, and haemoglobin in plant adaptation to hypoxia: an alternative to classic fermentation pathways // *J. Exp. Bot.* – 2004. – **55**. – P. 2473–2482.
 25. De Pinto M.C., Tommasi F., De Gara L. Changes in the antioxidant systems as part of the signalling pathway responsible for the programmed cell death activated by nitric oxide and reactive oxygen species in tobacco Bright-Yellow 2 cells // *Plant Physiol.* – 2002. – **130**. – P. 1–11.
 26. Lamattina L., Garcia-Mata C., Graziano M., Pagnussat G. Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2003. – **54**. – P. 109–136.
 27. Shi S., Wang G., Wang Y., Zhang L., Zhang L. Protective effect of nitric oxide against oxidative stress under ultraviolet-B radiation // *Nitric Oxide*. – 2005. – **13**. – P. 1–9.
 28. Takahashi H., Kawahara A., Inoue Y. Ethylene promotes the induction by auxin of the cortical microtubule randomization required for low-pH-induced root hair initiation in lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings // *Plant Cell Physiol.* – 2003. – **44**. – P. 932–940.
 29. Blume Ya.B., Nyporko A.Yu., Yemets A.I. Nitrotyrosination of α -tubulin: structural analysis of functional significance in plants and animals // *Cell Biology and Instrumentation: UV Irradiation, Nitric Oxide and Cell Death in Plants* / Eds Ya.B. Blume, D.J. Durzan and P. Smertenko. – Amsterdam: IOS Press, 2006. – P. 325–333.
 30. Blume Y.B., Smertenko A.P., Ostapets N.N., Viklický V., Draber P. Post-translational modifications of plant tubulin // *Cell Biol. Int.* – 1997. – **21**. – P. 918–920.
 31. Eiserich J., Estevez A.G., Bamberg T.V., Ye Y.Z., Chumley P.H., Bechman J.S., Freeman B.A. Microtubule dysfunction by posttranslational nitrotyrosination of α -tubulin: A nitric oxide-dependent mechanism of cellular injury // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1999. – **96**. – P. 6365–6370.
 32. Kalisz H.M., Erck C., Plessmann U., Wehland J. Incorporation of nitrotyrosine into α -tubulin by recombinant mammalian tubuline-tyrosine ligase // *Biochem. Biophys. Acta*. – 2000. – **14**. – P. 131–138.
 33. Bisig C.G., Purro S.A., Contin M.A., Barra H.S., Arce C.A. Incorporation of 3-nitrotyrosine into the C-terminus of α -tubulin is reversible and not detrimental to dividing cells // *Eur. J. Biochem.* – 2002. – **269**. – P. 5037–5045.
 34. Chang W., Webster D.R., Salam A.A., Gruber D., Prasad A., Eiserich J.P., Bulinski J.C. Alteration of the C-terminal amino acid of tubulin specifically inhibits myogenic differentiation // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**. – P. 30690–30698.

35. Blume Y.B., Nyporko A., Demchuk O. Nitrotyrosination of plant α -tubulins: potential mechanisms of influence to cellular processes // BMC Plant Biol. – 2005. – 5. – P. 1186–1189.
36. Pedroso M.C., Magalhaes J.R., Durzan D. A nitric oxide burst precedes apoptosis in angiosperm and gymnosperm callus cells and foliar tissues // J. Exp. Bot. – 2000. – 51. – P. 1027–1036.
37. Mathur J., Chua N.-H. Microtubule stabilization leads to growth reorientation in *Arabidopsis* trichomes // Plant Cell. – 2000. – 12. – P. 465–477.
38. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. – 1962. – 15. – P. 473–497.
39. Yemets A., Sheremet Y., Vissenberg K., Van Orden J., Verbelen J.-P., Blume Y.B. Effects of tyrosine kinase and phosphatase inhibitors on microtubules in *Arabidopsis* root cells // Cell Biol. Int. – 2008. – 32. – P. 630–637.
40. Marc J., Grander C., Brincat J., Fisher D.D., Kao T.H., McGubin A.G. A GFP-MAP4 reporter gene for visualizing cortical microtubule rearrangements in living epidermal cells // Plant Cell. – 1998. – 10. – P. 1927–1939.
41. Sieberer B.J., Ketelaar T., Esseling J.J., Emons A.M.C. Microtubules guide root hair tip growth // New Phytol. – 2005. – 167. – P. 711–719.
42. Van Bruaene N., Joss G., Oostveldt P.V. Reorganization and *in vivo* dynamics of microtubules during *Arabidopsis* root hair development // Plant Physiol. – 2004. – 136. – P. 3905–3919.
43. Bibikova T.N., Blancaflor E.B., Gilroy S. Microtubules regulate tip growth and orientation in root hairs of *Arabidopsis thaliana* // Plant J. – 1999. – 17. – P. 657–665.
44. Takahashi H., Kawahara A., Inoue Y. Randomisation of cortical microtubules in root epidermal cells induces root hair initiation in lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings // Plant Cell Physiol. – 2003. – 44. – P. 350–359.
45. Sieberer B., Timmers A.C.J., Lhuissier F.G.P., Emons A.M.C. Endoplasmic microtubules configure the sub-apical cytoplasm and are required for fast growth of *Medicago trunculata* root hairs // Plant Physiol. – 2002. – 130. – P. 977–988.
46. Shaw S.L., Kamyar R., Ehrhardt D.W. Sustained microtubule thead milling in *Arabidopsis* cortical arrays // Science. – 2003. – 300. – P. 1715–1718.
47. Baluska F., Salaj J., Mathur J., Braun M., Jasper F., Samaj J., Chua N.-H., Barlow P.W., Volkman D. Root hair formation: F-actin-dependent tip growth is initiated by local assembly of profilin-supported F-actin meshworks accumulated within expansin-enriched bulges // Dev. Biol. – 2000. – 227. – P. 618–632.

Поступила 17.06.08