

УДК 581.1

ЦИТОСКЕЛЕТ И ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ

М.В. Веспер, М.А. Бочкарёва, Л.П. Хохлова

Аннотация

В обзоре впервые проведён анализ литературных данных и результатов собственных исследований авторов о многостороннем влиянии основных компонентов цитоскелетных структур – микротрубочек (МТ) и микрофиламентов (МФ) на состояние, свойства клеточной воды, процессы её внутри- и межклеточного транспорта, гидравлическую и осмотическую проницаемость клеток растений. Детально рассматриваются данные, свидетельствующие об участии цитоскелетных компонентов в везикулярном транспорте, в том числе аквапориновых белков, и в процессах экзо- и эндоцитоза. Особое внимание уделяется изменениям водоудерживающей способности клеток, вызываемым антицитоскелетными агентами, а также эндогенной регуляции водного обмена растений при взаимодействии цитоскелета с гормонами и нейромедиаторами.

Ключевые слова: водный обмен, цитоскелет, состояние и транспорт воды.

Введение

Исследование физиологической роли цитоскелета в регуляции водного транспорта у растений относится к малоисследованной области клеточной физиологии. Водообмен клеток растений – это ингредиент всего обмена веществ, прежде всего высокоструктурированной цитоплазмы [1], в пространственной и временной организации которой большое значение отводится цитоскелету [2]. Такие основные свойства цитоскелетной сети, как сильная разветвлённость актиновых и тубулиновых филаментов, наличие огромной гидрофильной поверхности, способной взаимодействовать с водой, связь с мембранами и органеллами, участие в жидко- и твердофазном транспорте веществ и, наконец, высокая динамичность и способность МТ и МФ к быстрой сборке и разборке под воздействием различных физико-химических факторов [3–6], могут эффективно действовать на состояние и механизмы транспорта клеточной воды [7, 8]. Вода и цитоплазменные белки представляют собой регуляторную систему, которая влияет не только на структурированность цитоплазмы, но, по-видимому, определяет и адекватные ответы клеток на внешние воздействия.

1. Влияние цитоскелета на состояние и свойства клеточной воды

Первое указание на участие цитоматрикса в процессах внутриклеточного водообмена имеется в работе А.М. Алексеева [1]. Автор, не используя терминов «цитоматрикс» и «цитоскелет», тем не менее, предсказал важность тонких взаимодействий молекул воды с белками цитоплазмы для поддержания структурированности последней, подчёркивая при этом, что вода является одним из

существенных ингредиентов сложной, целостной и подвижной структуры цитоплазмы.

Первые экспериментальные доказательства предполагаемой связи между цитоматриксом и водой имеются в работе Бизлл [9], в которой на основании ЯМР-данных показано, что вода в митотических клетках (S-фазе) более подвижна, чем на других стадиях клеточного цикла, и что это связано с менее развитой ультраструктурной организацией цитоплазмы и прежде всего цитоскелета. По мнению автора, сокращение поверхности цитоматрикса ведет к увеличению количества клеточной воды. И.А. Гамалей с сотр. [10] также предполагают, что водоудерживающие силы цитоплазматического матрикса могут обуславливаться наличием многочисленных поверхностей раздела внутри протопластов. Бартоло и Картер [11] придерживаются точки зрения о том, что при сборке МТ происходит их дегидратация. Действительно, в работе [12] описан экспериментальный факт об освобождении части воды от тубулиновых белков при объединении их в МТ *in vitro*. Это мнение противоречит имеющимся данным о гидратационном (матричном) эффекте цитоскелетных структур на окружающую воду.

Ещё одно доказательство взаимосвязи цитоскелета с плазмалеммой и клеточной водой представлено в работе Б.Н. Исабекова и О.А. Красавцева [13]. Авторы показали, что колхицин ускорял обезвоживание протопластов, полученных из клеток коровой паренхимы бузины красной, по мере возрастания осмоляльности наружного раствора, и объяснили этот факт тем, что разрушение взаимодействующих с плазмалеммой МТ ослабляет её механические свойства и тем самым снижает сопротивляемость протопластов к обезвоживанию.

Комис с сотр. [14] установили, что обработка клеток кончика корня *Triticum turgidum* раствором маннита в течение 30 мин индуцирует дезинтеграцию МТ в плазмолизированных протопластах, где появляется множество атипичных кортикальных, эндоплазматических макротрубочек (35 нм в диаметре). Следовательно, гиперосмотический стресс вызывает деструкцию МТ и их замену тубулиновыми макротрубочками большего размера. При изучении в клетках листьев *Chlorophyton comosum* плазмолиза [15] выявлено его влияние на обширную реорганизацию актиновых филаментов цитоскелета, что, в свою очередь, сказывается на форме и объёме протопластов.

Клефт [16] предположил, что свойства значительной части цитоплазматической воды (связывание и растворяющая способность) могут быть изменены за счёт связей с цитоматриксом, в частности, в результате сборки и разборки элементов цитоскелета, что сопровождается изменением поверхностей, контактирующих с водой. При этом не исключается и обратное влияние, когда процессы ассоциации и диссоциации цитоскелетных структур могут зависеть от свойств клеточной воды. Автор исходил из того, что цитоматрикс, представляя собой сетчатую, сильно разветвлённую в водной цитоплазме структуру, имеет огромную гидратируемую поверхность. Было рассчитано, что локализованный на этой поверхности монослой воды достигает 2–4% от всей воды цитоплазмы, а при допущении полимолекулярной гидратации 33–66% цитоплазматической воды может находиться под влиянием цитоматрикса. В связи с этим автор считает, что существующая ранее точка зрения о том, что в клетках почти вся вода

такая же, как и в разбавленных водных растворах, требует экстенсивного пересмотра, причём «вода и цитоматрикс должны рассматриваться вместе, так как оба фактора соединяют большинство клеточных процессов» [16].

Мнения о том, что вода в клетках в большей степени «упорядочена» и играет роль скорее активного компонента, чем инертного фонового растворителя, придерживается Хамерофф [6]. Вода внутри цитоплазмы живых клеток колеблется между фазами неупорядоченной жидкости (раствор «золь») и упорядоченной твёрдой массы (желатиновый «гель»), которые зависят от полимеризации актинового цитоскелета. Как полагает автор, уменьшение концентрации ионов кальция приводит к полимеризации актина с разными типами «актиновых перекрёстно-связывающих белков», что сопровождается образованием микрофиламентов и разных типов гелей. Гели деполимеризуются обратно в жидкую фазу ионами кальция, активирующими особый (гель-зольиновый) белок, который разрывает актин. Циклам трансформации золь-гель в живых клетках предположительно могут соответствовать циклы рассеивания (золь) и изоляции, то есть сохранение квантового сцепления (гель) в МТ и цитоплазме.

Л.П. Хохлова с сотр. [7] после 3-часовой инкубации проростков озимой пшеницы в растворах ингибиторов полимеризации цитоскелетных белков – цитохалазина Б и колхицина наблюдали снижение водоудерживающей способности (ВС), являющейся показателем термодинамического состояния воды. Одной из причин уменьшения ВС при дезорганизации цитоскелета может быть изменение состояния клеточной воды в результате сокращения общей гидратируемой поверхности филаментов цитоскелета и связанных с ними других макромолекулярных структур.

2. Цитоскелетный контроль водопроницаемости клеточных мембран

Наряду с состоянием воды другим цитоскелетзависимым параметром водообмена клеток является мембранный транспорт воды. К сожалению, до сих пор по этому вопросу экспериментальные данные получены в основном для клеток животных.

Е.С. Снигиревской [17] установлено, что при действии на клетки эпителия мочевого пузыря лягушки вазопрессина (АДГ – антидиуретического гормона) усиливались потоки воды через апикальную плазматическую мембрану, а структурные модификаторы цитоскелета – колхицин, винбластин и цитохалазин Б – ингибировали транспорт воды. Это приводило к уменьшению в мембране доменов с высокой водной проницаемостью, в которых возможно локализируются водные каналы. Одновременно, как показали электронно-микроскопические снимки, происходила деградация МТ и МФ, нарушались их связи с вакуолярной и апикальной мембранами, прекращалось перемещение по клетке вакуолей и, что очень важно, уменьшалось число МТ, несущих на своей поверхности электроноплотные глобулы, из которых, как предполагается, формируются водные каналы в мембране. В то же время при стимуляции водных потоков вазопрессинном количество МТ в клетках эпителия увеличивалось в несколько раз [18]. Эти экспериментальные данные позволили заключить, что МТ и МФ могут участвовать:

- в транспортировке водных каналов с помощью агрефоров и/или гранул;

- в встраивании и перераспределении водных каналов в плоскости апикальной мембраны;
- в перемещении по клетке крупных вакуолей, транспортирующих воду через мембраны [17].

Продолжением этих исследований является работа Я.Ю. Комиссарчика с сотр. [19], в которой представлены результаты экспериментов, полученные при изучении примембранного актинового цитоскелета с помощью электронной и конфокальной микроскопии и иммуноцитохимических методов. Эти результаты свидетельствуют об увеличении осмотической проницаемости эпителия мочевого пузыря лягушки под действием АДГ. Авторы наблюдали смену тонкофибриллярной сети МФ, характерной для контроля, на более глубокую сеть цитоскелета с относительно большими ячейками на фоне усиления транспорта воды через эпителий. На основании этих результатов сделано заключение о том, что в молекулярном механизме увеличения осмотической проницаемости для воды клеток эпителия мочевого пузыря лягушки обязательным звеном является деполимеризация апикально локализованных нитей актина.

В других экспериментах [20] выявлено, что на индуцированный вазопрессинном водный транспорт цитохалазин Д и латрункулин Б, разрушающие МФ, не влияют. При этом МФ не являются необходимыми для инициального движения водных каналов к апикальной стороне мембраны мочевого пузыря жабы, но сеть актиновых микрофиламентов влияет на число водных каналов и их встраивание в апикальные мембраны.

Как известно, транспорт молекул воды через клеточные мембраны может осуществляться путём простой диффузии через липидный бислой [21]. Однако в настоящее время открыты и изучены многочисленные трансмембранные белки-переносчики – аквапорины (AQPs), которые являются высококонсервативной группой мембранных белков с молекулярной массой 20–31 кДа, формирующих узкие мембранные каналы [22, 23] и способствующих движению воды через мембрану согласно градиенту водного потенциала [24].

В растельных клетках аквапорины обнаружены в плазматической мембране (PIP) и тонопласте (TIP). Растения содержат большое количество изоформ этих белков, отличающихся клеточной и тканевой специфичностью. Некоторые из них экспрессируются постоянно, тогда как другие лишь – в ответ на факторы внешней среды, такие, как засуха, засоление и др. [22, 25]. Содержание белков PIP и TIP-семейств в мембранах растительных клеток сильно варьирует. Оно зависит от вида растения, типа ткани, условий водного режима. Большинство растительных AQPs найдено в корнях, например, AQPs PIP_{2:2} и PIP_{2:4} экспрессируются исключительно в корнях [26].

Через водные каналы осуществляется двунаправленный транспорт воды, который определяется физическими условиями среды [27–29]. Данные Гоурауд с сотр. [30] свидетельствуют о том, что после фосфорилирования с-концевой области цитоплазматического домена AQP2 в почках млекопитающих он связывается с белками везикулярной оболочки, и, таким образом, AQP2 в составе везикулы выводится на плазматическую мембрану.

Я.Н. Ампиловой с сотр. [31] установлено, что для плазмалеммы стеблей гороха характерна высокая водная проводимость, но слабая обогащённость ак-

вапоринами. Водная проводимость корней оказалась ниже, но по содержанию аквапоринов она значительно превосходила плазмалемму стеблей. Авторами предполагается, что изменение осмотической водной проницаемости плазмалеммы корней, вызванное действием окислителя и восстановителей SH-групп, может быть связано с изменением статуса SH-групп пары цистеинов в молекуле аквапорина, локализованных на N-конце ориентированной в апопласт петли С.

Вестерн-блот-анализ с использованием иммунной сыворотки к консервативной последовательности аквапоринов PIP-типа выявил их наличие как в плазмалемме, так и во внутриклеточных мембранах [32]. Авторы методом непрямой иммунофлуоресцентной микроскопии показали, что мигрирующие окрашенные участки плазмалеммы после гипотонического и гипертонического воздействий были обеднены аквапоринами PIP-типа, и при индуцировании осмотического стресса содержание аквапоринов этого типа в плазматической мембране не менялось. Сделано предположение, что изменение количества PIP-аквапоринов в плазмалемме не связано с реакцией растительной клетки на осмотический стресс.

В работе [33] исследовали гидравлическую проницаемость корней двух разных по чувствительности к охлаждению генотипов кукурузы. Осмотическая гидравлическая проницаемость была выше у выносливых к холоду растений (5 °С, 54 ч), и одновременно было обнаружено повышение ингибирования осмотической проводимости воды, вызванное хлоридом ртути во время обработки охлаждением, по-видимому за счёт возможного увеличения вклада аквапоринов в проводимость воды в корнях выносливых к охлаждению растений. Эти результаты согласуются с экспериментами, указывающими на неодинаковую проницаемость плазматических мембран в клетках разных зон главного корня *Zea mays*, которая может коррелировать с экспрессией некоторых генов аквапоринов (*Zm PIP*) [34]. Ингибирование активности AQPс с помощью HgCl₂ и флоретина наводит авторов на мысль о включении AQPс в регуляцию проницаемости клеток для молекул воды.

На активность аквапоринов важное влияние могут оказывать белок-белковые взаимодействия с различными клеточными компонентами, в том числе и с цитоскелетом [23], кальмодулином и другими белками [35].

Значение актиновых и тубулиновых филаментов в водопроницаемости мембран растительных клеток обсуждается в немногих работах. Вайн и Тазава [36] изучали участие актинового цитоскелета в полярном транспорте воды в клетках междоузлий харовых водорослей. Оказалось, что цитохалазины Б и Е повышали сопротивление эндоосмосу воды (уменьшали гидравлическую проницаемость на эндоосмотическом конце) и, таким образом, препятствовали поступлению воды внутрь клетки. Как считают авторы, в норме кортикальный актиновый цитоскелет, взаимодействуя с плазмалеммой, регулирует полярный транспорт воды в результате уменьшения гидравлического сопротивления на эндоосмотической стороне. Л.П. Хохлова с сотр. [37] обнаружили эффект модификаторов структуры цитоскелета (оризалина и колхицина) на водный транспорт в растительных тканях.

В то же время для клеток животных были получены прямые доказательства участия цитоскелетных структур в движении AQPс и их чётком клеточном рас-

пределении. Было показано, что деполимеризация МТ и МФ изменяет субклеточную локализацию AQP1 и AQP2 [38, 39]. Недавние исследования молекулярных механизмов, регулирующих движение AQP2, указали на важную роль актинового цитоскелета в вазопрессин-стимулированной вставке AQP2 в апикальную мембрану животных клеток [40].

Что касается растений, то имеются результаты экспериментов, в которых для выяснения вклада цитоскелета в осмотическую водную проницаемость плазмалеммы в качестве удобной физиологической модели были использованы протопласты корней кукурузы *Black Maxican Sweet*. Измерения коэффициента осмотической водопроницаемости (P_f) протопластов проводили на оригинальной автоматизированной системе, позволяющей регистрировать набухание или сжатие протопластов соответственно в гипо- или гиперосмотической среде во времени. При этом измеряли три параметра – начальное значение P_f , скорость изменения P_f (наклон P_f) и задержку P_f (неизменяемость P_f), которые отражают изменения в числе и/или активности аквапоринов в плазматической мембране. Показано, что разрушение или стабилизация МТ в протопластах, предварительно обработанных оризалином или таксолом, вызывали неустойчивое повышение начального P_f (в течение 15 с). Однако индуцированная цитохалазином Д деполимеризация актина, также как деструктивное действие холодового шока (3 °С, 3–8 ч) на протопласты, которое (по данным иммуновизуализации) частично разрушало актиновый и почти полностью тубулиновый цитоскелет, приводили к постепенному повышению P_f и более высоким значениям этого показателя, чем в контроле. Ингибиторы активности аквапориновых белков – флоретин и хлорид ртути – не влияли на контрольные протопласты, но достоверно изменяли относительный объём и снижали осмотическую проницаемость протопластов, обработанных антицитоскелетными агентами или холодом. Эти результаты указывают на включение аквапоринов в регуляцию P_f и на функциональную взаимосвязь аквапоринов с цитоскелетом. Предполагается, что цитоскелетный контроль водопроницаемости клеток опосредуется через изменение активности AQPs и/или транспорта AQPs-содержащих везикул в плазматическую мембрану [41].

3. Участие цитоскелетных структур в везикулярном транспорте, процессах эндо- и экзоцитоза

В последнее время обсуждается вопрос о включении цитоскелетных структур в везикулярный транспорт, процессы экзо- и эндоцитоза различных веществ, в том числе и воды.

Участие МТ в экзо- и эндоцитозе и в транспортировке везикул подтверждается многими исследованиями. При деполимеризации этих цитоскелетных структур прекращается движение секреторных везикул и замедляется секреция хромогранина Б у человека [42], ингибируется активность работы эпителиальных железистых клеток [43].

Существуют данные об участии МТ в транспорте веществ из аппарата Гольджи [44]. Шморанзер и Саймон [45] на основании результатов опытов, проведённых на фибробластах крыс, описали участие МТ в везикулярном транспорте не только на периферию, но и к участкам встраивания в плазматическую мем-

брану, причём каждая везикула одновременно могла быть связана сразу с несколькими тубулиновыми компонентами цитоскелета, которые влияют на морфологию везикул, вызывая образование этих структур в виде вытянутых трубочек.

Кроме того, в колхицин-обработанных клетках в результате разборки МТ блокируется эндоцитоз, что сопровождается субклеточным перераспределением аквапоринов [38]. После обработки колхицином аквапорин gr330 оказался на многочисленных везикулах, распределённых по всей цитоплазме, тогда как в норме его локализация ограничивалась эндоцитозным аппаратом. Аквапорин-1 после разрушения цитоплазматических МТ колхицином также располагался на маленьких везикулах и в плазматической мембране, в то время как до действия ингибитора присутствовал исключительно в цитоплазматической мембране.

Первые свидетельства о взаимосвязи МФ с транспортом везикул получены в опытах с использованием ингибиторов актинового цитоскелета. При обработке клеток цитохалазином Б прекращался выход из аппарата Гольджи белка везикулярного стоматис вируса G (VSVG) [46], а латрункулин Б и ботулин ингибировали перенос белка между эндоплазматическим ретикулумом и аппаратом Гольджи [47].

Взаимосвязь актинового цитоскелета с работой секреторного пути подтверждают данные о наличии большого числа ассоциированных с аппаратом Гольджи актинсвязывающих белков. К ним относят сам актин [48], спектрин [49], анкирин [50], центрактин [51], тропомиозин [49], дребин [52] и актинсвязывающий белок млекопитающих mAbp1 [53]. Окамото с сотр. [54] обнаружили наличие на мембранах везикул в форме вытянутых трубочек белка Iasp-1, который присоединяется к динамину – полипептиду, регулирующему отрыв везикул от плазматической мембраны к МФ [55], и таким образом осуществляет взаимодействие между везикулярным транспортом и цитоскелетом. Моторный белок актина – миозин-1, помимо переноса везикул, участвует также в их включении в состав плазматической мембраны [56].

По мнению Стамнес [49], важнейшей ролью актина в транспорте белка является «вырезание» везикулярных структур и их транслокация от органеллы-донора к органелле-акцептору.

Одни исследователи животных клеток отводят тубулиновому цитоскелету ведущую роль в транспорте везикул аппарата Гольджи к плазмалемме, а актиновому цитоскелету – во встраивании этих везикул в мембрану [45]. Другие авторы полагают, что актин осуществляет везикулярный транспорт на «короткие» дистанции вблизи плазматической мембраны [57, 58]. В растительных же клетках внутриклеточные движения чаще всего зависят от актиновых филаментов и происходят с помощью миозинов (8 и 11 классов) – молекулярных моторов, обеспечивающих многие виды движения вдоль актиновых МФ [59]. Имеются данные относительно участия актиновых компонентов в транспорте везикул из аппарата Гольджи в растительных клетках [60]. МФ в большинстве случаев служат рельсами для движения везикул аппарата Гольджи к быстрорастущим зонам при апикальном росте [61], а также участвуют в интернализации переносчиков ауксина, регулирующей полярный транспорт гормона [62] и эндоцитоз [63]. Плотные субпопуляции актина могут препятствовать движению

секреторных пузырьков к плазматической мембране растущих клеток, обеспечивая неравномерность роста и создание специфических форм клеток [64, 65].

За последние десятилетия произошёл значительный прогресс в изучении эндоцитоза растений. Например, Самаи с сотр. [66] обсуждают значение взаимодействий между эндоцитозом, актиновым цитоскелетом и митогенактивированными протеинкиназами (МАРКs) у млекопитающих, предполагая при этом, что в растительных клетках актиновая сеть является опорой (своеобразным каркасом), которая может передавать сигналы с помощью МАРКs.

Таким образом, несмотря на большое количество ещё невыясненных фактов относительно участия цитоскелетных структур в везикулярном транспорте, процессах экзо- и эндоцитоза в растительных клетках, в этой области произошёл существенный прогресс.

4. Межклеточный транспорт воды и цитоскелет

Известно, что водообмен в растительных тканях может осуществляться тремя путями:

- 1) по апопласту – свободному пространству клеточных стенок и межклетникам;
- 2) по симпласту, включающему протопласты соседних клеток, объединённых межклеточными каналами – плазмодесмами в единую систему;
- 3) по трансмембранному пути – из клетки в клетку с выходом через вакуоли и плазматическую мембрану в межклеточное пространство.

Второй и третий путь относятся к межклеточному транспорту воды.

Плазмодесмы, выстланные плазматической мембраной, содержат центральный элемент – десмотрубочку, образованную мембраной эндоплазматического ретикулума [67], способную переходить в другие эндомембраны, что обеспечивает единое мембранное пространство растительной ткани [68]. В работах О.В. Волобуевой с сотр. [69] и Г.А. Великанова с сотр. [70] с использованием импульсного метода ЯМР представлены косвенные доказательства существования двух транспортных каналов в плазмодесмах. Таким образом, есть основания считать, что в растительной ткани имеется не только цитоплазматический, но и вакуолярный симпласты, соединяющие в единые надклеточные континуумы цитоплазматические и вакуолярные (эндоплазматические) компартменты соседних клеток соответственно.

По современным представлениям, плазмодесмы содержат внутри цитоплазматического кольцевого сечения АТФ-зависимые актомиозиновые сфинктеры, контролирующие диаметр вакуолярной десмотрубочки, соединяющей вакуоли соседних клеток [68]. Результаты иммунофлуоресцентной и электронной микроскопии при использовании ингибитора контрактильного белка – миозина (1,2-бутандион-монооксида) – подтвердили наличие актомиозинового сфинктера в шейных сужениях плазмодесм [71].

Исследователи склонны считать, что не только внутреннему, локализованному в цитоплазматическом кольце актомиозиновому сфинктеру, но и внешнему принадлежит важная роль в регуляции просвета шейных сужений плазмодесм – быстрым, обратимым отложениям каллозы или фенольных соединений вокруг шейного сужения. При этом актомиозиновый сфинктер, в частности

актин, может заякориваться и стабилизировать трансмембранные белки, удерживая их в местах шейных сужений, что, в свою очередь, стабилизирует компоненты внешнего сфинктера, которые закрепляются на этих же трансмембранных белках снаружи [72]. За счёт такой связи актомиозиновый сфинктер может сжимать и разжимать не только просвет между двумя мембранами внутри цитоплазматического кольца плазмодесм, но и воздействовать на внешний сфинктер [71].

О.В. Волобуевой с сотр. [69] и Г.А. Великановым с сотр. [70] разработан принципиально новый подход к изучению водопроводимости двух транспортных каналов плазмодесм, основанный на компьютерном анализе мультикомпонентного диффузионного затухания намагниченности стимулированного эха в такнях корней пшеницы, и была объяснена природа трёх коэффициентов самодиффузии воды (КСД) – D_1 , D_2 и D_3 . Выдвинуто представление о регуляции межклеточного транспорта воды по плазмодесмам, согласно которому нарастающее обезвоживание вызывает компенсаторное перераспределение диффузионных потоков воды между цитоплазматическим и вакуолярным симпластами в направлении усиления по первому пути, а также притока воды в апопласт вследствие повышения проницаемости плазмалеммы [73]. В этих же работах также исследовалась водопроницаемость двух транспортных каналов плазмодесм при действии ингибитора полимеризации актиновых филаментов цитоскелета цитохалазина Б. Авторами показано, что этот препарат, с одной стороны, усиливал перенос воды по цитоплазматическому симпласту, по-видимому, вследствие деструкции актомиозиновых сфинктеров, а с другой – снижал проводимость вакуолярного симпласта, возможно, и перенос воды в апопласт. Полученные данные создают основу для нового методического подхода к одновременному контролю функционального состояния двух транспортных каналов плазмодесм при полном отсутствии какого-либо раневого воздействия на такое состояние.

Было изучено влияние хлорида ртути (ингибитора AQP) на диффузионный перенос воды в корнях кукурузы [74]. Блокирование водных каналов $HgCl_2$, как и водный стресс, вызывало снижение скоростей диффузии воды в 1.5–2 раза. Характерно, что подвешенные водному стрессу корни не были чувствительны к действию $HgCl_2$. Результаты интерпретировались с точки зрения перераспределения потоков воды по разным путям переноса в растительной ткани. Сделано предположение о возможной обратимой регулировке движения воды по разным транспортным путям, их переключении в то или иное «русло» в условиях блокирования водных каналов хлоридом ртути, а также в ответ на водный стресс.

Следующая серия опытов была посвящена особенностям межклеточного транспорта воды в разных зонах корня кукурузы. При действии осмотического и гормонального стрессоров в меристеме корня увеличивалась трансклеточная водопроницаемость (по симпласту) [75]. В зоне растяжения при осмотическом стрессе преобладающим становился апопластный водообмен, влияние других стрессоров различалось: абсцизовая кислота повышала водопроницаемость вакуолярного симпласта, а салициловая кислота, напротив, снижала водопроводимость как цитоплазматического, так и вакуолярного канала плазмодесм. По мне-

нию И.Ф. Ионенко и А.В. Анисимова [76], в процессе развития клеток, то есть при переходе их меристематической зоны в зону растяжения и далее – в зону дифференциации клеток, меняется акцент в преимущественном использовании того или иного пути (симпласт, апопласт, трансмембранный путь) на участке радиального транспорта воды в корне. Симпластный перенос, по-видимому, более предпочтителен в апексе корня. При растяжении клеток повышается роль трансмембранного пути, опосредованного аквапоринами и чувствительного к действию хлорида ртути. Модификации клеточных стенок в эндодерме (отложение суберина), возникающие при удалении от кончика корня и понижающие вклад апопластного транспорта, могут быть причиной уменьшения диффузионного переноса воды.

В другой работе [77] высказаны соображения о роли аквапоринов в эффекте АБК на водопроницаемость тонопласта и о физиологическом значении больших концентраций гормона, которые необходимы для активации пропускной способности вакуолярного симпласта как важного транспортного русла для воды в стрессовых условиях. Г.А. Великановым [78] представлен и экспериментально проверен методический подход контроля самодиффузии молекул воды между вакуолями соседних клеток в корне кукурузы посредством ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля. Этот метод основан на том, что при больших временах наблюдения самодиффузии, когда молекулы воды апопласта и цитоплазмы уже отрелаксировали и фактически не принимали участия в формировании сигнала протонного эха, изменения наклона начального участка диффузионного затухания не зависят от водопроницаемости вакуолярной мембраны, а контролируются исключительно изменениями водопроницаемости межвакуолярного пути по десмотрубочкам.

Таким образом, на современном этапе возник новый виток исследований структурно-функциональной организации транспортной системы высших растений. Предполагается возможное участие в межклеточном переносе воды через плазмодесмы двух транспортных каналов – цитоплазматического и вакуолярного симпластов.

5. Эндогенная регуляция водного обмена растений при взаимодействии цитоскелета с гормонами и нейромедиаторами

Транспорт воды в растениях может осуществляться с непосредственным участием энергозависимых двигательных систем паренхимных клеток. Как известно, корень не только поглощает необходимую для жизнедеятельности растения воду, но нагнетает её в побеги, развивая при этом корневое давление, которое имеет сложную природу и суммируется из двух составляющих – осмотической и метаболической. Становится всё более очевидным, что метаболическая составляющая формируется благодаря активному участию паренхимных клеток и непосредственно связана с энергозависимыми контрактивными системами последних. Так, В.Н. Жолкевич и Т.В. Чугунова [79] наблюдали уменьшение метаболической составляющей корневого давления у проростков кукурузы после обработки их ингибиторами полимеризации тубулиновых и актиновых белков – колхицином и цитохалазином Б. Сократительные белки, ритмически изменяя объём паренхимных клеток и, тем самым, потенциал давле-

ния в них, в конечном счёте, определяли автоколебательный характер поступления воды в сосуды ксилемы.

Для выяснения важности взаимодействий фитогормонов и нейромедиаторов с белками цитоскелета при регуляции транспорта воды в работах [80, 81] изучали комбинированное действие ацетилхолина, индолилуксусной кислоты (ИУК), гибберелловой кислоты (ГК), кинетина, с одной стороны, и цитохалазина Б и колхицина, с другой, на эксудацию (нагнетающую деятельность) отделённых корней кукурузы. Авторами показано, что колхицин и цитохалазин тормозили эксудацию, а фитогормоны стимулировали её по сравнению с контролем. В присутствии цитохалазина Б и колхицина стимулирующий эффект фитогормонов полностью снимался. Таким образом, активирующее влияние фитогормонов на нагнетающую деятельность корня невозможно без функционирования белков цитоскелета, а в основе этого влияния лежит энергозависимое взаимодействие стимуляторов с сократительными белками. Именно последние обуславливают ритмические микроколебания потенциала давления за счёт изменения диаметра пор в плазмодесмах (открывание и закрывание водных каналов) или даже объёмов клеток (симпласта в целом). Благодаря ритмическим микроколебаниям потенциала давления создаются локальные градиенты водного потенциала на всём пути водного тока, и тем самым реализуется один из механизмов регуляции транспорта воды. В качестве же регуляторов микроколебаний потенциала давления как раз и могут выступать ацетилхолин и фитогормоны.

Предположение, согласно которому именно МФ и МТ являются конечными мишенями, на которые нацелено воздействие фитогормонов при стимуляции ими эксудации, представляется достаточно правдоподобным. Однако неясно, влияют ли фитогормоны на МТ и МФ непосредственно или же их действие опосредованно через вторичные мессенджеры. Для получения ответа на этот вопрос было испытано совместное воздействие на эксудацию фитогормонов (ИУК, кинетина, ГК) со специфическим стабилизатором МФ – фаллоидином и со специфическим стабилизатором МТ – таксолом. При совместном применении каждого из трёх исследуемых фитогормонов с фаллоидином наблюдали полную аддитивность их стимулирующего действия на эксудацию корней. Однако при использовании тех же гормонов с таксолом никакой аддитивности не отмечено. На основании полученных результатов авторы предположили, что все три гормона действуют на МТ непосредственно, а на МФ – опосредованно. Другими словами, при действии фитогормонов на МФ конечную мишень отделяют от рецептора интермедиаты, через которые и осуществляется трансдукция сигнала, МТ же, по-видимому, являются одновременно и мишенью, и рецептором фитогормонов [82, 83].

Применение более специфического ингибитора полимеризации актина – латрункулина Б (ЛАТБ) – приводило к торможению эксудации как целых корней, так и «рукавчиков» (корни проростков кукурузы лишённые центрального цилиндра), причём у последних замедление было выражено сильнее, чем у целых корней. Кроме того, установлено, что ЛАТБ полностью снимал стимулирующее влияние ацетилхолина на эксудацию [84] аналогично тому, как это наблюдалось в опытах с цитохалазином Б. М.М. Пузаковым [85] также было от-

мечено замедление эксудации под влиянием ЛАТБ. В то время как фаллоидин и таксол по отдельности значительно стимулировали эксудацию, а при совместном применении выявлена практически полная аддитивность их стимулирующего действия на интенсивность эксудации. Этот факт свидетельствует о высокой специфичности используемых агентов и об участии как МФ, так и МТ в создании корневого давления.

Исследовалось также комбинированное действие более широкого набора нейромедиаторов (ацетилхолина, норадреналина и адреналина) с таксолом и фаллоидином, которые по отдельности ускоряли эксудацию [86]. При совместной обработке корней ацетилхолином с таксолом или фаллоидином, а также норадреналином с таксолом наблюдалась полная аддитивность их стимулирующего влияния на интенсивность эксудации корней. При использовании норадреналина с фаллоидином и адреналина как с таксолом, так и с фаллоидином практически не отмечено аддитивности (препараты направлены на одну и ту же мишень, поэтому конечный эффект действия одного агента перекрывается влиянием другого). Адреналин, стимулируя эксудацию, более или менее непосредственно воздействует как на МФ, так и на МТ, а норадреналин – лишь на МФ. В то же время норадреналин воздействует на МТ, а ацетилхолин – и на МТ, и на МФ только опосредованно, через промежуточные системы (вторичные мессенджеры). В последнем случае участие нейромедиаторов при передаче сигнала в процессе нагнетания воды проявляется, пожалуй, особенно отчётливо [87].

Имеются предположения об участии F-актина и миозина-II в работе плазмодесм и ситовидных пор во флоэме. Контрактильные образования в форме актомиозиновых колец, по-видимому, могут принимать участие в осмотически опосредованных тургорзависимых процессах и обеспечивать движение ассимилятов по ситовидным трубкам флоэмы при участии поступающей из ксилемы воды [56].

Таким образом, полученные результаты перечисленных выше работ определённо свидетельствуют о непосредственном взаимодействии как МТ, так и МФ с различными нейромедиаторами и фитогормонами в создании корневого давления – нижнего концевой двигателя восходящего водного тока.

6. Индуцируемые антицитоскелетными агентами изменения водоудерживающей способности клеток в связи с индукцией морозостойчивости растений

Одним из важных интегральных параметров водообмена растений является водоудерживающая способность (ВС) клеток/тканей. Сохранение жизнедеятельности растений при изменяющихся условиях среды зависит в большой степени от способности клеток удерживать воду. В частности, повышение ВС, происходящее в клетках озимых злаков в период осеннего закаливания [88], является существенным защитным механизмом, ограничивающим пороговое обезвоживание клеток при действии морозов. ВС определяется термодинамическим состоянием воды (водным потенциалом), включающим тургорную, осмотическую и матричную составляющие [89]. Другим фактором, влияющим на ВС, является водопроницаемость мембран. Обычно о ВС судят по количеству воды, выходящей из тканей в гипертонические растворы осмотически активных

веществ. Особое значение ВС приобретает в условиях засухи, пониженной или повышенной температуры, так как этот показатель характеризует способность клеток сопротивляться обезвоживающему действию данных факторов [90].

Согласно результатам исследований [7, 91], непродолжительная обработка проростков озимой пшеницы цитохалазином Б и колхицином приводила к достоверному снижению ВС корней, что указывает на чувствительность водной фазы клеток к ингибиторам цитоскелета и, следовательно, на зависимость ВС тканей от структурной целостности цитоскелета. В основе отмеченного уменьшения ВС при дезорганизации цитоскелетной сети, по-видимому, лежит изменение состояния клеточной воды (повышение водного потенциала), вызванное дегидратационными процессами как филаментов цитоскелета, создающих в цитоплазме вследствие своей сильной разветвлённости большую гидрофильную поверхность [16], так и связанных с ними других клеточных структур. Не менее важной причиной снижения ВС может быть также усиление водопроницаемости мембран, о чём свидетельствует снижение времён спин-спиновой релаксации (T_2) и увеличение эффективного коэффициента самодиффузии воды ($D_{эфф}$), измеренные методом импульсного ЯМР [37] и являющиеся показателями трансмембранного переноса воды [92]. Оризалин (высокоспецифический ингибитор полимеризации тубулиновых белков растительных клеток) также снижал ВС, T_2 и повышал $D_{эфф}$ в листьях и корнях [93]. Учитывая существование физических контактов трансмембранных белков с МТ [94], можно предположить, что оризалин нарушает взаимодействия между водными каналами и кортикальными МТ, и поэтому водопроницаемость плазмалеммы повышается. Ещё одной причиной усиления транспорта воды через мембраны является структурная реорганизация аквапориновых водных каналов из-за нарушения цитоскелет-мембранных контактов и/или везикулярного транспорта и процессов эндоцитоза [8].

В серии опытов с более продолжительным выращиванием растений на растворе оризалина (до 3-х суток) обнаружено повышение ВС корней проростков озимой пшеницы [95, 96]. Такой результат, возможно, обусловлен возрастными особенностями растений и более значительным вкладом в мембранный транспорт реорганизующихся актиновых филаментов, поскольку полимеризованные фрагменты актиновой сети, образующиеся при различных стрессах [97, 98], могут закупоривать водные поры плазматических мембран, что затруднит выход воды из клеток в раствор осмотика, и в результате ВС тканей возрастет. Кроме того, важным моментом может быть изменение направленного функционирования так называемого осмосенсора, предположительно содержащего актиновые филаменты и аквапорины [99], приводящее к замедлению выхода воды из клеток, которое и отразилось в повышении ВС. Эти данные согласуются с экспериментами [73], свидетельствующими о возрастающем при водном стрессе цитохалазин-индуцированном увеличении ВС корней пшеницы, механизм действия которого состоит в ограничении транспорта воды через водные каналы и усилении процессов гелификации МФ при осмотических воздействиях [100].

Несомненный интерес представляют данные экспериментов [96], в которых были выявлены определённые изменения ВС корней при совместном использовании ингибиторов тубулинового и актинового цитоскелета – оризалина и цитохалазина Д (или латрункулина Б) по сравнению с влиянием каждого из

них по отдельности при действии на растения холодового закаливания и абсцизовой кислоты. Автор связывает эти различия в реакции ВС с модификацией актин-микротрубочковых контактов – усилением (при гипотермии) или ослаблением (при АБК).

Результаты исследований [8, 101] позволили авторам установить, что закаливание растений к холоду и обработка их АБК уменьшали чувствительность ВС листьев разных сортов озимой пшеницы к оризалину, в то время как на реакцию ВС корней эти два фактора действовали разнонаправленно (закаливание ослабляло, а АБК усиливала эффект ингибитора). Снижение восприимчивости ВС к оризалину при гипотермии может быть связано с повышением стабильности всего цитоскелета. О последнем свидетельствуют данные иммуноцитохимического анализа по уменьшению деполимеризующего действия замораживания [102] и оризалина [103] на МТ закалённых клеток проростков озимой пшеницы, что сопровождалось образованием плотной сети тубулинового цитоскелета из толстых пучков МТ и увеличением интенсивности их флуоресценции. Наряду с этим происходило усиление полимеризации и актиновых филаментов, также указывающее на их стабилизацию под влиянием низких температур [104]. Степень снижения ингибирующего эффекта оризалина на ВС как закалённых, так и незакалённых растений прямо коррелировала с уровнем морозоустойчивости сорта и была более выраженной в листьях, чем в корнях. Закономерное и последовательное уменьшение восприимчивости водного статуса листьев к деполимеризующему агенту в ряду мало → средне → высокоморозоустойчивый сорт пшеницы позволяет рассматривать эту реакцию, во-первых, как генотипически обусловленную способность сорта к стабилизации системы «цитоскелет – вода» и, во-вторых, как физиологический тест на холодостойкость МТ и морозоустойчивость растений.

Таким образом, впервые была установлена генотипически детерминированная, органо-, сортоспецифическая и АБК-опосредуемая зависимость интегрального физиологического показателя – вододерживающей способности – от целостности и структурной реорганизации цитоскелета, которая обуславливается влиянием основных цитоскелетных структур (МТ и МФ) не только на состояние клеточной воды (водный потенциал), но и осмотическую водопроницаемость плазмалеммы.

Заключение

Принимая во внимание существующие данные о полифункциональной роли актиновых и тубулиновых филаментов, можно заключить, что цитоскелетные структуры, обеспечивая функционирование многих жизненно важных систем, оказывают большое влияние на состояние, свойства и транспорт воды в тканях, клетках и органах растений. Несомненно, что участие цитоскелета в эндогенной регуляции водного обмена растительных клеток связано с его сигнальной функцией, поскольку МТ и МФ являются первичной мишенью различных биотических и абиотических стрессоров. Есть основания полагать, что клеточные ответы и формирование адаптивного потенциала растений во многом опосредуются динамической реорганизацией цитоскелета через изменение водного обмена клеток и тканей (активности и транспорта воды). В целом вы-

яснение роли цитоскелета в водообмене растений заполняет существенный пробел при создании теоретических основ функционирования клеточного матрикса как важнейшей, биосенсорной и наносоразмерной клеточной структуры.

Summary

M.V. Vesper, M.A. Bochkareva, L.P. Khokhlova. Cytoskeleton and Water Exchange of Plants.

The review for the first time presents analysis of literary data and the results of the author's own investigation about the multilateral effects of the main components of the cytoskeleton structures – microtubules (MT) and microfilaments (MF) on the state and properties of cellular water, on its processes of intra- and intercellular transport, hydraulic and osmotic permeability of plant cells was analyzed. Data testifying participation of the cytoskeleton components in the vesicle transport including aquaporin properties and in the processes of exo- and endocytosis are considered in detail. The particular attention is given to the changes of cell water-holding capacity induced by the anticytoskeletal agents and also endogenous regulation plant water exchange by the interaction of the cytoskeleton with the hormones and neuromediators.

Key words: water exchange, cytoskeleton, state and transport of water.

Литература

1. *Алексеев А.М.* Водный режим клеток растения в связи с обменом веществ и структурированностью цитоплазмы. – М.: Наука, 1969. – 36 с.
2. *Фултон А.* Цитоскелет. Архитектура и хореография. – М.: Мир, 1987. – 117 с.
3. *Lloyd C.W.* The plant cytoskeleton: the impact of florescence microscopy // *Ann. Rev. Plant Physiol.* – 1987. – V. 38. – P. 119–139.
4. *Traas J.A.* The plasma membrane – associated cytoskeleton // *The Plant Plasma Membrane.* – Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. – P. 270–292.
5. *Abdrakhamanova A.F., Wang Q.Y., Khokhlova L.P. et al.* Is microtubule disassembly a trigger for cold acclimation? // *Plant Cell Physiol.* – 2003. – V. 44, No 7. – P. 676–686.
6. *Hameroff S.* Cytoplasmic gel states and ordered water: possible roles in biological quantum coherence // *Proc. of the 2nd Annual Advanced Water Sciences Symposium, Dallas, Texas, October 4–6, 1996.*
7. *Хохлова Л.П., Палих Э., Олиневич О.В. и др.* Влияние цитохалазина Б и колхицина на водный обмен растений при холодовом закаливании и разных условиях замораживания-оттаивания // *Цитология.* – 1997. – Т. 39, № 4–5. – С. 294–304.
8. *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. раст.* – 2004. – Т. 51, Вып. 5. – С. 759–772.
9. *Beall R.T.* Water-macromolecular interactions during the cell cycle // *Nuclear cytoplasmic interactions in the cell cycle* / Ed. G.L. Whitson. – N. Y.: Academic Press, 1980. – P. 223–270.
10. *Гамалей И.А., Каулин А.Б., Трошин А.С.* Свойства клеточной воды // *Цитология.* – 1977. – Т. 19, № 12. – С. 1309–1326.
11. *Bartolo M.E., Carter J.V.* Microtubules in mesophyll cell of nonacclimated and cold-acclimated spinach, visualization and responses to freezing, low temperature and dehydration // *Plant Physiol.* – 1991. – V. 97, No 1. – P. 175–181.

12. Lee J.C., Timasheff Z. In vitro reconstruction of cell brain microtubules of solution variables // *Biochem.* – 1971. – V. 16. – P. 1754–1764.
13. Исабеков Б.Н., Красавцев О.А. Осмотические свойства морозостойких протопластов // *Физиол. раст.* – 1989. – Т. 36, Вып. 2. – С. 372–381.
14. Komis G., Apostolakis P., Galatis B. Hyperosmotic stress induces formation of tubulin microtubules in root-tip cells of *Triticum turgidum*: Their probable involvement in protoplast volume control // *Plant Cell Physiol.* – 2002. – V. 43, No 8. – P. 911–922.
15. Komis G., Apostolakis P., Galatis B. Hyperosmotic stress-induced actin filament reorganization in leaf cells of *Chlorophyton comosum* // *J. Exp. Bot.* – 2002. – V. 53, No 375. – P. 1699–1710.
16. Clegg L.S. Intracellular water and the cytomatrix: some methods of study and current views // *J. Cell Biol.* – 1984. – V. 99, No 1. – P. 167–171.
17. Снигиревская Е.С. Изменения ультраструктуры клеток вазопрессин-чувствительных эпителиев при стимуляции транспорта воды // *Цитология.* – 1990. – Т. 32, № 8. – С. 766–794.
18. Снигиревская Е.С., Комиссарчик Я.Ю. Анализ структурных изменений цитоскелета гранулярных клеток мочевого пузыря лягушки при стимулировании водного транспорта // *Цитология.* – 1987. – Т. 29, № 2. – С. 150–155.
19. Комиссарчик Я.Ю., Макаренко Е.И., Снигиревская Е.С., Шахматова Е.И. Исследование ультраструктуры апикального цитоскелета клеток эпителия мочевого пузыря лягушки при АДГ-зависимом и АДГ-независимом увеличении осмотической проницаемости // *Цитология.* – 1996. – Т. 38, № 9. – С. 927–933.
20. Dibas A., Mia A., Yorio T. Microfilaments network is needed for the endocytosis of water channels and not for apical membrane insertion upon vasopressin action // *The Society for Exp. Biology and Medicine.* – 2000. – V. 223. – P. 203–209.
21. Tyerman S., Bohnert H., Maurel C. et al. Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations // *J. Exp. Bot.* – 1999. – V. 50. – P. 1055–1071.
22. Johansson I., Karlsson M., Johanson U., Larsson C., Kjellbom P. The role aquaporins in cellular and whole plant water balance // *Biochem. Biophys. Acta.* – 2000. – V. 1465. – P. 324–342.
23. Шанигузов А.Ю. Аквапорины: строение, систематика и особенности регуляции // *Физиол. раст.* – 2004. – Т. 51, № 1. – С. 142–152.
24. Tyerman S.D., Niemietz C.M., Bramley H. Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles // *Plant, Cell and Environ.* – 2002. – V. 25, No 2. – P. 173–194.
25. Chaumont F., Barrieu F., Wojcik E. et al. Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 125, No 3. – P. 1206–1215.
26. Suga S., Komatsu S., Maeshima M. Aquaporin isoforms responsive to salt and water stresses and phytohormones in *Raichia* Seedlings // *Plant Cell Physiol.* – 2002. – V. 43, No 10. – P. 1229–1237.
27. Cheng A., Van Hock A., Yeager M. et al. Three-dimensional organization of a human water CHANNEL // *Nature.* – 1997. – V. 387. – P. 627–630.
28. Meinild A., Klaerke D., Zeuthen T. Bidirectional water fluxes and specificity for small hydrophilic molecules in Aquaporins 0-5 // *J. Biol. Chem.* – 1998. – V. 273, No 49. – P. 32446–32451.
29. Chaumont F., Barrieu F., Jung R., Chrispeels M.J. Plasma membrane intrinsic proteins from maize cluster in two sequence subgroups with differential aquaporin activity // *Plant Physiol.* – 2000. – V. 122. – P. 1025–1034.

30. Gouraud S., Laera A., Calamita G. et al. Functional Involvement of VAMP / Synaptobrevin-2 in CAMP-Stimulated Aquaporin 2 Translocation in Renal Collecting Duct Cells // *J. Cell Sci.* – 2002. – V. 115, No 18. – P. 3667–3674.
31. Ампилогова Я.Н., Жесткова И.М., Трофимова М.С. Редокс-модуляция осмотической водной проницаемости плазмалеммы, изолированной из корней и стеблей проростков гороха // *Физиол. раст.* – 2006. – Т. 53, Вып. 5. – С. 703–710.
32. Шевырева Т.А., Жесткова И.М., Трофимова М.С. Иммунолокализация PIP-аквапоринов в протопластах из суспензионной культуры мезофила сахарной свёклы в изосмотических условиях и при осмотическом стрессе // *Физиол. раст.* – 2007. – Т. 54, Вып. 3. – С. 356–364.
33. Aroca R., Tognoni F., Irigoyen J. et al. Different root low temperature response of two maize genotypes differing in chilling sensitivity // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 39. – P. 1067–1073.
34. Hachez C., Moshelion M., Chaumont F. Plasma membrane aquaporins in the primary maize root: gene expression analysis and functional characterization // *The 4th Intern. Conf. of Aquaporins: Abstract book.* – Brussels: Genwal, 2005. – P. 91.
35. Chen T., Hsu C., Tsai P. et al. Heterotrimeric G-Protein and Signal Transduction in the Nematode-Trapping Fungus *Arthrobotrys dactyloides* // *Planta.* – 2001. – V. 212. – P. 858–863.
36. Wayne R., Tazawa M. The actin cytoskeleton and polar water permeability in Characean Cells // *Protoplasma.* – 1988, Supp. 1, 2. – P. 116–130.
37. Khokhlova L., Olinevich O., Pahlich E. et al. Effect of tubulin protein modifiers on the water exchange of nonhardened and cold-hardened plants of winter wheat // *Acta Agronomica Hungarica.* – 1997. – V. 45. – P. 377–382.
38. Elkjaer M.-L., Birn H., Agre P. et al. Effects of microtubule disruption on endocytosis membrane recycling and polarized distribution of Aquaporin-1 and gp330 in proximal tubule cells // *Eur. J. Cell Biol.* – 1995. – V. 67. – P. 57–72.
39. Klusmann E., Tamma G., Lorenz D. et al. An inhibitory role of Rho in vasopressin-mediated translocation of aquaporin-2 into cell membranes of renal principal cells // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V. 276. – P. 20451–20457.
40. Brown D. The ins and outs of aquaporin-2 trafficking // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2003. – V. 284, No 5. – P. F893–F901.
41. Bochkareva M., Olinevich O., Chepurencova M. et al. The cytoskeleton control of water exchange in plant cells and tissues in normal conditions and after cold hardening and ABA treatment // *Abstract Book: The 4th Intern. Conf. on Aquaporins.* – Genwal (Brussels), 2005. – P. 91.
42. Wacker I., Kaether C., Kromer A. et al. Microtubule-dependent transport of secretory vesicles visualized in real time with a GTP-tagged secretory protein // *J. Cell Sci.* – 1997. – V. 110, No 13. – P. 1453–1463.
43. Sandvig K., Deurs B.V. Selective modulation of the endocytic uptake of ricin and fluid phase markers without alteration in transferrin endocytosis // *J. Biol. Chem.* – 1990. – V. 265. – P. 6382–6388.
44. Lippincott-Schwartz J., Roberts T.H., Hirschberg K. Secretory protein trafficking and organelle dynamics in living cells // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2000. – V. 16. – P. 557–589.
45. Schmoranzler J., Simon S.M. Role of Microtubules in Fusion of Post-Golgi Vesicles to the Plasma Membrane // *Mol. Biol. Cell.* – 2003. – V. 14, No 4. – P. 1558–1569.

46. *Hirschberg K., Miller C.M., Ellenberg J.* Kinetic analysis of secretory protein traffic and characterization of Golgi to plasma membrane transport intermediates in living cells // *J. Cell Biol.* – 1998. – V. 143, No 6. – P. 1485–1503.
47. *Valderrama F., Duran J.M., Babia T. et al.* Actin microfilaments facilitate the retrograde transport from the Golgi complex to the endoplasmic reticulum in mammalian cells // *Traffic.* – 2001. – V. 2, No 10. – P. 717–726.
48. *Godi A., Santone I., Pertile P., Devarajan P.* ADP ribosylation factor regulates spectrin binding to the Golgi complex // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – V. 95, No 15. – P. 8607–8612.
49. *Stamnes M.* Regulating the actin cytoskeleton during vesicular transport // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2002. – V. 14, No 4. – P. 428–433.
50. *Beck K.A., Buchanan J.A., Nelson W.J.* Golgi membrane skeleton: identification, localization and oligomerization of a 195 kDa ankyrin isoform associated with the Golgi complex // *J. Cell Sci.* – 1997. – V. 110, No 10. – P. 1239–1249.
51. *Heimann K., Percival J.M., Weinberger R. et al.* Specific isoforms of actin-binding proteins on distinct populations of Golgi-derived vesicles // *J. Biol. Chem.* – 1999. – V. 274, No 16. – P. 10743–10750.
52. *Fucini R.V., Navarrete A., Vadakkan C. et al.* Activated ADP-ribosylation factor assembles distinct pools of actin on Golgi membranes // *J. Biol. Chem.* – 2000. – V. 275, No 15. – P. 18824–18829.
53. *Fucini R.V., Chen J.L., Sharma C. et al.* Golgi vesicle proteins are linked to the assembly of an actin complex defined by mAbp1 // *Mol. Biol. Cell.* – 2002. – V. 13. – P. 621–631.
54. *Okamoto C.T., Li R., Zhang Z. et al.* Regulation of protein and vesicle trafficking at the apical membrane of epithelial cells // *J. Controlled Release.* – 2002. – V. 78, No 1–3. – P. 35–41.
55. *Schmid S.L., McNiven M.A., Decamilli P.* Dynamin and its partners a progress report // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 1998. – V. 10, No 4. – P. 504–512.
56. *Туркина М.В., Соколов О.И.* Миозины – моторы актомиозиновой системы подвижности; связь с мембранами и сигнальными системами // *Физиол. раст.* – 2001. – Т. 48, Вып. 5. – С. 788–800.
57. *Lang T., Wacker I., Wunderlich I.* Role of actin cortex in the subplasmalemmal transport of secretory granules in PC-12 cells // *Biophys. J.* – 2000. – V. 78, No 6. – P. 2863–2877.
58. *Rudolff R., Salm T., Rustom A., Gerdes H.H.* Dynamics of immature secretory granules role of cytoskeletal elements during transport, cortical restriction, and F-actin-dependent tethering // *Mol. Biol. Cell.* – 2001. – V. 12, No 5. – P. 1353–1365.
59. *Клячко Н.Л.* Цитоскелет и внутриклеточная подвижность у растений // *Физиол. раст.* – 2005. – Т. 52, Вып. 5. – С. 786–795.
60. *Tanaka Y., Noguchi T.* Cytoskeleton mediating transport between the ER system and the Golgi apparatus in the green alga *Scenedesmus acutus* // *Eur. J. Cell Biol.* – 2000. – V. 79, No 10. – P. 750–758.
61. *Hepler P.K., Vidali L., Cheung A.Y.* Polarized Cell Growth in Higher Plants // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2001. – V. 17. – P. 159–187.
62. *Geldner N., Friml J.A., Stierhof Y.D. et al.* Auxin Transport Inhibitors Block PIN1 Cycling and Vesicle Trafficking // *Nature.* – 2001. – V. 413. – P. 425–428.
63. *Baluška F., Šamaj J., Hlavacka A. et al.* Actin-Dependent Fluid-Phase Endocytosis in Inner Cortex Cell of Maize Root Apices // *J. Exp. Bot.* – 2004. – V. 55, No 396. – P. 463–473.

64. *Mathur J., Mathur N., Kirik V. et al.* Arabidopsis CROOKED Encodes for the Smallest Subunit of the Arp2/3 Complex and Controls Cell Shape by Region Specific Fine F-Actin Formation // *Development*. – 2003. – V. 130. – P. 3137–3146.
65. *Клячко Н.Л.* Актиновый цитоскелет и форма растительной клетки // *Физиол. раст.* – 2004. – Т. 51, Вып. 6. – С. 918–925.
66. *Šamaj J., Baluška F., Voigt B. et al.* Endocytosis: Endocytosis, Actin Cytoskeleton, and Signaling // *Plant Physiol.* – 2004. – V. 135. – P. 1150–1161.
67. *Lazzaro M.D., Thomson W.W.* The Vacuolar-Tubular Continuum in Living Trichomes of Chickpea (*Cicer arietinum*) Provides a Rapid Means of Solute Delivery from Base to Tip // *Protoplasma*. – 1996. – V. 193, No 1–4. – P. 181–190.
68. *Гамалей Ю.В.* Надклеточная организация растений // *Физиол. раст.* – 1997. – Т. 44, № 4. – С. 819–846.
69. *Волобуева О.В., Хохлова Л.П., Великанов Г.А., Опанасюк О.А.* Актинрегулируемая водопроницаемость двух транспортных каналов плазмодесм в корнях различающихся по устойчивости сортов озимой пшеницы // *Цитология*. – 2001. – Т. 43, № 5. – С. 477–482.
70. *Великанов Г.А., Волобуева О.В., Хохлова Л.П.* Изучение водопроницаемости транспортных каналов плазмодесм по данным импульсного метода ЯМР // *Физиол. раст.* – 2001. – Т. 48, Вып. 3. – С. 375–383.
71. *Radford J.E., White R.G.* Localization of Myosin-Like Protein into Plasmodesmata // *Plant J.* – 1998. – V. 14. – P. 169–184.
72. *White R.G., Badelf K., Overall R.L., Vesik M.* Actin Associated with Plasmodesmata // *Protoplasma*. – 1994. – V. 180. – P. 169–184.
73. *Волобуева О.В.* Влияние ингибиторов белков цитоскелета на водный обмен корней озимой пшеницы при последствии водного стресса: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Казань, 1999. – 19 с.
74. *Ионенко И.Ф., Анисимов А.В., Романов А.В.* Влияние водного стресса и хлорида ртути на трансляционную диффузию воды в корнях проростков кукурузы // *Физиол. раст.* – 2003. – Т. 50, Вып. 1. – С. 88–93.
75. *Волобуева О.В., Великанов Г.А., Балущка Ф.* Особенности регуляции межклеточного водообмена в разных зонах корня кукурузы в условиях осмотического и гормонального стрессов // *Физиол. раст.* – 2004. – Т. 51, Вып. 5. – С. 751–758.
76. *Ионенко И.Ф., Анисимов А.В.* Радиальный диффузионный транспорт воды в разных зонах корня кукурузы и его чувствительность к хлориду ртути // *Физиол. раст.* – 2007. – Т. 54, Вып. 2. – С. 253–259.
77. *Великанов Г.А., Белова Л.П.* Регуляция водопроницаемости вакуолярного симпласта // *Физиол. раст.* – 2005. – Т. 52, Вып. 6. – С. 859–866.
78. *Великанов Г.А.* Вакуолярный симпласт и методический подход к контролю самодиффузии воды между вакуолями соседних клеток в корне // *Физиол. раст.* – 2007. – Т. 54, Вып. 2. – С. 770–780.
79. *Жолкевич В.Н., Чугунова Т.В.* Об участии паренхимных клеток в насыщающей деятельности корня // *Докл. АН СССР*. – 1987. – Т. 297, № 3. – С. 758–761.
80. *Жолкевич В.Н., Чугунова Т.В.* О взаимодействии белков цитоскелета, биомедиаторов и фитогормонов при регуляции транспорта воды в растении // *Докл. АН СССР*. – 1995. – Т. 341, № 1. – С. 122–125.
81. *Жолкевич В.Н.* Транспорт воды в растении и его эндогенная регуляция. – М.: Наука, 2001. – 73с.

82. Жолкевич В.Н., Дустмаматов А.Г. Пути трансдукции сигнала при стимулирующем воздействии фитогормонов на нагнетающую деятельность корня // Докл. РАН. – 2004. – Т. 395, № 4. – С. 558–561.
83. Дустмаматов А.Г. Воздействие фитогормонов на водонагнетающую деятельность корня: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2005. – 26 с.
84. Жолкевич В.Н., Пузаков М.М., Монахова О.Ф. Участие актина в создании корневого давления // Докл. РАН. – 2001. – Т. 380, № 3. – С. 404–407.
85. Пузаков М.М. Участие энергозависимых контрактильных систем паренхимных клеток в создании корневого давления: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2002. – 26с.
86. Жолкевич В.Н., Пузаков М.М., Сущенко С.В., Емельянова И.Б. Участие МФ и МТ паренхимных клеток в создании корневого давления // Биол. мембраны. – 2003. – Т. 20, № 1. – С. 21–26.
87. Жолкевич В.Н., Анискин Д.Н., Дустмаматов А.Г. О стимулирующем действии нейромедиаторов на нагнетающую деятельность корня // Докл. РАН. – 2003. – Т. 392, № 1. – С. 138–141.
88. 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 картолина // Зимостойкость сельскохозяйственных растений. – Харьков, 1991. – С. 146–160.
89. Андреев И.М. О значении термодинамического подхода при изучении водного режима растений // Науч. тр. высш. школы. Биол. науки. – 1978. – № 9. – С. 17–25.
90. Гусев Н.А., Самуилов Ф.Д., Пахомова Г.И., Жолкевич В.Н. Состояние воды в растении // Водный обмен растений. – М.: Наука, 1989. – С. 21–44.
91. Хохлова Л.П., Олиневич О.В., Панкратова О.В. Изменение водоудерживающей способности тканей озимой пшеницы под влиянием структурных модификаторов цитоскелета // Физиол. раст. – 1997. – Т. 44, Вып. 43. – С. 379–384.
92. Анисимов А.В., Самуилова И.Ф., Евarestов А.С., Гордон Л.Х. Трансмембранный обменный механизм магнитной релаксации воды в клетках // Докл. АН СССР. – 1983. – Т. 50, № 4. – С. 528–540.
93. Khokhlova L.P., Olinevich O., Tarakanova N., Richkova E. Investigations of water transport in genotypes of winter wheat by the method of NMR: effects of cold acclimation, abscisic acid and oryzalin // Intern. Conf. “Molecular Biology and Physiology of Water and Solute Transport”. – Cöteborg, Sweden, 2000. – P. 154.
94. Lloyd C.W., Drobak B.K., Dove S.K., Staiger C.J. Interactions between the plasma membrane and the cytoskeleton in plants // Membranes: specialized functions in plants / Eds. M. Smallwood, J.P. Knox, D.J. Bowles. – Oxford: BIOS Scientific Publ., 1996. – P. 1–20.
95. Хохлова Л.П., Олиневич О.В., Макарова М.В. Морфофизиологические ответы растений на действие антимиотического препарата оризалина // Докл. РАН. – 2003. – Т. 390, № 1. – С. 122–126.
96. Макарова М.В. Мофофизиологические изменения корней озимой пшеницы в связи с деструкцией цитоскелета при действии индукторов морозоустойчивости: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Казань, 2007. – 25с.
97. Collings D.A., Wasteneys G.O., Miyazaki M., Williamson R.E. Elongation factor 1 alpha is a component of the subcortical actin bundles of characean algae // Cell. Biol. Int. – 1994. – V. 18, No 11. – P. 1019–1024.
98. Collings D.A., Wasteneys G.O., Williamson R.E. Actin-microtubule interactions in the alga *Nitella*: analysis of the mechanism by which microtubule depolymerization potentiates cytochalasin's effects on streaming // Protoplasma. – 1996. – V. 191, No 3–4. – P. 178–190.

99. *Staiger C.J.* Signaling to the Actin Cytoskeleton in Plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2000. – V. 51. – P. 257–288.
100. *Браун А.Д., Моженок Т.П.* Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. – Л.: Наука, 1987. – 230 с.
101. *Хохлова Л.П., Олиневич О.В., Тараканова Н.Ю. и др.* Цитоскелет-зависимые изменения водного статуса и морозоустойчивость разных генотипов озимой пшеницы // Грани сотрудничества. К 10-летию соглашения о сотрудничестве между Казанским и Гиссенским университетом. – Казань: Унипресс, 1999. – С. 275–298.
102. *Wang Q. Y., Nick P.* Cold Acclimation Can Induce Microtubular Cold Stability in a Manner Distinct from Abscisic Acid // *Plant Cell Physiol.* – 2001. – V. 42, No 9. – P. 999–1005.
103. *Olinevich O.V., Khokhlova L.P., Raudaskoski M.* The microtubule stability increases in abscisic acid-treated and cold acclimated differentiating vascular root tissues of wheat // *J. Plant Physiol.* – 2002. – V. 159, No 5. – P. 465–472.
104. *Хохлова Л.П., Олиневич О.В.* Реорганизация цитоскелета в клетках *Triticum aestivum* при закаливании растений к холоду и действию абсцизовой кислоты // *Физиол. раст.* – 2003. – Т. 50, Вып. 4. – С. 528–540.

Поступила в редакцию
03.03.08

Веспер Марина Валерьевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры физиологии и биотехнологии растений Казанского государственного университета.

E-mail: marina.vesper@yandex.ru

Бочкарёва Мария Александровна – аспирант кафедры физиологии и биотехнологии растений Казанского государственного университета.

Хохлова Людмила Петровна – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии и биотехнологии растений Казанского государственного университета.

E-mail: Ludmila.Khokhlova@ksu.ru