

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 581.144.2:577.175.142

УЧАСТИЕ СЕНСОРА НИТРАТОВ NRT1.1 В РЕГУЛЯЦИИ УРОВНЯ ЦИТОКИНИНОВ И УДЛИНЕНИЯ КОРНЕЙ В НОРМЕ И ПРИ ДЕФИЦИТЕ АЗОТА

А.В. Коробова^{1,*}, Г.Р. Ахиярова¹, В.В. Федяев², Р.Г. Фархутдинов², С.Ю. Веселов^{1,2},
Г.Р. Кудоярова¹¹Уфимский институт биологии УФИЦ РАН, Россия, 450054, г. Уфа, Проспект Октября, д. 69;²Башкирский государственный университет, Россия, 450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, д. 32
*e-mail: muksin@mail.ru

Транспортер нитратов NRT1.1 действует как сенсор нитратов, запуская определенные реакции растений. В то же время фитогормоны цитокинины часто участвуют в регуляции ростовых ответов растений на изменение уровня нитратов. В данной работе мы проверили предположение, что сенсор NRT1.1 способен участвовать в контроле уровня цитокининов. Для этого мы изучили влияние мутации гена NRT1.1 на гормональные и ростовые реакции растений при удалении азота из среды. Опытными объектами были растения арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) исходного экотипа Columbia и мутантные по гену NRT1 (*chl1-5*). Использовали два варианта экспериментального дизайна: (1) растения выращивали на растворе Хогланда-Арнона, удаление азота осуществляли путем замены нитратов на хлориды; (2) использовалась среда Прянишниковая, азотное голодание создавали путем удаления нитрата аммония. Мы впервые показали, что мутация NRT1.1 приводит к снижению уровня цитокининов в корнях *chl1-5*, в результате чего у них формируются более длинные корни по сравнению с растениями Columbia. Содержание цитокининов в растениях Columbia снижалось в ответ на оба варианта исключения азота из среды, и параллельно этим изменениям уровня гормонов ускорялось удлинение корней. Изменение концентрации цитокининов и удлинения корней у мутанта по сенсору NRT1.1 было зарегистрировано лишь при удалении нитрата аммония из среды Прянишниковой, но не было зарегистрировано при замене нитрата на хлорид в среде Хогланда-Арнона. Результаты свидетельствуют об участии сенсора NRT1.1 в регуляции уровня цитокининов и скорости элонгации корней при удалении нитратов, но не ионов аммония, что подтверждает специфичность ответа.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, трансцептор NRT1.1, рост корней, цитокинины, дефицит азота, иммуногистохимическая локализация, гидропоническая культура

Изменение роста и развития корней — важная адаптивная реакция, обеспечивающая оптимизацию поглощения элементов минерального питания и воды растением. При изучении реакции растений на изменение уровня нитратов цитокинины привлекают особое пристальное внимание [1, 2]. Наиболее детально изучено влияние возвращения растений на среду с нитратами после их выращивания на среде без азота [3]. Показано, что при этом происходит индукция экспрессии генов, контролирующих синтез цитокининов, и это приводит к повышению уровня данных гормонов в растениях арабидопсиса [4] и риса [5]. Влиянию удаления нитратов из питательной среды уделялось меньше внимания, хотя

в отдельных работах показано снижение уровня цитокининов при дефиците азота [6]. Поскольку обработка цитокининами ингибировала рост корней [7], а пониженный уровень цитокининов у трансгенных растений сопровождался ускорением их роста [8], активацию роста корней при дефиците нитратов можно объяснить уменьшением содержания этих гормонов.

Принимая во внимание значение цитокининов в реакции растений на дефицит азота, важно было понять, каким образом растения воспринимают уровень нитратов, регулируя содержание цитокининов и рост. Важная роль в восприятии нитратного сигнала приписывается переносчику нитратов NRT1.1 [9]. Показано,

что у мутанта *chl1-5* по этому гену при добавлении нитратов в среду без азота не происходит индукции экспрессии генов, кодирующих переносчики нитратов и ферменты, участвующие в их метаболизме. На основании этих результатов предполагается, что NRT1.1 сочетает функции сенсора и переносчика нитратов, что позволило назвать его трансцептором (transceptor). Его участие в регуляции роста боковых корней связано с тем, что NRT1.1 функционирует как NO_3^- -зависимый переносчик ауксинов [10]. В условиях низкого содержания нитратов он обеспечивает отток ауксинов из примордиев боковых корней, что предотвращает их удлинение. Меньше внимания было уделено возможному участию трансцептора в регуляции уровня цитокининов и роста корней. Цель данной работы состояла в том, чтобы выявить влияние мутации по гену NRT1.1 на содержание цитокининов и фенотип растений арабидопсиса при их выращивании на полной питательной среде и при удалении из нее нитратов и таким образом проверить, участвует ли сенсор NRT1.1 в гормональном и ростовом ответе на дефицит азота.

Материалы и методы

Объектом исследования служили растения арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* [L.] Heynh.) экотипа Columbia (Col-0) и мутанта по трансцептору нитратов NRT1.1 (*chl1-5*). После стратификации на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри в течение 3 сут при температуре 4°C семена переносили в сосуды (100 мл) с песком, насыщенным раствором Прянишникова, в котором нитрат аммония является единственным источником азота, или Хогланда-Арнона, содержащим азот в форме нитратов калия и кальция, и выращивали в климатической камере (MLR-350H, Sanyo, Япония), как описано ранее [7]. Оводненность песка поддерживали на уровне 65% от полной влагоемкости. Через 2 нед. после переноса в климатическую камеру растения помещали в лунки полистироловых микропланшетов с отверстиями, плавающих по поверхности питательного раствора. В предварительных экспериментах с выращиванием растений на жидкой среде разбавление стандартных растворов Прянишникова и Хогланда-Арнона в 10 раз приводило к максимальному накоплению массы растений Columbia, поэтому разведенные в 10 раз среды были выбраны для дальнейших исследований. Применяли два варианта удаления азота из среды. (1) Растения размещали на среде Прянишникова, а при моделировании азотного голодания их переносили в контейнер со средой Прянишникова без нитрата аммония. (2) Поло-

вина растений получала раствор Хогланда-Арнона, а вторая половина — модифицированный раствор, в котором нитраты калия и кальция были заменены на хлориды, как описано ранее [11]. Растения выращивали при непрерывной аэрации. Через 2 сут выращивания в гидропонике ткани растений брали на анализ цитокининов, через 4 сут — измеряли длину корней.

Для экстракции цитокининов корни растительного гомогенизировали в 80%-ном этаноле и инкубировали в течение ночи при 4°C. После фильтрации и выпаривания этанола водный остаток подвергали очистке на картридже C18 (Waters, США) как описано ранее [12]. После испарения растворителя сухой остаток растворяли в 0,02 мл 80%-ного этанола и разделяли метаболиты цитокининов при помощи тонкослойной хроматографии [12]. Различные формы цитокининов элюировали в течение 15 ч 0,1 М фосфатным буфером (pH 7,2–7,4) из соответствующих зон, идентифицированных по положению метчиков в УФ-свете. Затем аликвоту в серии разведений добавляли в лунки планшетов и проводили иммуноферментный анализ с помощью антител против транс-зеатинрибозида, высокоспецифичных к производным транс-зеатина [12].

Для иммунолокализации цитокининов в продольных срезах кончиков корней использовали специфические кроличьи антитела к зеатинрибозиду. Растения фиксировали в растворе 4%-ного параформальдегида (Riedel-deHaen, Германия) и 0,1%-ного глутарового альдегида (Sigma, Германия). Через 2 ч кончики корней отмывали от фиксатора и заключали в блоки из агарозы, как описано ранее [13]. Гистологические срезы толщиной 1,5 мкм готовили с помощью ротационного микротомы (HM 325, MICROM Laborgerate, Германия). Иммунолокализацию гормонов проводили, как описано ранее [14]. Препараты анализировали с помощью светового микроскопа Axio Imager.A1 (Carl Zeiss Jena, Германия), оборудованного цифровой камерой AxioCam MRc5 (Carl Zeiss Jena, Германия).

Активность цитокиноксидазы в корнях определяли, как описано ранее [7]. Снижение количества изопентениладенина (ИП) в результате распада определяли при помощи иммуноферментного анализа как описано ранее [12], но с использованием специфических антител против изопентениладенозина.

Статистический анализ производили с использованием Microsoft Excel. На рисунках представлены средние значения показателей, указаны их стандартные ошибки. Достоверные различия отмечены различными буквами ($p < 0,05$, t-тест). При измерении длины главного корня биологи-

ческим повтором (n) служило одно растение, для количественного определения цитокининов – 30 растений.

Результаты

При удалении нитрата аммония из среды Прянишникова масса растений Col-0 снижалась на 29% (с $9,7 \pm 0,7$ до $6,9 \pm 0,4$ мг в присутствии и в отсутствие азота в среде соответственно). Замена нитратов калия и кальция на хлориды в растворе Хогланда-Арнона вызывала сходное (на 31%) снижение массы растений Col-0 (с $10,9 \pm 0,7$ до $7,5 \pm 0,3$ мг в растворе с нитратами и без них соответственно). Это указывает на то, что подавление роста было следствием дефицита азота, а токсичность хлорида не проявлялась, вероятно, из-за низкой концентрации этих анионов (1,5 мМ).

Измерение длины корней показало, что они были длиннее у *chl1-5* по сравнению с Col-0 в случае как среды Хогланда-Арнона, так и среды Прянишникова (рис. 1). Удаление NH_4NO_3 из среды Прянишникова приводило к удлинению корней растений обоих генотипов по сравнению с контрольными, получавшими азот, растениями. Удаление нитратов из среды Хогланда-Арнона также сопровождалось увеличением длины

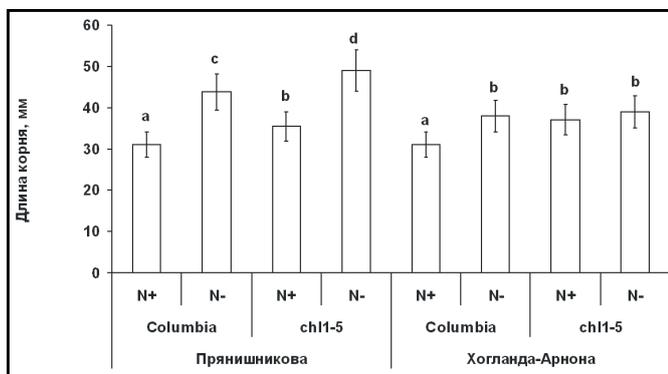


Рис. 1. Длина главного корня 18-суточных растений арабидопсиса исходного экотипа Columbia и мутантных по трансцептору NRT1.1 (*chl1-5*), получавших разбавленный в 10 раз раствор Прянишникова или Хогланда-Арнона через 4 сут после удаления азота (N-) из среды. Из раствора Прянишникова исключали нитрат аммония, в растворе Хогланда-Арнона нитраты калия и кальция были заменены на хлориды (n = 30).

корней растений Col-0, однако на удлинении корней *chl1-5* данное воздействие не сказывалось. Мы зарегистрировали более высокое содержание цитокининов в корнях растений Col-0 по сравнению с корнями *chl1-5* (рис. 2). Удаление NH_4NO_3 из среды Прянишникова снижало суммарное содержание производных зеатина в корнях растений обоих генотипов. Реакция на замену нитратов калия и кальция на хлориды

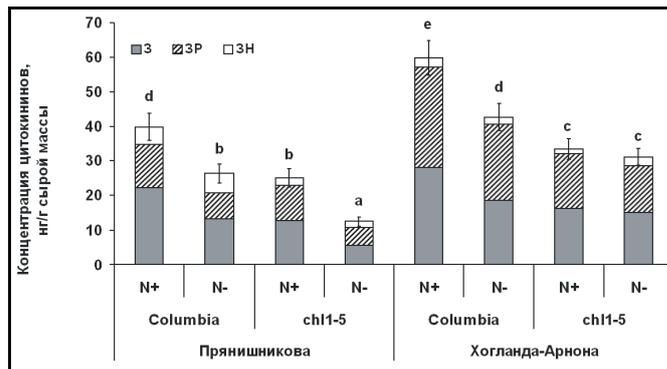


Рис. 2. Суммарная концентрация трех форм цитокининов (зеатина (Z), его рибозида (ZR) и нуклеотида (ZN)) в корнях 16-суточных растений арабидопсиса исходного экотипа Columbia и мутантных по трансцептору NRT1.1 (*chl1-5*), получавших разбавленный в 10 раз раствор Прянишникова или Хогланда-Арнона через 2 сут после удаления азота (N-) из среды. Из раствора Прянишникова исключали нитрат аммония, в растворе Хогланда-Арнона нитраты калия и кальция были заменены на хлориды (n = 9).

в растворе Хогланда-Арнона была иной: у растений Col-0 содержание цитокининов в корнях снижалось, а у *chl1-5* оставалось на уровне контроля (растений, получавших нитраты калия и кальция). Сравнение длины корней и концентрации цитокининов у растений разных генотипов на фоне достаточной обеспеченности азотом и его дефицита позволяет заметить соответствие гормональной и ростовой реакции растений на генетическую модификацию и удаление азота из среды. Между уровнем цитокининов и длиной корней (выраженных как процент от величины показателей у Col-0, получавших азот) выявлена высокая корреляция ($r = -0,9$) для среды Прянишникова и Хогланда-Арнона.

Активность цитокиноксидазы у растений Col-0 снижалась при дефиците азота в среде (440 ± 36 и 253 ± 25 нг ИП/(ч г сырой массы) в корнях Col-0 в присутствии и в отсутствие нитратов соответственно), в отличие от растений *chl1-5*, у которых уровень активности фермента не зависел от присутствия азота в среде (243 ± 22 и 216 ± 19 нг ИП/(ч г сырой массы) в корнях *chl1-5* в присутствии и в отсутствие нитратов соответственно). Активность фермента в корнях у Col-0 была выше, чем у *chl1-5*.

Иммуногистохимическая локализация зеатина показала уменьшение интенсивности окраски на цитокинины в кончиках корней Col-0 при удалении нитратов из раствора Хогланда-Арнона и отсутствие значимых различий в уровне окрашивания в случае *chl1-5* (рис. 3). Небольшое снижение окраски кончиков корней растений *chl1-5* по сравнению с Col 0, росших на немодифицированном растворе Хогланда-Арнона, не

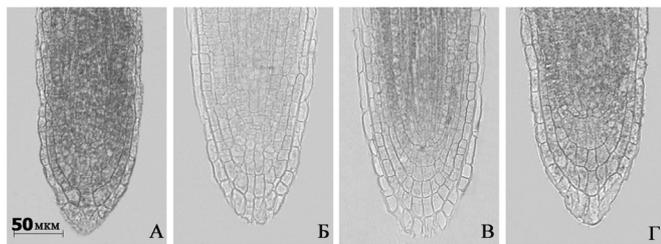


Рис. 3. Иммунолокализация цитокининов в кончиках корней 16-суточных растений арабидопсиса. Растения исходного экотипа Columbia (А, Б) и мутанты по трансцептору нитратов NRT1.1 *ch11-5* (В, Г), получавших нитраты (А, В) или 2 сут росших на безазотной среде (Б, Г).

было статистически достоверным.

Обсуждение

Снижение содержания цитокининов, зарегистрированное нами в корнях экотипа Col-0 при удалении из среды нитратов (рис. 2), соответствует данным литературы о влиянии уровня азота на содержание цитокининов [3, 6]. Несмотря на то, что работ, где определялось содержание цитокининов при дефиците азота, не так много, снижение уровня цитокининов при данном воздействии широко обсуждается [2, 15]. Влияние уровня нитратов на содержание цитокининов в основном изучали как реакцию на повышение их концентрации в питательной среде, и в этих экспериментах была показана активация синтеза цитокининов [3]. Лишь сравнительно недавно было показано снижение содержания цитокининов под влиянием дефицита нитратов у растений арабидопсиса [15].

Поскольку цитокининам приписывают важную роль в адаптации растений к уровню нитратов, важно понять, какие сенсорные системы отвечают за эту реакцию. Хотя сенсорная функция «трансцептора» нитратов NRT1.1 была показана на примере регуляции активности генов, контролирующих транспорт и метаболизм нитратов [9], участие NRT1.1 в регуляции уровня цитокининов не было выявлено. Эту функцию сенсора лишь предполагали Киба с соавт. [15] на основе результатов анализа уровня транскриптов множества генов мутанта по сенсору нитратов *ch11-5*, проведенного Вангом с соавт. [16]. Во втором приложении к данной работе показан пониженный уровень экспрессии генов *AtIPT3* и *AtIPT4*, ответственных за синтез цитокининов. Нами впервые показано, что мутация по гену, кодирующему NRT1.1, действительно приводит к пониженному содержанию цитокининов в корнях растений (рис. 2), что подтверждает участие «трансцептора» нитратов в поддержании уровня этих гормонов. Более низкий уровень содержания цитокининов нельзя объяс-

нить повышенным уровнем их окислительного распада, поскольку активность цитокиноксидазы у растений *ch11-5* была не выше, а ниже, чем у Col-0. Скорее этот феномен связан с пониженным уровнем синтеза цитокининов у мутанта, что соответствует данным литературы об уровне экспрессии гена *AtIPT3* и *AtIPT4* у этого мутанта [16]. Известно, что активность цитокиноксидаз возрастает под влиянием цитокининов, обеспечивая гомеостатирование их уровня [17]. Следовательно, низкая активность цитокиноксидазы может быть результатом снижения уровня цитокининов, содержание которых уменьшилось из-за ингибирования их синтеза.

Особый интерес представляют наши данные, свидетельствующие об отсутствии измененный уровня цитокининов при удалении нитратов из среды Хогланда-Арнона у растений *ch11-5* в отличие от растений Col-0 (рис. 2). Эти результаты подтверждают предположение о том, что функционально полноценный сенсор NRT1.1 необходим для восприятия дефицита нитратов и запуска реакций, направленных на снижение содержания цитокининов в растениях при данном воздействии. Важно отметить, что удаление NH_4NO_3 из питательной среды (в отличие от удаления нитрата калия и кальция) приводило к снижению содержания цитокининов в корнях растений *ch11-5* наравне с Col-0. У растений выявлен сенсор не только нитратов, но и ионов аммония. Так, у арабидопсиса обнаружена рецептороподобная протеинкиназа CAP1, участвующая в восприятии (sensing) концентрации аммония и его гомеостатировании, а также играющая важную роль в регуляции полярного роста корневых волосков [18]. Как известно, уровень аммония влияет на экспрессию генов, контролирующих синтез цитокининов [5]. Хотя на экспрессию этих генов влияет не сам аммоний, а его биохимическое производное глутамин [5], снижение содержания цитокининов у дефицитного по NRT1.1 мутанта при удалении нитрата аммония из среды Прянишникова можно объяснить способностью растений реагировать на концентрацию аммония и продуктов его метаболизма.

Данные иммуногистохимической локализации зеатина в кончиках корней (рис. 3) подтвердили основную закономерность, зарегистрированную с помощью иммуноферментного анализа (рис. 2). Так, более слабое окрашивание зеатина в корнях Col-0, перенесенных на раствор Хогланда-Арнона, не содержащий нитратов, свидетельствует о снижении уровня этого гормона в кончиках корней и согласуется с более низким общим содержанием цитокининов в корнях этих растений. Отсутствие значительных изменений

в окрашивании у *chl1-5* согласуется с количественным измерением общего содержания цитокининов в корнях (рис. 2), что свидетельствует об отсутствии зависимости уровня цитокининов у мутанта от присутствия нитратов в питательном растворе.

Изменение содержания цитокининов в корнях как под влиянием генетических факторов, так и изменения условий выращивания растений сопровождалось соответствующими изменениями скорости удлинения их корней. Так, (1) у мутанта пониженный уровень цитокининов в корнях сочетался с большей длиной корней по сравнению с растениями исходного генотипа, (2) снижение содержания этих гормонов у Col-0 сопровождалось увеличением длины корней под влиянием дефицита азота, (3) удлинение корней ускорялось в соответствии со снижением в них содержания цитокининов у *chl1-5* при удалении нитрата аммония из среды Прянишникова, а (4) отсутствие изменений в уровне цитокининов соответствовало отсутствию изменений длины их корней при удалении нитратов из среды Хогланда-Арнона. Эти результаты вполне согласуются с данными литературы о том, что понижение уровня цитокининов в корнях растений ускоряет их удлинение за счет уменьшения ингибирую-

щего действия цитокининов на деление клеток корневой меристемы [8]. Более длинные корни у растений NRT1.1 описаны нами впервые. Очевидно, это связано с тем, что до сих пор фенотип этого мутанта изучали, выращивая растения на агаровых пластинах с добавлением сахара, что оказывает специфическое влияние на развитие корневой системы [19]. Ранее нами показано, что гидропоническая культура более адекватно имитирует особенности роста корневой системы в почве [20].

Известно, что мутации NRT1.1, в некотором отношении, лишают растения способности чувствовать нитраты, а цитокинины служат индикаторами доступности элементов питания [21]. Приведенные нами данные свидетельствуют об участии сенсора нитратов NRT1.1 в регуляции уровня цитокининов в растениях, т.е. в поддержании их содержания в присутствии нитратов и в его понижении при дефиците этих ионов. Изменения содержания корневых цитокининов коррелируют с длиной корней и, очевидно, регулируют скорость их удлинения.

Исследование выполнено без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sakakibara H., Takei K., Hirose N. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development // Trends Plant Sci. 2006. Vol. 11. N. 9. P. 440–448.
2. Kudoyarova G.R., Dodd I.C., Veselov D.S., Rothwell S.A., Veselov S.Y. Common and specific responses to availability of mineral nutrients and water // J. Exp. Bot. 2015. Vol. 66. N. 8. P. 2133–2144.
3. Takei K., Takahashi H., Sugiyama T., Yamaya T., Sakakibara H. Multiple routes communicating nitrogen availability from roots to shoots: a signal transduction pathway mediated by cytokinin // J. Exp. Bot. 2002. Vol. 53. N. 370. P. 971–977.
4. Takei K., Ueda N., Aoki K., Kuromori T., Hirayama T., Shinozaki K., Yamaya T., Sakakibara H. *AtIPT3* is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis* // Plant Cell Physiol. 2004. Vol. 45. N 8. P. 1053–1062.
5. Kamada-Nobusada T., Makita N., Kojima M., Sakakibara H. Nitrogen-dependent regulation of de novo cytokinin biosynthesis in rice: the role of glutamine metabolism as an additional signal // Plant Cell Physiol. 2013. Vol. 54. N 11. P. 1881–1893.
6. Salama A., Wareing P.F. Effects of mineral-nutrition on endogenous cytokinins in plants of sunflower (*Helianthus annuus*) // J. Exp. Bot. 1979. Vol. 30. N. 118. P. 971–981.
7. Korobova A.V., Vysotskaya L.B., Vasinskaya A.N. Kuluev B.R., Veselov S.Yu., Kudoyarova G.R. Dependence of root biomass accumulation on content and metabolism of cytokinins in ethylene-insensitive plants // Russ. J. Plant Physiol. 2016. Vol. 63. N 5. P. 636–643.
8. Ivanov V.B., Filin A.N. Cytokinins regulate root growth through its action on meristematic cell proliferation but not on the transition to differentiation // Funct. Plant Biol. 2017. Vol. 45. N. 2. P. 215–221.
9. Gojon A., Krouk G., Perrine-Walker F., Laugier E. Nitrate tranceptor(s) in plants // J. Exp. Bot. 2011. Vol. 62. N. 7. P. 2299–2308.
10. Krouk G., Mirowski P., LeCun Y., Shasha D.E., Coruzzi G.M. Predictive network modeling of the high-resolution dynamic plant transcriptome in response to nitrate // Genome Biol. 2010. Vol. 11: R123.
11. Yu C., Liu Y., Zhang A., Su S., Yan A., Huang L., Ali I., Liu Y., Forde B.G., Gan Y. MADS-

box transcription factor OsMADS25 regulates root development through affection of nitrate accumulation in rice // *PLoS One*. 2015. Vol. 10. N 8: e0135196.

12. Kudoyarova G.R., Korobova A.V., Akhiyarova G.R., Arkhipova T.N., Zaytsev D.Yu., Prinsen E., Egutkin N.L., Medvedev S.S., Veselov S.Yu. Accumulation of cytokinins in roots and their export to the shoots of durum wheat plants treated with the protonophore carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP) // *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. N. 9. P. 2287–2294.

13. Wu S., Baskin T.I., Gallagher K.L. Mechanical fixation techniques for processing and orienting delicate samples, such as the root of *Arabidopsis thaliana*, for light or electron microscopy // *Nat. Protoc.* 2012. Vol. 7. N. 6. P. 1113–1124.

14. Akhiyarova G.R., Korobova A.V., Veselov S.Yu., Kudoyarova G.R., Veselov D.S. Effects of root cutting on cytokinin content in the shoot apex cells of *Arabidopsis* plants // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2018. Vol. 73. N 3. P. 172–177.

15. Kiba T., Kudo T., Kojima M., Sakakibara H. Hormonal control of nitrogen acquisition: roles of auxin, abscisic acid, and cytokinin // *J. Exp. Bot.* 2011. Vol. 62. N. 4. P. 1399–1409.

16. Wang R., Xing X., Wang Y., Tran A., Crawford N.M. A genetic screen for nitrate regulatory mutants captures the nitrate transporter gene *NRT1.1* //

Plant Physiol. 2009. Vol. 151. N. 1. P. 472–478.

17. Motyka V., Vankova R., Capkova V., Petrasek J., Kaminek M., Schmülling T. Cytokinin-induced upregulation of cytokinin oxidase activity in tobacco includes changes in enzyme glycosylation and secretion // *Physiol Plant.* 2003. Vol. 117. N. 1. P. 11–21.

18. Bai L., Ma X., Zhang G., Song S., Zhou Y., Gao L., Miao Y., Song C.-P. A receptor-like kinase mediates ammonium homeostasis and is important for the polar growth of root hairs in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2014. Vol. 26. N. 4. P. 1497–1511.

19. Roycewicz P., Malamy J.E. Dissecting the effects of nitrate, sucrose and osmotic potential on *Arabidopsis* root and shoot system growth in laboratory assays // *Philos. Trans. R. Soc. London, B.* 2012. Vol. 367. N. 1595. P. 1489–1500.

20. Trapeznikov V.K., Ivanov I.I., Kudoyarova G.R. Effect of heterogeneous distribution of nutrients on root growth, ABA content and drought resistance of wheat plants // *Plant Soil.* 2003. Vol. 252. N. 2. P. 207–214.

21. Ruffel S., Krouk G., Ristova D., Shasha D., Birnbaum K.D., Coruzzi G.M. Nitrogen economics of root foraging: Transitive closure of the nitrate-cytokinin relay and distinct systemic signalling for N supply vs. demand // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2011. Vol. 108. N. 45. P. 18524–18529.

Поступила в редакцию 07.07.2019 г.

После доработки 26.08.2019 г.

Принята в печать 02.09.2019 г.

RESEARCH ARTICLE

PARTICIPATION OF NITRATE SENSOR *NRT1.1* IN THE CONTROL OF CYTOKININ LEVEL AND ROOT ELONGATION UNDER NORMAL CONDITIONS AND NITROGEN DEFICIT

A.V. Korobova^{1,*}, G.R. Akhiyarova¹, V.V. Fedyaev², R.G. Farkhutdinov², S.Yu. Veselov^{1,2}, G.R. Kudoyarova¹

¹*Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Prospekt Oktyabrya 69, 450054, Ufa, Russia;*

²*Bashkir State University, Zaki Validi st. 32, 450076, Ufa, Russia*

*e-mail: muksin@mail.ru

NRT1.1 nitrate transporter acts as nitrate sensor in some plant responses. We tried to check if it may be involved in the control of cytokinin level in the plants known to be involved in the growth responses to nitrate level. In accordance, we followed the effects of NRT1.1 gene mutation in *chl1-5* plants on hormonal and growth responses to nitrogen starvation. Two types of experimental design were used: (1) plants were placed on either Hoagland-Arnon or modified solution, where potassium and calcium nitrates were substituted with their chlorides; (2) Pryanishnikov medium was used, where ammonium nitrate serves as the source of nitrogen, starvation being modeled by its withdrawal from the medium. We were first to show that mutation of the NRT1.1 resulted in a decline in cytokinin level in the roots of *chl1-5*, while roots of wild type plants were longer in accordance with lower cytokinin content in them, the hormone being known to inhibit root elongation. Cytokinin content decreased in Columbia plants paralleled by acceleration of root elongation in response to both variants of nitrogen starvation, while *chl1-5* roots responded in this way only when nitrogen was withdrawn from Pryanishnikov solution, while substitution of nitrates by chlorides in the Hoagland-Arnon solution had no effects on either *chl1-5* roots length or cytokinin content in them. The results suggested the involvement of NRT1.1 transceptor in the control of cytokinin level and root elongation rate in the nitrate, but not in ammonium starved plants, confirming the specificity of response.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, NRT1.1 transceptor, root growth, cytokinins, nitrogen starvation, immunohistochemical localization, hydroponics

Сведения об авторах

Коробова Алла Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории физиологии растений Уфимского института биологии УФИЦ РАН. Тел.: 8-347-235-53-62;
e-mail: muksin@mail.ru

Ахиярова Гузель Рифовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории физиологии растений Уфимского института биологии УФИЦ РАН. Тел.: 8-347-235-53-62;
e-mail: akhiyarova@rambler.ru

Федяев Вадим Валентинович – канд. биол. наук, доц. кафедры биохимии и биотехнологии биологического факультета Башкирского государственного университета.
Тел.: 8-347-272-46-33; e-mail: vadim.fedyayev@gmail.com

Фархутдинов Рашид Габдулхаевич – докт. биол. наук, проф., зав. кафедры биохимии и биотехнологии биологического факультета Башкирского государственного университета.
Тел.: 8-347-272-46-33; e-mail: frg2@mail.ru

Веселов Станислав Юрьевич – докт. биол. наук, проф. кафедры биохимии и биотехнологии биологического факультета Башкирского государственного университета.
Тел.: 8-347-272-46-33; e-mail: veselov.stanislav5@yandex.ru

Кудоярова Гузель Радомесовна – докт. биол. наук, проф., зав. лабораторией физиологии растений Уфимского института биологии УФИЦ РАН. Тел.: 8-347-235-53-62;
e-mail: guzel@anrb.ru