

Гиббереллины – группа фитогормонов дитерпеновой природы, которые в большинстве морфогенетических процессов действуют в одном направлении с ауксинами и являются антагонистами цитокининов и абсцизовой кислоты.

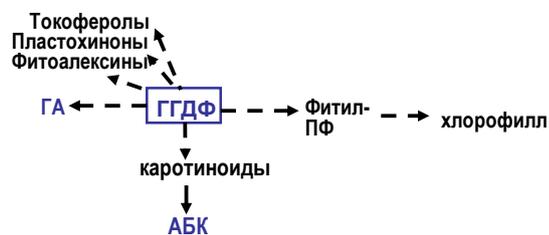
Из тканей растения выделено более сотни различных гиббереллинов, но лишь небольшой процент из них является биологически активными фитогормонами. Наиболее распространенными являются GA1, GA3, GA4 и GA7.

История открытия связана с изучением патогенного гриба *Gibberella fujikuroi*, поражающего посевы риса и вызывающего специфическое заболевание, при котором растения имеют аномально удлиненные междоузлия и низкую продукцию семян.

### Биосинтез и инактивация гиббереллинов.

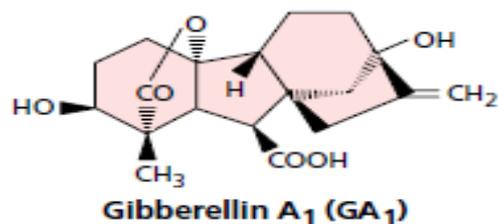
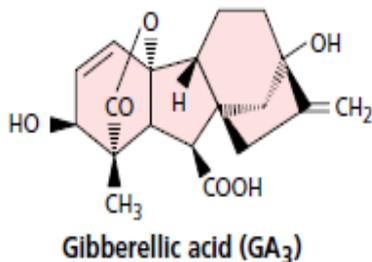
Основное место синтеза гиббереллинов в растении – листовые примордии и молодые листья. Биосинтез гиббереллинов начинается в пластидном компартменте. Из дезоксисилозо-5-фосфата образуется изопентенилпирофосфат и далее (путем конденсации) геранилпирофосфат

и геранилгераниолпирофосфат (ГГДФ) – он же является предшественником с биосинтезе АБК и хлорофилла. Ключевым моментом биосинтеза гиббереллинов является циклизация последнего продукта с образованием энт-копалилдифосфата и энт-каурена. Эти этапы синтеза происходят в пластидах и контролируются ферментами группы терпен-синтаз (TPS).



На втором этапе биосинтеза, которой протекает в эндоплазматической сети, из энт-каурена получают первый гиббереллин - GA12, из которого можно получить все остальные гиббереллины (фермент КО-каурен-оксидаза).

Синтез прочих гиббереллинов из GA12 происходит в цитозоле и катализируется своей группой ферментов 2ODD, ключевыми из которых являются GA-20-оксидазы и GA-3-оксидазы. В результате их работы образуются биологически активные GA1, GA3, GA4 и GA7.



Биосинтез гиббереллинов контролируется многими факторами. Например, начальные стадии биосинтеза находятся под контролем развития (т.е. включаются на определенных стадиях развития и дифференцировки). Переход от GK<sub>12</sub> или GK<sub>53</sub> к GK<sub>9</sub> или GK<sub>20</sub> зависит от длины дня и от уровня ауксинов. В этой точке метаболизма регулируется переход к цветению под действием гиббереллинов.

На переход от GK<sub>9/20</sub> к активным GK<sub>4/1</sub> влияют как ауксины, так и красный свет. Эта стадия биосинтеза находится под контролем при прорастании семян.

Основными путями инактивации гиббереллинов являются гидроксирование с помощью GA-2 оксидаз, эпоксирирование с помощью цитохром-оксидазы и метилирование с использованием S-аденозил-метионина как донора метильных групп – эту реакцию катализируют GAMT1 и GAMT2. Также GA могут образовывать конъюгаты с глюкозой.

### Пути регулирования уровня активных гиббереллинов в тканях растений

Ключевую роль в контроле уровня активных гиббереллинов в растении играет последний этап их биосинтеза. В связи с этим основным способом регулирования концентрации активных гиббереллинов в растении является контроль экспрессии генов, кодирующих ферменты семейства 2ODD.

Важную роль в поддержании гомеостаза гиббереллинов играет регуляция их биосинтеза конечным продуктом.

В контроле развития растений гиббереллины являются антагонистами цитокининов, этилена и АБК и действуют в одном направлении с ауксинами. Для некоторых гормонов установлена способность регулировать концентрацию активных гиббереллинов через контроль экспрессии генов 2ODD (например, ауксин активирует *GA3ox* и ингибирует *GA2ox*).

Также существуют механизмы регуляции концентрации гиббереллинов в разных органах.

Так, в апикальной меристеме гомеодомен-содержащие транскрипционные факторы KNOX, функция которых связана с поддержанием пролиферации и недифференцирования клеток центральной зоны ПАМ, репрессируют транскрипцию гена *GA20ox* и тем самым полностью подавляют наличие активных гиббереллинов. Напротив, снижение уровня экспрессии генов KNOX на периферии ПАМ дает возможность для синтеза активных гиббереллинов, которые способствуют закладке латеральных органов – листьев и цветков.

Поскольку гиббереллины являются индукторами цветения, регуляция концентрации этих гормонов в ПАМ важна также для контроля перехода к цветению. Ключевую роль в терминации вегетативной меристемы и развитии флоральных органов играет гомеозисный ген AGAMOUS (AG), который начинает экспрессироваться сразу после индукции цветения и кодирует транскрипционный фактор, контролирующий развитие андроцея и гинецея. Установлено, что AG позитивно регулирует концентрацию гиббереллинов в развивающемся цветке, напрямую связываясь с промоторами генов *GA3ox*. Повышение концентрации гиббереллинов во флоральной меристеме стимулирует дифференцировку органов цветка.

В семенах. Гиббереллины стимулируют прорастание и дальнейшее вегетативное развитие растения и в этом являются антагонистами АБК, функции которой связаны с созреванием зародыша и периодом покоя. Таким образом, для нормального развития семян необходим механизм, регулирующий баланс этих двух фитогормонов. Этот механизм включает в себя транскрипционные факторы LEAFY COTYLEDON 2 (LEC 2) и FUSCA 3 (FUS3). Первые активируют *GA3ox* и *GA20ox*, повышая тем самым уровень гиббереллинов, а второй – активирует *GA2ox*, уменьшая уровень активных гиббереллинов.

Также на уровень активных ГК в семенах влияет транскрипционный фактор с MADS-боксом AGAMOUS-LAKE 15 (AGL15), который накапливается в тканях зародыша и повышает уровень экспрессии генов *GA2ox*, снижая таким образом уровень активных гиббереллинов при развитии зародыша.

Регуляция светом. Экспрессия генов 2ODD регулируется многими внешними факторами, такими как свет, температура и стресс. Световая регуляция концентрации активных гиббереллинов крайне важна для прорастания семян, фотоморфогенеза, а также для фотопериодической регуляции удлинения стебля и цветения.

Ключевую роль в прорастании семян под действием света играют фитохромы А и В, активация которых вызывает повышение уровней экспрессии генов *GA3ox*, участвующих в активации гиббереллинов, и снижении уровней экспрессии генов *GA2ox*, действующих в их инактивации. Это приводит к резкому повышению концентрации активных гиббереллинов в семенах.

Негативным регулятором фитохром-зависимого контроля уровня активных гиббереллинов является белок PIL5. При активации фитохромов красным светом происходит деградация взаимодействующего с ними белка PIL5, что влечет за собой изменение уровней

экспрессии генов *GA3ox* и *GA2ox*. Посредником в этих взаимоотношениях служат репрессоры передачи гиббереллинового сигнала – DELLA-белки.

### **Рецепция и передача сигнала гиббереллинов**

Путь передачи сигнала при ответе на гиббереллины включает в себя четыре основных компонента:

1. Рецептор GID1 – растворимый ядерный белок.
2. Компоненты убиквитин-лигазного комплекса SCF.
3. Репрессоры ответа на гиббереллин – белки DELLA, относящиеся к семейству транскрипционных факторов GRAS.
4. Гиббереллин-зависимые транскрипционные факторы GAMYB.

#### **Белки DELLA.**

Установлено, что ответ растения на гиббереллины зависит от деградации DELLA-белков, которые при отсутствии сигнала конститутивно связаны с промоторами гиббереллин-регулируемых генов.

Белки DELLA относятся к семейству транскрипционных факторов GRAS, являются очень разнообразной группой и отвечают: 1) за репрессию гиббереллин-регулируемых генов; 2) за контроль синтеза активных гиббереллинов *GA3ox* и *GA2ox*; 3) за гиббереллиновые рецепторы GID1a и GID1b; 4) гены убиквитин-лигазного комплекса SCF; 5) гены транскрипционных факторов GAMYB; 5) связывают передачу сигнала от гиббереллинов и другими сигнальными путями (ауксин, АБК, этилен).

#### **Белок GID1- рецептор гиббереллинов**

По своей химической природе гиббереллины являются слабыми органическими кислотами, которые могут проникать в клетку в виде анионов путем пассивной диффузии, таким образом, рецепция гиббереллинов происходит внутри клетки.

Рецептором является растворимый ядерный белок GID1 (a,b,c). По своей структуре он относится к семейству гормон-чувствительных липаз, но не имеет ферментативной активности. Активированный GID1 взаимодействует с DELLA-белками, что изменяет конформацию последних и делает возможным присоединение к нему ключевого компонента убиквитин-лигазного комплекса SCF с последующей деградацией 26-протеосомой. В результате происходит дерепрессия ответа на гиббереллины.

#### **Гиббереллин-зависимые транскрипционные факторы GAMYB.**

Действуют в передаче сигнала гиббереллинов ниже DELLA-белков и позитивно регулируют транскрипцию гиббереллин-зависимых генов. Это, например, транскрипционный фактор GAMYB1, позитивно регулирующий экспрессию генов  $\alpha$ -амилазы или GAMYB33, действующий на гены идентичности органов цветка LEAFY или на гиббереллин-зависимое развитие трихомов под действием гена GLABROUS1.

О других путях передачи гиббереллинового сигнала известно достаточно мало. Однако показано, что в трансдукции сигнала участвует цГМФ. Предполагают участие в трансдукции гиббереллинового сигнала ионов кальция и кальмодулина.

### **Функции гиббереллинов в развитии растений**

1. Контроль прорастания семян.

Регуляция периада покоя и прорастания семян – один из процессов, зависящий от баланса двух групп фитогормонов-антагонистов – гиббереллинов и абсцизовой кислоты. Гиббереллины стимулируют прорастание и дальнейшее вегетативное развитие. Основную

функцию в гидролизе крахмала в эндосперме выполняют  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы:  $\beta$ -амилазы гидролизуют крахмал до олигосахаридов, которые затем превращаются в мальтозу с помощью  $\alpha$ -амилаз. Зародышевым сигналом-индуктором синтеза и секреции ферментов из алейронового слоя являются гиббереллины. Лизис запасных макромолекул эндосперма сам по себе может быть индуктором прекращения периода покоя, так как полученные при этом моно- и дисахариды используются как сигнальные молекулы в клетках растений. С другой стороны, возможно, что наряду с генами  $\alpha$ -амилаз гиббереллины запускают экспрессию каких-то других генов вегетативного развития. Например, ген *EPR1*, кодирующий белок из семейства экстенсинов, экспрессия которого быстро повышается перед прорастанием и позитивно регулируется гиббереллинами.

Процесс разрушения крахмала в семенах злаков очень важен для пивоварения. Чтобы получить пиво, семена ячменя проращивают, выжидают, когда крахмал разрушится, а затем вываривают проростки в кипящей воде. Экстракт упаривают и получают темную сладкую массу - солод. Качество солода зависит от жизнеспособности зародышей и от того, насколько хорошо они вырабатывают гиббереллины. Чем ниже всхожесть семян, тем хуже солод.

Теперь благодаря открытию гиббереллинов можно получать качественный солод из плохо прорастающих семян - достаточно их обработать слабым раствором гиббереллинов, как начнется разрушение крахмала. Причем даже наличие зародыша оказывается не обязательным: обломки семян также пригодны для производства солода.

Гиббереллины стимулируют прорастание не только семян злаков, но и других растений. У подсолнечника и тыквы эти гормоны запускают разрушение запасных жиров и их окисление до сахаров, у бобовых мобилизуют гранулы запасных белков и т.д. Именно поэтому рекомендуют обрабатывать гиббереллином семена, клубни и луковицы перед посадкой: увеличивается % прорастания, рост становится более активным.

АБК является антагонистом гиббереллинов в контроле прорастания семян. Во-первых АБК активирует транскрипционные факторы *ABI3*, *FUS3*, *LEC2*, которые являются основными позитивными регуляторами созревания зародыша и предположительно осуществляют репрессию «генов прорастания». Во-вторых, АБК снижает концентрацию свободных гиббереллинов через позитивную регуляцию экспрессии генов *GA2ox*. В-третьих, АБК репрессирует передачу сигнала гиббереллинов, участвуя в стабилизации DELLA-белков.

## **2. Роста стебля в длину**

Стимуляция роста стебля в длину – первая из открытых физиологических функций гиббереллинов. Обработка растений гиббереллинами стимулирует пролиферацию клеток междоузлий и их роста растяжением. Гиббереллин-зависимое повышение частоты митозов наиболее хорошо заметно в субапикальных районах побега при переходе к цветению у розеточных растений длинного дня, а также в интеркалярных меристемах риса, растущего в глубокой воде. При этом в апикальной меристеме побега гиббереллины выполняют строго противоположную функцию – ингибируют пролиферацию и стимулируют дифференцировку клеток, благодаря чему для нормального развития важно поддержание конститутивно низкой концентрации гиббереллинов в ПАМ. Таким образом, гиббереллины могут выполнять противоположные функции в контроле развития разных меристем.

На интеркалярных меристемах было показано, что гиббереллины стимулируют деление клеток благодаря позитивной регуляции экспрессии генов, кодирующих циклин-зависимую протеинкиназу А (*CDKA*), контролирующую все этапы клеточного цикла и гена *CycA1;1*, участвующего в контроле S-фазы и перехода G2-M.

Основные события, связанные с гиббереллин-зависимым ростом клеток в длину, также имеют место в интеркалярных меристемах междоузлий. Механизмы стимуляции роста клеток гиббереллинами иные, чем у ауксинов: гиббереллины не вызывают активации. H<sup>+</sup>-АТФаз и закисления клеточной стенки. Стимуляция роста клеток гиббереллинами – гораздо

более медленная реакция, чем ауксин-зависимое растяжение клеток. Они активируют ряд генов ЕХР, кодирующих экспансины, а также гены ХЕТ, продуктами которых являются ферменты ксилоглюкан-эндотрансгликозилазы, играющие роль в метаболизме полисахаридов клеточной стенки.

Биосинтез гиббереллинов можно подавить с помощью некоторых **ретардантов** (один из таких агентов - паклобутразол). Паклобутразол широко используется при выращивании растений. Слишком большая высота иногда бывает нежелательной. Например, крупные цветки на коротких цветоножках (т.е. в плотных соцветиях) смотрятся более эффектно, чем на длинных. Если при выращивании высокорослых сортов вовремя провести обработку ретардантом, то получатся "искусственные карлики". Так, из Голландии часто поставляют "карликовые" хризантемы, каланхоэ, горечавки и др. растения. Они пользуются большим спросом, однако после продажи ретарданты перестают действовать и рост растений.

### 3. Регуляция зацветания

Существуют четыре основных пути регуляции зацветания: путь длинного дня, отвечающий за переход к цветению при увеличении продолжительности светового периода; автономный путь, который контролирует зацветание как при длинном, так и при коротком дне; путь вернализации, запускающий цветение после кратковременного периода низких температур; и гиббереллин-зависимый путь, который наиболее важен для перехода к цветению в условиях короткого дня.

В основе гиббереллин-зависимого контроля зацветания лежит позитивная регуляция экспрессии генов, играющих ключевую роль в интеграции процессов цветения: индуктора экспрессии гомеостатических генов цветка – гена LEAFY (LFY), основного инициатора цветения FLOWERING LOCUS T (FT) и его мишени – гена SOC1. В промоторе гена LFY обнаружена GAMYB-связывающая последовательность.

У растений длинного дня увеличение продолжительности светового периода стимулирует рост стебля в длину с последующей индукцией цветения (особенно у розеточных форм). Причиной этого является фитохром-зависимое повышение уровня экспрессии генов *GA20ox*, которое приводит к увеличению концентрации свободных гиббереллинов в побегах.

4. Еще один пример аттрагирующего действия гиббереллинов - **стимуляция развития бессемянных плодов**. Особенно это важно при выращивании бескосточковых сортов винограда. Если применить гиббереллин, ягоды получаются более крупными и урожай возрастает.

### 5. Гиббереллин и проявление пола у растений.

С помощью гиббереллина можно вызвать изменение пола у растений. В 1970-х годах под руководством М.Х.Чайлахяна были проведены исследования на огурцах и конопле. Огурцы образуют как мужские, так и женские цветки на одном растении, а конопля относится к типично двудомным растениям (мужские и женские цветки на разных экземплярах). Обработка гиббереллинами вызывала увеличение % мужских растений у конопли и усиливала закладку мужских цветков на огурцах. Гормоном-антагонистом в этих экспериментах выступал цитокинин, который вызывал образование женских цветков.

Однако, опыты, проведенные в США на кукурузе показали обратный эффект: при обработке ГК<sub>3</sub> за 8-9 дней до мейоза в мужской метелке образовались женские цветки и семена, а обработка за 3 дня до мейоза приводила к мужской стерильности у кукурузы. Мужскую стерильность можно вызывать гиббереллином также у риса (при болезни "баканоз").

Иногда проявление пола зависит не только от вида, но и от генетической линии, к которой принадлежит растение. Например, обработка гиббереллинами томатов дикого типа вызывала образование избыточного числа гнезд в завязях (стимулировала женское развитие).

У мутантов томата *stamenless*, лишенных тычинок, гиббереллин вызывал нормализацию андроеца, т.е. стимулировал развитие мужской сферы в цветке.

Несомненно, уровень гиббереллинов влияет на проявление пола у растений. Однако, результат зависит от вида, линии, и внешних обстоятельств, при которых проводится обработка.

6. Гибберелины **усиливают пигментацию венчика** за счет активации работы халкон- синтетазы и тем самым ускоряя биосинтез антоцианов.