



BIOMICS/БИОМИКА

ISSN 2221-6197 <http://biomicsj.ru>



**ЭТИЛЕН КОНТРОЛИРУЕТ УРОВЕНЬ АУКСИНОВ В КОРНЯХ
ПУТЕМ ВЛИЯНИЯ НА ИХ ТРАНСПОРТ И КОНЬЮГАЦИЮ**

Коробова А.В.¹, Ахтямова З.А.¹, Васинская А.Н.¹, Кулуев Б.Р.², Кудоярова Г.Р.¹

¹Уфимский институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября, 69, E-mail: muksin@mail.ru

²Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября, 71

Резюме

Цель данной работы состояла в оценке влияния предшественника этилена 1-аминоциклопропановой кислоты (АЦК) на уровень, распределение между побегом и корнем и метаболизм ауксинов у растений арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) исходного экотипа Columbia. Экзогенная АЦК снижала содержание ИУК в корнях, однако не влияла на накопление их массы. Ранее нами было показано, что потеря чувствительности к этилену у растений арабидопсиса как в результате мутации (*etr1-1*), так и при фармакологическом действии ингибитора рецепции этилена 1-МЦП на трансформированные DR5::GUS конструкцией растения, приводила к увеличению уровня ИУК в корнях. Все это позволяет нам сделать вывод, что этилен способен препятствовать чрезмерному накоплению ауксинов в корнях, тем самым поддерживая их рост. Введение в среду АЦК приводило к снижению соотношения содержания ИУК в корнях и побегах на фоне неизменного суммарного содержания ИУК в этих органах растений, а также к повышению в корнях экспрессии гена WES1, ответственного за связывание ауксинов с аминокислотами. Можно предполагать, что возможными механизмами снижения уровня ИУК в корнях под влиянием этилена являются повышение оттока ауксина из побега в корни и усиление его инактивации путем конъюгации.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*; АЦК; ИУК; масса корней; перераспределение ИУК; конъюгация ИУК; WES1

Цитирование: Коробова А.В., Ахтямова З.А., Васинская А.Н., Кулуев Б.Р., Кудоярова Г.Р. Этилен контролирует уровень ауксинов в корнях путем влияния на их транспорт и конъюгацию // Биомика. 2020. Т.12(1). С. 1-7. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-1

© Автор(ы)

**ETHYLENE CONTROLS THE AUXIN LEVEL IN THE ROOTS
BY INFLUENCING THEIR TRANSPORT AND CONJUGATION**

Korobova A.V.¹, Akhtyamova Z.A.¹, Vasinskaya A.N.¹, Kuluev B.R.², Kudoyarova G.R.¹

¹Institute of Biology – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054, Prospect Oktyabrya 69; E-mail: muksin@mail.ru

²Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054, Prospect Oktyabrya 71

Resume

The aim of this work was to assess the influence of the ethylene precursor 1-aminocyclopropanoic acid (ACC) on the level, distribution between shoot and root, and auxin metabolism in plants of *Arabidopsis thaliana* of the original Columbia ecotype. Exogenous ACC reduced the content of IAA in the roots, but did not affect the accumulation of their mass. We previously showed that the loss of

sensitivity to ethylene in *Arabidopsis* plants both as a result of a mutation (*etr1-1*) and during the pharmacological action of an ethylene receptor inhibitor 1-MCP on plants transformed with DR5::GUS led to an increase in the level of IAA in the roots. All this allows us to conclude that ethylene is able to prevent the excessive accumulation of auxins in the roots, thereby supporting their growth. The introduction of ACC into the medium led to a decrease in the ratio of IAA content in the roots and shoots against the background of a constant total IAA content in these plant organs, as well as to an increase in the expression of the WES1 gene in the roots, which is responsible for binding of auxins to amino acids. It can be assumed that the possible mechanisms for reducing the level of IAA in the roots under the influence of ethylene are an increase in the outflow of auxin from shoots to roots and an increase in its inactivation by conjugation.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*; ACC; IAA; root mass; IAA allocation; IAA conjugation; WES1

Citation: Korobova A.V., Akhtyamova Z.A., Vasinskaya A.N., Kuluev B.R., Kudoyarova G.R. Ethylene controls the auxin level in the roots by influencing their transport and conjugation. *Biomics*. 2020. V.12(1). P. 1-7.
DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-1

© The Author(s)

Введение

Взаимодействие ауксинов и этилена в регуляции роста корней широко обсуждается [Qin et al., 2019]. Эта концепция основана на том, что оба эти гормона при их введении в растение одинаково действуют на рост корней, ингибируя его [Abts et al., 2017]. Второй аргумент в пользу взаимодействия ауксинов и этилена заключается в том, что потеря чувствительности к одному из них приводит к снижению способности второго гормона ингибировать рост корней [Korobova et al., 2016; Qin et al., 2019]. Одно из предположений, сформулированных для объяснения этого феномена, заключается в том, что этилен вызывает накопление ауксинов в корнях, и именно повышенная под влиянием этилена концентрация ауксинов тормозит рост корней [Stepanova et al., 2007]. Это предположение основано, в основном, на обнаруженной индукции под влиянием этилена экспрессии гена *WEI2*, контролирующего синтез триптофана (довольно отдаленного предшественника ауксина индолилуксусной кислоты (ИУК) [Stepanova et al., 2007]. Хотя в литературе можно встретить и противоположные по характеру сведения о репрессии под влиянием этилена другого гена (*YUCCA*), контролирующего непосредственно синтез ИУК [Pacheco-Villalobos et al., 2013], представление о накоплении ауксинов под влиянием этилена доминирует. Вместе с тем, следует отметить, что концентрацию ауксинов в растениях, обработанных этиленом или его предшественником, измеряли лишь в небольшом количестве экспериментов, а полученные данные оказались противоречивы. В одних случаях было выявлено повышение уровня ауксинов в кончиках корней растений арабидопсиса [Stepanova et al., 2007], в других – снижение [Pacheco-Villalobos et al., 2013]. Цель данной работы состояла в оценке влияния предшественника этилена АЦК на уровень ауксинов и его распределения между побегом

и корнем у растений арабидопсиса. Параллельно с измерением содержания ИУК измерялась экспрессия генов *YUC1*, *YUC4* и *WES1*, ответственных за метаболизм ауксинов. Постановка нашего опыта отличалась от большинства аналогичных исследований тем, что растения росли в песке, а не в агаре, в который был добавлен сахар, который может влиять на реакцию растений [Mishra et al., 2009].

Материалы и методы

Исследования проводили на растениях арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) исходного экотипа Columbia (Col-0) и нечувствительных к этилену мутантов *etr1-1*. Для выравнивания прорастания семян инкубировали в чашке Петри на влажной фильтровальной бумаге в холодильной камере в течение 3 суток. Затем их раскладывали по 4 шт. на сосуд на поверхность песка, насыщенного раствором Хогланда-Арнона, и помещали в климатическую камеру MLR-350H, (Sanyo, Япония). Растения выращивали при температуре 23°/19°C (день/ночь), 80% относительной влажности воздуха, освещенности 120 мкмоль/(м² с) ФАР и 16-часовом фотопериоде, как описано в работе [Shtratnikova et al., 2015].

Обработку растений Columbia раствором предшественника этилена - 1-аминоциклопропановой кислоты (АЦК) проводили в возрасте 16 и 18 сут. Для этого АЦК растворяли в питательном растворе и добавляли в песок, где выращивались растения, до конечной концентрации 10 мкмоль/л [Zhang et al., 2010]. Через 2 суток после второй обработки АЦК производили фиксацию корней для определения концентрации ИУК и экспрессии генов. Еще через 2 сут измеряли массу корней.

Содержание ауксинов измеряли с помощью иммуноферментного анализа. Предварительно гормоны экстрагировали из тканей корней 80%-ным этанолом в течение 16 ч, затем проводили их очистку

и концентрирование путем эфирной экстракции с последующим метилированием диазометаном [Lebedev et al., 2018].

Определение уровня транскриптов генов синтеза (YUC1 и YUC4) и конъюгации (WES1) ауксинов проводили по методике, описанной ранее [Korobova et al., 2016]. РНК выделяли из корней и листьев растений исходного экотипа и мутанта *etr1-1* при помощи тризола. Тотальную РНК обрабатывали RQ1 ДНКазой, свободной от РНКаз (Promega, США), затем проводили обратную транскрипцию, используя олиго (dT) праймер и M-MuLV-обратную транскриптазу (NEB, США). Для количественного анализа транскриптов генов мы выбрали праймеры, используя программу PrimerSelect (пакет Lasergene). ОТ-ПЦР в реальном времени проводили в термоциклере Rotor-GeneTM 6000 (Corbett Research, Австралия) в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I. В качестве внутреннего контроля использовали ген домашнего хозяйства арабидопсиса *AtACT2* (*At3g18780*).

Статистическую обработку данных проводили с помощью MS Excel. В таблице и на рисунках представлены средние значения из 3 биологических повторностей, указаны их стандартные ошибки. Достоверные различия ($p < 0,05$, t-тест) обозначены звездочкой.

Результаты и обсуждение

Как видно из рис. 1, обработка предшественником этилена АЦК, снижала содержание ИУК в корнях растений арабидопсиса. Эти результаты соответствуют полученным нами ранее данным о повышенной концентрации ауксинов в корнях нечувствительного к этилену мутанта по сравнению с растениями исходного генотипа Col-0 (Коробова и др. (Korobova et al.), 2019). Необходимость этилена для ограничения накопления ауксинов также подтверждали результаты опытов, в которых инактивация рецептора этилена приводила к накоплению ауксина в корнях, что было показано чувствительной к ауксину репортерной конструкцией DR5::GUS (Коробова и др. (Korobova et al.), 2019). В совокупности эти результаты свидетельствуют о том, что этилен может ограничивать накопление ауксинов в корнях растений арабидопсиса данного возраста, выращенных в песке. Эти результаты соответствуют некоторым данным литературы [Pacheco-Villalobos et al., 2013], а их противоречие по сравнению с другими результатами можно объяснить тем, что накопление ауксинов под влиянием этилена регистрировали в кончике корней [Stepanova et al., 2007], в то время как мы анализировали целые корни, как и авторы статьи, получившие сходные с нашими результаты.

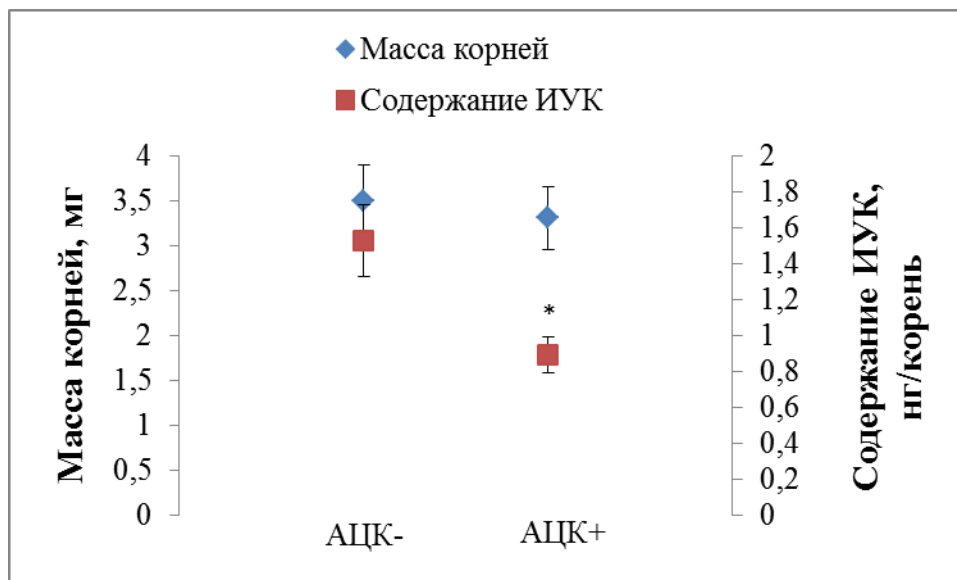


Рис. 1. Масса корней ($n = 30$) и содержание в них ИУК ($n = 9$) у растений арабидопсиса исходного экотипа Columbia после двукратной обработки предшественником этилена 1-аминоциклопропановой кислотой (АЦК+). Первая обработка проводилась в возрасте 16 сут. * - различия между вариантами достоверны при $p < 0,05$; t-тест.
Fig. 1. Root mass ($n = 30$) and root IAA content ($n = 9$) in Arabidopsis plants of parent ecotype Columbia after double treatment with ethylene precursor 1-aminocyclopropanoic acid (ACC+). The first treatment was at the age of 16 days. * - differences are significant at $p < 0,05$; t-test.

Обработка АЦК не влияла на массу корней в данных опытах. Ранее мы зарегистрировали пониженную массу корней у растений нечувствительного к этилену мутанта [Korobova et al., 2016]. Кроме того, инактивация рецепторов этилена с помощью 1-МЦП также уменьшала массу корней растений исходного генотипа Col-0 по сравнению с контролем [Korobova et al., 2018]. Эти результаты свидетельствуют о том, что этилен по-разному влияет на удлинение корней [Qin et al., 2019] и накопление ими биомассы: ингибируя первый процесс и поддерживая второй. Хотя обработка АЦК не приводила к увеличению массы корней, тем не менее, можно констатировать, что повышение продукции этилена из его предшественника стабилизировала накопление массы корней. Все это позволяет нам сделать вывод, что этилен способен контролировать уровень ауксинов в корнях, а именно, - препятствовать их избыточному накоплению, что может способствовать поддержанию роста корней.

Представляло интерес выяснить, каков мог быть механизм влияния этилена на уровень ауксинов

в корнях растений. Мы рассчитали суммарное содержание этого гормона в корнях и побеге одного растения и их соотношение ((содержание ИУК в корнях одного растения)/(содержание ИУК в побеге одного растения)). Как видно из рис. 2А, введение предшественника этилена в среду привело к снижению соотношения содержания ИУК в корнях и побегах растений Columbia (рис. 2А), тогда как суммарное содержание ИУК в органах осталось неизменным (рис. 2Б). Эти результаты позволяют предполагать, что под воздействием АЦК снижался транспорт ИУК из листьев в корни, что привело к перераспределению ауксина в пользу побега. Подобные результаты (снижение содержания ауксинов в корнях и накопление в побеге) были получены при изучении влияния на растения плотности посева, в регуляции которого показана роль этилена [Vysotskaya et al., 2018]. В этом случае роль транспорта ауксинов была показана с помощью специфического ингибитора нафтилфталамовой кислоты [Vysotskaya et al., 2018].

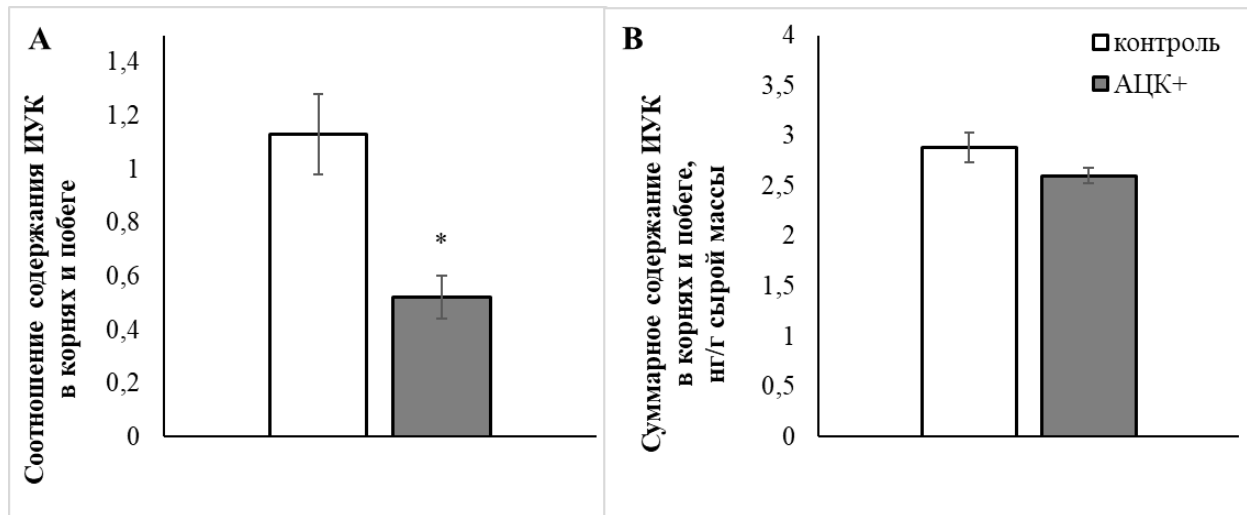


Рис. 2. Соотношение содержания ИУК в корнях и побеге - (содержание ИУК в корнях одного растения)/(содержание ИУК в побеге одного растения) (А) и суммарное содержание ИУК в корнях и побеге (В) растений арабидопсиса исходного экотипа Columbia после двукратной обработки предшественником этилена 1-аминоциклопропановой кислотой (АЦК+). Первая обработка проводилась в возрасте 16 сут. * - различия между вариантами достоверны при $p < 0,5$; t-тест ($n = 9$).

Fig.2. The ratio of the IAA content in the roots and shoot - (IAA content in the roots of one plant)/(IAA content in the shoot of one plant) (A) and total IAA content in roots and shoot (B) in Arabidopsis plants of parent ecotype Columbia after double treatment with ethylene precursor 1-aminocyclopropanoic acid (ACC+). The first treatment was at the age of 16 days. * - differences are significant at $p < 0,5$; t-test ($n = 9$).

В литературе есть данные о том, что обработка растений АЦК приводит к увеличению синтеза ауксинов в корнях [Ruzicka et al., 2007]. В отличие от коллег мы зарегистрировали снижение содержания ИУК в корнях, поэтому неудивительно, что мы не обнаружили повышения экспрессии генов

YUC1 и YUC4 после введения предшественника этилена в среду (табл.). Уровень транскриптов этих генов остался на уровне необработанных АЦК растений. Следовательно, падение уровня ИУК в корнях под влиянием этилена мы не можем объяснить снижением их синтеза.

Таблица.

Уровень транскриптов YUC1, YUC4, WES1 генов в корнях растений исходного экотипа Columbia (Col-0) после двукратной обработки предшественником этилена 1-аминоциклопропановой кислотой (АЦК+), а также в корнях нечувствительных к этилену мутантных растений (*etr1-1*) *A. thaliana*

Table. Levels of transcripts of YUC1, YUC4, WES1 genes in the roots of plants of parent ecotype Columbia (Col-0) after double treatment with ethylene precursor 1-aminocyclopropanoic acid (ACC+) and in the roots of ethylene insensitive mutant plants (*etr1-1*) of *A. thaliana*

Ген (код в TAIR) Gene (TAIR)	Col-0	Col-0 + АЦК Col-0 + ACC	<i>etr1-1</i>
YUC1 (AT4G32540)	102 ± 13	90 ± 10	82 ± 8
YUC4 (AT5G11320)	92 ± 11	86 ± 10	89 ± 10
WES1 (AT4G27260)	34 ± 3	74 ± 9	63 ± 6

Первая обработка проводилась в возрасте 16 суток. Значения нормированы по уровню транскриптов гена актина. * - различия между вариантами достоверны при $p < 0,5$; t-тест ($n = 9$).

The first treatment was at the age of 16 days. Values are normalized to the level of transcripts of actin gene. * - differences are significant at $p < 0,5$; t-test ($n = 9$).

Другим процессом, влияющим на пул гормонов в тканях растений, является их конъюгация. Важно было оценить, как изменяется экспрессия WES1 гена, контролирующего связывание ИУК с аминокислотами [Park et al., 2007], под влиянием АЦК. Из таблицы видно, что в корнях уровень транскриптов WES1 после введения в среду АЦК повышался. Следовательно, можно сделать вывод, что этилен может снижать уровень ауксинов в корнях не только путем воздействия на транспорт этого гормона, но и увеличивая его связывание с аминокислотами.

Интересно то, что в корнях нечувствительных к этилену мутантов *etr1-1* уровень экспрессии гена WES1 был также в 2 раза выше, чем у необработанных АЦК растениями Columbia. Усиление инактивации ауксинов у мутантов по рецептору этилена могло происходить вследствие субстратного регулирования. Высокий уровень ИУК в корнях мог стимулировать их связывание с ферментом по принципу обратной связи.

Заключение

В данной работе мы зарегистрировали снижение концентрации ИУК после обработки растений предшественником этилена АЦК. Ранее мы показали, что потеря чувствительности к этилену у

растений арабидопсиса как в результате мутации (*etr1-1*), так и при фармакологическом действии ингибитора рецепции этилена 1-МЦП на трансформированные DR5::GUS конструкцией растения, приводила к увеличению уровня ИУК в корнях [Коробова и др. (Korobova et al.), 2019]. Все это позволяет нам сделать вывод, что этилен способен контролировать уровень ауксинов в корнях, а именно, - препятствовать их чрезмерному накоплению. Ауксины в высоких концентрациях способны подавлять как удлинение, так и накопление массы корней [Qin et al., 2019; Коробова и др. (Korobova et al.), 2019], следовательно, нормализация уровня этих гормонов, по-видимому, необходима для поддержания роста корней.

У растений исходного экотипа Columbia под влиянием АЦК в наших экспериментах происходило снижение соотношения содержания ИУК в корнях и побегах на фоне неизменного суммарного содержания ИУК в этих органах растений. Поэтому можно предполагать, что возможным механизмом снижения уровня ИУК в корнях под влиянием этилена является снижение оттока ауксина из побегов в корни. Другим механизмом могло быть усиление уровня инактивации ауксинов, т.е. связывания их с аминокислотами.

Работа выполнена при частичной поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (№ 18-34-00239).

Литература

1. Коробова А.В., Басырова Л.Х., Ахтямова З.А., Васинская А.Н., Зайнутдинова Э.М., Иванов И.И., Кудоярова Г.Р. Роль ИУК в накоплении массы корней арабидопсиса в зависимости от чувствительности растений к этилену // *Экобиотех.* Т. 2. № 1. С. 86-91. doi: 10.31163/2618-964X-2019-2-1-86-91
2. Abts W., Vandenbussche B., De Proft M., Van de Poel B. The role of auxin – ethylene crosstalk in orchestrating primary root elongation in sugar beet // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. A. 444. doi: 10.3389/fpls.2017.00444
3. Korobova A., Vasinskaya, Kirpichnikova A., Shishova M., Kudoyarova G. Cross-regulation of *Arabidopsis* root growth by plant hormones auxins and ethylene // *Bio. Comm.* 2018. V. 63. I. 4. P. 256–260. doi: 10.21638/spbu03.2018.404
4. Korobova, A. V., Vysotskaya, L. B., Vasinskaya, A. N., Kuluev, B. R., Veselov, S. Yu., Kudoyarova, G. R. 2016. Dependence of root biomass accumulation on the content and metabolism of cytokinins in ethylene-insensitive plants // *Russ. J. Plant Physiol.* 63(5):597–603. doi: 10.7868/S0015330316050079

5. Lebedev V.G., Shestibratov K.A., Korobova A.V., Shendel G.V., Kudoyarova G.R. Effect of glutamine synthetase gene overexpression in birch (*Betula pubescens*) plants on auxin content and rooting *in vitro* // *Doklady biochemistry and biophysics*. 2018. V. 480. P. 143-145. doi: 10.1134/S1607672918030043
6. Mishra B.S, Singh M., Aggrawal P., Laxmi A. Glucose and auxin signaling interaction in controlling *Arabidopsis thaliana* seedlings root growth and development // *PLoS ONE*. 2009. V. 4. I. 2. e4502. doi: 10.1371/journal.pone.0004502
7. Pacheco-Villalobos D., Sankar M., Ljung K., Hardtke C.S. Disturbed local auxin homeostasis enhances cellular anisotropy and reveals alternative wiring of auxin-ethylene crosstalk in *Brachypodium distachyon* seminal roots. *PLoS Genet*. 2013. V. 9. I. 6. e1003564. doi: 10.1371/journal.pgen.1003564
8. Park J.-E., Park J.-Y., Kim Y.-S., Staswick P.E., Jeon J., Yun J., Kim S.-Y., Kim J., Lee Y.-H., Park Ch.-M. GH3 – mediated auxin homeostasis links growth regulation with stress adaptation response in *Arabidopsis* // *The Journal of Biological Chemistry*. 2007. V. 282. P. 10036-10046. doi: 10.1074/jbc.M610524200
9. Qin H., He L., Huang R. The coordination of ethylene and other hormones in primary root development // *Front. Plant Sci*. 2019. V. 10. A. 874. doi: 10.3389/fpls.2019.00874
10. Ruzicka K., Ljung K., Vanneste S., Podhorska R., Beeckman T., Friml J., Benkova E. Ethylene regulates root growth through effects on auxin biosynthesis and transport-dependent auxin distribution // *The Plant Cell*. 2007. V. 19. P. 2197–2212. doi: 10.1105/tpc.107.052126
11. Shtratnikova V.Yu., Kudryakova N.V., Kudoyarova G.R., Korobova A.V., Akhiyarova G.R., Danilova M.N., Kusnetsov V.V., Kulaeva O.N. Effects of nitrate and ammonium on growth of *Arabidopsis thaliana* plants transformed with the ARR5::GUS construct and a role for cytokinins in suppression of disturbances induced by the presence of ammonium // *Russ. J. Plant Physiol*. 2015. V. 62. P. 741–752. doi: 10.7868/S0015330315060159
12. Stepanova A.N., Yun J., Likhacheva A.V., Alonso J.M. Multilevel interactions between ethylene and auxin in *Arabidopsis* roots // *Plant Cell*. 2007. V. 19. P. 2169–2185. doi: 10.1105/tpc.107.052068
13. Vysotskaya L.B., Veselov S.Yu., Kudoyarova G.R. Effect of competition and treatment with inhibitor of ethylene perception on growth and hormone concentration of lettuce plants // *J. Plant Growth Regul*. 2017. V. 36. P. 450-459. doi: 10.1007/s00344-016-9653-7
14. Zhang W., Hu W., Wen C.-K. Ethylene preparation and its application to physiological experiments. *Plant Sign. Behav*. 2010. V. 5. I. 4. P. 453-457. Addendum to: Zhang W., Wen C.-K. Preparation of ethylene gas and comparison of ethylene responses induced by ethylene, ACC and ethephon // *Plant Physiol. Biochem*. 2010. V. 48. P. 45-53. doi: 10.1016/j.plaphy.2009.10.002

References

1. Abts W., Vandenbussche B., De Proft M., Van de Poel B. The role of auxin – ethylene crosstalk in orchestrating primary root elongation in sugar beet. *Front. Plant Sci*. 2017. V. 8. A. 444. doi: 10.3389/fpls.2017.00444
2. Korobova A.V., Basyrova L.Kh., Akhtyamova Z.A., Vasinskaya A.N., Zaynutdinova E.M., Ivanov I.I., Kudoyarova G.R. Rol' IUK v nakoplenii massy kornej arabidopsisa v zavisimosti ot chuvstvitel'nosti rastenij k jetilenu. *Ecobiotech*. 2019. V. 2. No. 1. P. 86-91. [Role of IAA in the root mass accumulation of *Arabidopsis* depending on plant sensitivity to ethylene.] (In Russian) doi: 10.31163/2618-964X-2019-2-1-86-91
3. Korobova A., Vasinskaya, Kirpichnikova A., Shishova M., Kudoyarova G. Cross-regulation of *Arabidopsis* root growth by plant hormones auxins and ethylene. *Bio. Comm*. 2018. V. 63. I. 4. P. 256–260. doi: 10.21638/spbu03.2018.404
4. Korobova, A. V., Vysotskaya, L. B., Vasinskaya, A. N., Kuluev, B. R., Veselov, S. Yu., Kudoyarova, G. R. 2016. Dependence of root biomass accumulation on the content and metabolism of cytokinins in ethylene-insensitive plants. *Russ. J. Plant Physiol*. 63(5):597–603. doi: 10.7868/S0015330316050079
5. Lebedev V.G., Shestibratov K.A., Korobova A.V., Shendel G.V., Kudoyarova G.R. Effect of glutamine synthetase gene overexpression in birch (*Betula pubescens*) plants on auxin content and rooting *in vitro*. *Doklady biochemistry and biophysics*. 2018. V. 480. P. 143-145. doi: 10.1134/S1607672918030043
6. Mishra B.S, Singh M., Aggrawal P., Laxmi A. Glucose and auxin signaling interaction in controlling *Arabidopsis thaliana* seedlings root growth and development. *PLoS ONE*. 2009. V. 4. I. 2. e4502. doi: 10.1371/journal.pone.0004502
7. Pacheco-Villalobos D., Sankar M., Ljung K., Hardtke C.S. Disturbed local auxin homeostasis enhances cellular anisotropy and reveals alternative wiring of auxin-ethylene crosstalk in *Brachypodium distachyon* seminal roots. *PLoS Genet*. 2013. V. 9. I. 6. e1003564. doi: 10.1371/journal.pgen.1003564
8. Park J.-E., Park J.-Y., Kim Y.-S., Staswick P.E., Jeon J., Yun J., Kim S.-Y., Kim J., Lee Y.-H., Park

- Ch.-M. GH3 – mediated auxin homeostasis links growth regulation with stress adaptation response in *Arabidopsis*. *The Journal of Biological Chemistry*. 2007. V. 282. P. 10036-10046. doi: 10.1074/jbcM610524200
9. Qin H., He L., Huang R. The coordination of ethylene and other hormones in primary root development. *Front. Plant Sci.* 2019. V. 10. A. 874. doi: 10.3389/fpls.2019.00874
 10. Ruzicka K., Ljung K., Vanneste S., Podhorska R., Beeckman T., Friml J., Benkova E. Ethylene regulates root growth through effects on auxin biosynthesis and transport-dependent auxin distribution. *The Plant Cell*. 2007. V. 19. P. 2197–2212. doi: 10.1105/tpc.107.052126
 11. Shtratnikova V.Yu., Kudryakova N.V., Kudoyarova G.R., Korobova A.V., Akhiyarova G.R., Danilova M.N., Kusnetsov V.V., Kulaeva O.N. Effects of nitrate and ammonium on growth of *Arabidopsis thaliana* plants transformed with the ARR5::GUS construct and a role for cytokinins in suppression of disturbances induced by the presence of ammonium. *Russ. J. Plant Physiol.* 2015. V. 62. P. 741–752. doi: 10.7868/S0015330315060159
 12. Stepanova A.N., Yun J., Likhacheva A.V., Alonso J.M. Multilevel interactions between ethylene and auxin in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell*. 2007. V. 19. P. 2169–2185. doi: 10.1105/tpc.107.052068
 13. Vysotskaya L.B., Veselov S.Yu., Kudoyarova G.R. Effect of competition and treatment with inhibitor of ethylene perception on growth and hormone concentration of lettuce plants. *J. Plant Growth Regul.* 2017. V. 36. P. 450-459. doi: 10.1007/s00344-016-9653-7
 14. Zhang W., Hu W., Wen C.-K. Ethylene preparation and its application to physiological experiments. *Plant Sign. Behav.* 2010. V. 5. I. 4. P. 453-457. Addendum to: Zhang W., Wen C.-K. Preparation of ethylene gas and comparison of ethylene responses induced by ethylene, ACC and ethephon. *Plant Physiol. Biochem.* 2010. V. 48. P. 45-53. doi: 10.1016/j.plaphy.2009.10.002