

DOI 10.17516/1997-1389-0378

УДК 577.175.14:633.16

Secondary Active Transporters Decrease Cytokinin Flow into Barley Shoots and Inhibit their Growth under Phosphate Deficit

Lidiya B. Vysotskaya*,
Arina V. Feoktistova and Guzel R. Kudoyarova
*Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre RAS
Ufa, Russian Federation*

Received 08.07.2020, received in revised form 12.03.2021, accepted accepted 14.03.2022

Abstract. Secondary active transport is one of the most important mechanisms controlling cytokinin distribution between shoots and roots which enables the adaptive growth reaction of barley. Concentrations (ng/g of fresh mass) and contents (ng/organ) of different forms of cytokinins were determined in shoots and roots of barley plants by immunoassay. It was shown that under phosphate deficit the maintenance of root growth, inhibition of root branching and decline in shoot mass of barley plants (*Hordeum vulgare* 'Prairie') was due to decline in shoot cytokinins and their accumulation in the roots. Protonophore carbonyl cyanide-m-chlorophenylhydrazone as an inhibitor of secondary active transport leveled off hormonal reaction to phosphate deficit: it prevented accumulation of cytokinins in roots, increased their content in shoots and changed the percentage of zeatin and its derivatives in total cytokinin content in roots and shoots. A data analysis showed that in roots, protonophore did not change significantly the content of ribosides and nucleotides of zeatin, while uptake of free zeatin by cells was significantly affected by the protonophore and its content decreased dramatically. The role of secondary active trans-membrane transfer is discussed in the context of cytokinins transport from roots to shoots under phosphate deficit.

Keywords: *Hordeum vulgare*, growth, cytokinins, phosphate deficit, secondary active transport.

Acknowledgements. This research was carried out by a budget-supported project in the framework of the state programme AAAA-A18-118022190099-6 and co-sponsored by RFBR project № 20-04-00305. The research equipment was provided by the Agidel Shared Research Facility Centre, UIB UFRC RAS.

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: vysotskaya@anrb.ru
ORCID: 0000-0001-9348-9316 (Vysotskaya L.); 0000-0002-4852-2532 (Feoktistova A.); 0000-0001-6409-9976 (Kudoyarova G.)

Citation: Vysotskaya L. B., Feoktistova A. V., Kudoyarova G. R. Secondary active transporters decrease cytokinin flow into barley shoots and inhibit their growth under phosphate deficit. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2022, 15(1), 120–128. DOI: 10.17516/1997-1389-0378

Вторично активные переносчики снижают приток цитокининов в побеги растений ячменя и подавляют их рост при дефиците фосфатов

Л. Б. Высоцкая, А. В. Феоктистова, Г. Р. Кудоярова
*Уфимский институт биологии Уфимского федерального
исследовательского центра Российской академии наук
Российская Федерация, Уфа*

Аннотация. Исследование посвящено изучению роли вторично активного транспорта как одного из важных механизмов перераспределения цитокининов между побегом и корнем, обеспечивающего приспособительную к дефициту фосфора ростовую реакцию растений ячменя. Определяли концентрацию (нг/г сырой массы) и содержание (нг в целом органе) разных форм цитокининов в побегах и корнях растений ячменя методом иммуноферментного анализа (ИФА). Показано, что при дефиците фосфора поддержание массы корней, подавление их ветвления и снижение массы побегов растений ячменя сорта Прерия были обусловлены снижением концентрации цитокининов в побеге и повышением их содержания в корнях. Применение ингибитора вторично активного транспорта протонофора карбонилцианид-м-хлорфенилгидразона нивелировало гормональную реакцию на дефицит фосфора: предотвращало накопление цитокининов в корне и повышало их содержание в побеге, а также изменяло долю зеатина и его производных в суммарном содержании цитокининов в побегах и корнях. Анализ этих данных показал, что в корнях содержание зеатиннуклеотида и зеатинрибозида изменялось незначительно, в то время как максимально снижалось содержание зеатина, на поглощение которого клетками корней протонофор оказывал существенное влияние в отличие от рибозида. В работе обсуждается важная роль вторично активного трансмембранного переноса в регуляции транспорта цитокининов из корней в побеги при дефиците фосфатов.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare*, рост, цитокинины, дефицит фосфора, вторично активный транспорт.

Благодарности. Данная работа была выполнена при поддержке бюджетного проекта в рамках государственного задания АААА-А18-118022190099-6 и при частичной финансовой поддержке РФФИ № 20-04-00305. В работе было использовано оборудование ЦКП «Агидель» УИБ УФИЦ РАН.

Цитирование: Высоцкая, Л. Б. Вторично активные переносчики снижают приток цитокининов в побеги растений ячменя и подавляют их рост при дефиците фосфатов / Л. Б. Высоцкая, А. В. Феоктистова, Г. Р. Кудоярова // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2022. 15(1). С. 120–128. DOI: 10.17516/1997-1389-0378

Введение

На первый взгляд, растения в отличие от животных не могут отправиться на поиск пропитания, тем не менее способность их корневой системы к быстрому росту обеспечивает возможность освоения значительного объема почвы для захвата необходимых для растения элементов минерального питания. Вместе с тем в условиях ограниченности ресурсов растения испытывают нехватку субстрата для поддержания роста корней. Эту проблему позволяет решить способность растений перераспределять ресурсы в пользу корней за счет торможения роста побега. Важную роль в обеспечении этой адаптивной реакции играют гормоны цитокинины. Поскольку цитокинины необходимы для роста побега (Werner et al., 2003), снижение их концентрации при дефиците элементов минерального питания способствует торможению роста побега, в результате чего освобождается субстрат для поддержания роста корневой системы (Kudoyarova et al., 2015). Поскольку корни способны синтезировать цитокинины (Miyawaki et al., 2004), снижение их притока из корней является сигналом о дефиците элементов минерального питания и способствует падению уровня этого гормона в побегах, тормозя их рост (Sakakibara et al., 2006; Pavlů et al., 2018). Наиболее хорошо изучен механизм снижения притока цитокининов из корней за счет ингибирования их синтеза (Hirose et al., 2008). При азотном и фосфатном голодании было зарегистрировано снижение экспрессии *IPT*-гена, кодирующего фермент изопентениладенин-трансферазу, катализирующий присоединение изопентенильного радикала к аденину и его превращение в цитокинин. Наряду с этим механизмом возможен альтернативный способ регу-

ляции притока цитокининов из корней, связанный с изменением активности специфических переносчиков цитокининов (Burkle et al., 2003). Хотя переносчики цитокининов до последнего времени привлекали к себе меньше внимания, чем хорошо известные переносчики ауксинов (Zažímalová et al., 2010), было показано, что транспортеры азотистых оснований способны переносить цитокинины через мембрану, используя в качестве энергии градиент ионов водорода (так называемый вторично активный транспорт) (Burkle et al., 2003). Изучение мутанта арабидопсиса по гену, кодирующему один из переносчиков цитокининов, выявило зависимость уровня цитокининов в побеге от их поступления из корней (Ko et al., 2014). Ранее было показано, что обработка растений пшеницы протонофором, разрушающим градиент ионов водорода, снижает накопление цитокининов в клетках корней и увеличивает их приток в побеги (Kudoyarova et al., 2014). Также было обнаружено, что при стрессовых воздействиях (тепловом шоке и засолении) снижение уровня цитокининов в побеге связано с переносчиками цитокининов, функционирование которых зависит от вторично активного переноса веществ через мембраны (Дедова и др., 2014; Коробова, 2014). Насколько нам известно, роль таких переносчиков в регуляции распределения цитокининов между побегом и корнем при дефиците элементов минерального питания до настоящего времени не изучалась. В то же время анализ распределения цитокининов между надземным и подземным органами растений арабидопсиса показал (Трекозова и др., 2015), что падение их уровня в побеге при дефиците фосфатов сопровождалось накоплением в корнях, что могло быть следствием ингибирования транспорта

цитокининов из корней в побеги. Цель данной работы заключалась в проверке гипотезы о роли вторично активного трансмембранного переноса в регуляции притока цитокининов из корней в побеги при дефиците фосфатов. В работе представлены результаты изучения влияния дефицита фосфора на содержание и распределение зеатина и его производных между побегом и корнем растений ячменя, а также зависимости этого процесса от обработки растений протонофоров карбонилцианид-м-хлорфенилгидразоном (КЦХФ).

Материалы и методы

Семена растений ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) сорта Прерия стратифицировали трое суток при 4 °С, после чего проращивали на смоченной водопроводной водой фильтровальной бумаге при комнатной температуре в темноте. Проростки пересаживали на плотки, представляющие собой неплотно связанные полые стеклянные трубочки. Растения на плотках переносили на раствор Хогланда–Арнона (Х–А: 0,5 мМ KNO₃, 0,5 мМ Ca(NO₃)₂, 0,1 мМ KН₂PO₄, 0,1 мМ MgSO₄) и выращивали при освещенности 400 мкмоль/м²·с ФАР, 14 ч фотопериоде и температуре 25–28/18 °С (день/ночь). После адаптации к свету и питательному раствору в течение суток растения на плотках переносили на питательные растворы, содержащие фосфаты (P+) и без фосфатов (P-). Дефицит фосфора (P-) моделировали удалением из питательного раствора Х–А соли KН₂PO₄, невольно удаляя из него четвертую часть ионов калия. Для того чтобы уравнивать содержание калия в растворах (P+) и (P-), в контрольном растворе (P+) KН₂PO₄ заменяли на NaН₂PO₄. Соответственно, контрольный модифицированный питательный раствор был следующего состава: 0,5 мМ KNO₃, 0,5 мМ Ca(NO₃)₂, 0,1 мМ NaН₂PO₄,

0,1 мМ MgSO₄. Предварительные опыты показали, что эта замена не оказала существенного влияния на рост растений. Через сутки после переноса проростков на не содержащий фосфат (P-) и содержащий фосфат (P+) питательные растворы протонофор КЦХФ добавляли в корнеобитаемую среду половины четырехсуточных растений каждого из вариантов питательных растворов (P-) и (P+) до конечной концентрации 10 мМ и спустя 1 ч отбирали растительные образцы на содержание гормонов. После отбора проб растения обоих вариантов переносили на (P-) и (P+) среды соответственно. Массу побегов и корней оценивали через пять суток воздействия не содержащей фосфат питательной среды (восьмисуточные растения).

Экстракцию и хроматографическое разделение цитокининов (зеатина, его рибозида и нуклеотида) проводили, как описано ранее (Kudoyarova et al., 2014). Твердофазный иммуноферментный анализ цитокининов проводили с помощью антител к рибозиду зеатина, способных взаимодействовать как с рибозидом зеатина, так и с его нуклеотидом и свободным основанием, как описано (Veselov et al., 1999). Надежность иммуноферментного анализа (ИФА) после экстракции и разделения цитокининов была ранее подтверждена путем сопоставления результатов ИФА с данными, полученными для проростков при одновременном определении гормонов с помощью ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрией (Veselov et al., 2018).

Данные получены в трех независимых экспериментах, для статистического анализа использованы стандартные функции Microsoft Excel.

Результаты

Удаление фосфатов из питательной среды сопровождалось снижением массы побега

по сравнению с контролем (растениями, которые продолжали расти на среде с фосфатами) (рис. 1А). При этом масса корней не изменялась, в результате чего соотношение массы корней к массе побега возрастало: этот показатель составил 0,58 и 0,78 на среде с фосфатами и без них соответственно. Фосфатное голодание не приводило к снижению суммарной длины всех первичных корней (рис. 1Б), а количество боковых корней было меньше у растений на среде без фосфатов (P-) по сравнению с растениями, получавшими фосфор (P+) (рис. 1В).

В побеге концентрация (содержание в расчете на г сырой массы) суммы производных цитокинина зеатина (его свободного основания, рибозида и нуклеотида) снижалась в 1,6 раза под влиянием фосфатного голодания (таблица). Поскольку масса побега через сутки воздействия дефицита несколько снижалась, падение содержания цитокининов в побеге было более значительным (в 2 раза

по сравнению с растениями, которые получили фосфаты) (рис. 2А).

В корнях, напротив, было выявлено накопление цитокининов: их концентрация и содержание возрастали в 1,6 раза по сравнению с контролем (таблица и рис. 2Б). Изменение содержания цитокининов во всем растении (побег+корень) под влиянием дефицита фосфатов было менее существенным, чем в побегах и корнях (их уровень снижался лишь на 7 %). Обработка растений протонатором радикально изменяла распределение цитокининов между побегом и корнем. Их содержание снижалось в корнях и возрастало в побеге, что наиболее заметно проявлялось на фоне дефицита фосфатов, при котором содержание цитокининов в побеге возрастало под влиянием КЦХФ в 2,3 раза и снижалось в корнях в 1,6 раза. В корнях наиболее существенно изменялось содержание свободного основания зеатина: его уровень падал в 2,4 раза,

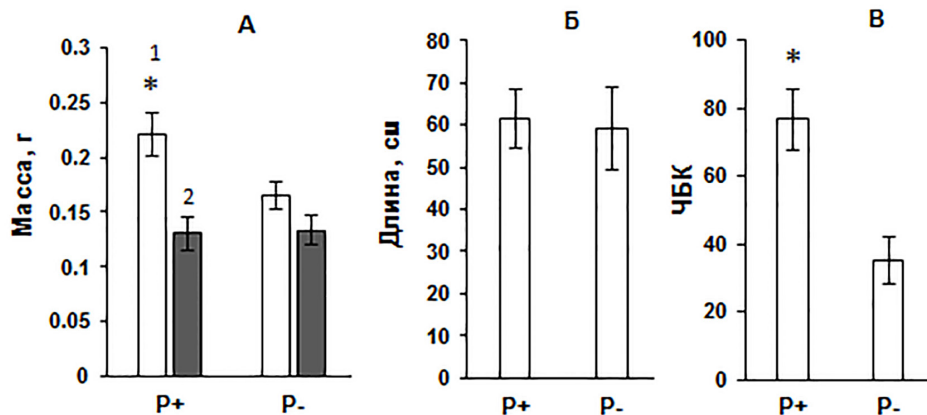


Рис. 1. (А) Масса побегов (1) и корней (2), (Б) суммарная длина первичных корней и (В) число боковых корней (ЧБК) у растений ячменя сорта Прерия через 5 суток выращивания их на содержащем (P+) и не содержащем (P-) фосфат питательных растворах. Представлены средние значения и их стандартные ошибки, n=20. Статистически отличающиеся значения показателей роста на (P+) и (P-) средах обозначены звездочкой ($p < 0,05$; t-тест)

Fig. 1. (A) The weight of shoots (1) and roots (2), (B) the total length of primary roots and (C) the number of lateral roots in barley plants (*Hordeum vulgare* 'Prairie') after 5 days of growth on nutrient solutions with (P+) and without (P-) phosphate. The diagram shows the averages and errors, n = 20. Statistically different values of growth parameters on (P+) and (P-) media are indicated by an asterisk ($p < 0.05$; t-test)

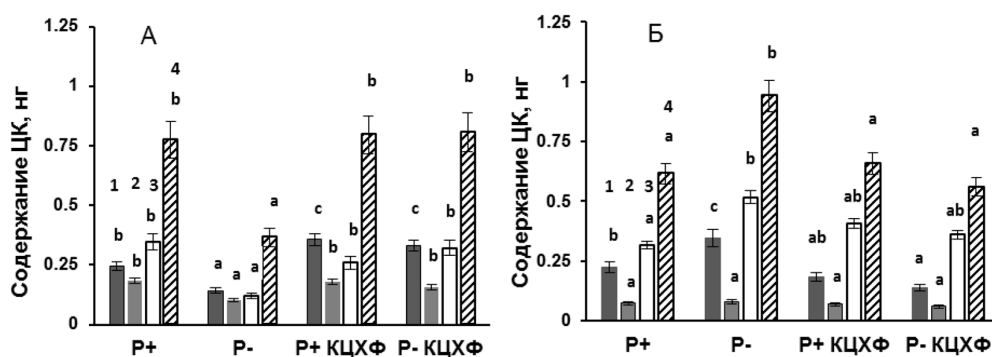


Рис. 2. Содержание (нг на орган) зеатина (1), зеатиннуклеотида (2), зеатинрибозида (3) и их суммы (4) в побегах (А) и корне (Б) проростков ячменя сорта Прерия после выращивания их в течение суток на содержащем (P+) и не содержащем (P-) фосфат питательных растворах. За один час до отбора проб на гормоны в питательные растворы вносили карбонилцианид-м-хлорфенилгидразон (КЦХФ) до конечной концентрации 10 мкМ. Представлены средние значения и их стандартные ошибки, n=9. Статистически отличающиеся значения отдельных форм цитокининов и их суммы (Z+ZN+ZR) между вариантами обработок обозначены разными буквами; ANOVA, HCP-тест, p<0,05

Fig. 2. Contents (ng/organ) of zeatin (1), zeatin nucleotide (2), zeatin riboside (3) and their totals (4) in shoots (A) and roots (B) of barley seedlings (*Hordeum vulgare* 'Prairie') after 24-hour cultivation on nutrient solutions with (P+) and without (P-) phosphate. One hour before hormone sampling, carbonyl cyanide-m-chlorophenylhydrazone (CCCP) was added to the nutrient solutions to the final concentration of 10 μ M. The figure shows the averages and errors, n=9. Statistically different values of each form of cytokinins and their totals (Z + ZN + ZR) are indicated by different letters; ANOVA, LSD – test, p<0.05

Таблица. Концентрация (нг на г сырой массы) зеатина (Z), зеатиннуклеотида (ZN), зеатинрибозида (ZR) и их суммы (Z+ ZN+ ZR) в побегах и корнях растений ячменя сорта Прерия после выращивания их в течение суток на содержащем (P+) и не содержащем (P-) фосфат питательных растворах. За один ч до отбора проб на гормоны в растворы (P+) и (P-) вносили карбонилцианид-м-хлорфенилгидразон (КЦХФ) до конечной концентрации 10 мкМ. Представлены средние значения и их стандартные ошибки, n=9. Статистически отличающиеся значения отдельных форм и суммы цитокининов (Z+ZN+ZR) между вариантами обработок обозначены разными буквами; ANOVA, HCP-тест, p<0,05

Table. Concentrations (ng/g of wet weight) of zeatin (Z), zeatin nucleotide (ZN), zeatin riboside (ZR) and their totals (Z + ZN + ZR) in shoots and roots of barley plants (*Hordeum vulgare* 'Prairie') after 24-hour cultivation on nutrient solutions with (P+) and without (P-) phosphate. One hour prior to hormone sampling, carbonyl cyanide-m-chlorophenylhydrazone (CCCP) was added to the solutions (P+) and (P-) to the final concentration of 10 μ M. The table shows the averages and errors, n=9. Statistically different values of each form of cytokinins and their totals (Z + ZN + ZR) are indicated by different letters; ANOVA, LSD – test, p<0.05

Цитокинин	P+	P-	P+ КЦХФ	P- КЦХФ
Побег				
Z	2,1±0,3 ^a	1,6±0,1 ^a	3,8±0,4 ^b	4,3±0,4 ^b
ZN	1,6±0,1 ^{ab}	1,2±0,1 ^a	1,9±0,2 ^b	2,0±0,2 ^b
ZR	3,0±0,3 ^b	1,4±0,1 ^a	2,8±0,2 ^b	4,0±0,2 ^c
Z+ZN+ZR	6,7 ^b	4,2 ^a	8,5 ^{bc}	10,3 ^c
Корень				
Z	3,2±0,2 ^a	5,3±0,4 ^b	2,7±0,3 ^a	2,2±0,2 ^a
ZN	1,1±0,1 ^a	1,4±0,1 ^a	1,0±0,1 ^a	1,0±0,1 ^a
ZR	5,0±0,4 ^a	8,0±0,7 ^b	6,0±0,5 ^a	5,7±0,4 ^a
Z+ZN+ZR	9,4 ^a	14,8 ^b	9,7 ^a	9,0 ^a

в то время как рибозида и нуклеотида зеатина – только в 1,3 раза.

Обсуждение

Фосфатное голодание приводило к уменьшению биомассы побега, что сопровождалось снижением концентрации цитокининов и, судя по данным литературы (Kudoyarova et al., 2015), могло быть его следствием. Важно было выяснить, за счет чего происходило падение уровня цитокининов в этих условиях. Зарегистрированное в наших опытах небольшое снижение суммарного содержания цитокининов во всем растении могло быть следствием как ингибирования синтеза цитокининов, так и активации их распада. Первое предположение соответствует данным литературы о снижении под влиянием фосфатного голодания уровня экспрессии *IPT*-гена (Hirose et al., 2008), контролирующего синтез цитокининов (Miyawaki et al., 2004), а второе – сведениям о повышении активности цитокининоксидазы под влиянием разбавления питательного раствора (Vysotskaya et al., 2009). Тем не менее эти два механизма не могли играть решающую роль в снижении уровня цитокининов в побеге, поскольку содержание цитокининов во всем растении снижалось всего лишь на 7 %, в то время как в побеге оно падало в 2 раза. Поскольку этот процесс сопровождался накоплением цитокининов в корнях, изменение уровня цитокининов в побеге могло быть следствием уменьшения их притока из корней. Сходные изменения в распределении цитокининов под влиянием фосфатного голодания (накопление в корнях и падение в побеге) были нами зарегистрированы ранее при изучении действия дефицита фосфатов на растения арабидопсиса (Трекозова и др., 2015).

Поскольку движущей силой вторично активного транспорта служит градиент про-

тонов на плазмалемме, применение протонофора КЦХФ, разрушающего этот градиент, должно было выявить участие этого процесса в регуляции транспорта цитокининов по растению. Полученные нами результаты показали резкое изменение распределения цитокининов между побегом и корнем под влиянием КЦХФ. Протонофор оказывал противоположное действие на уровень цитокининов в побегах и корнях по сравнению с дефицитом фосфатов, т. е. вызывал повышение уровня цитокининов в побеге и снижение в корнях (рис. 2). Ранее нами было обнаружено снижение уровня накопления цитокининов в клетках корней под влиянием КЦХФ и увеличение потока цитокининов в побег (Kudoyarova et al., 2014). Эти результаты свидетельствовали о том, что процесс вторично активного поглощения цитокининов клетками корней предотвращает их выход в апопласт и транспорт по ксилеме в побег. Очевидно, дефицит фосфатов активирует вторично активный транспорт, о чем свидетельствует более заметное влияние КЦХФ на фоне дефицита фосфатов. Активация трансмембранного переноса цитокининов под влиянием дефицита фосфатов могла способствовать накоплению этих гормонов в корнях и снижению их оттока в побег.

По данным литературы, протонофор оказывает влияние на поглощение клетками свободных азотистых оснований, но не рибозидов (Hirose et al., 2008). С этими данными литературы согласуются полученные нами результаты, которые свидетельствуют о более выраженном снижении под влиянием КЦХФ содержания в корнях зеатина по сравнению с его рибозидом (рис. 2Б). Таким образом, нами впервые получено подтверждение важной роли вторично активного трансмембранного переноса в регуляции транспорта цитокининов из корней в побеге при дефиците фосфатов.

Снижение при дефиците фосфора уровня цитокининов в побеге и ингибирование в результате этого роста побега освобождает ресурсы для поддержания роста корней, что и было обнаружено в наших опытах: скорость накопления массы корней и их удлинения сохранялась на уровне контроля. Повышение уровня цитокининов в корнях могло способствовать ингибированию ветвления корней, поскольку известно, что эти гормоны подавляют рост боковых корней (Laplaze et al., 2007). Ранее у растений арабидопсиса была зарегистрирована активация ветвления корней под влиянием дефицита фосфатов (Niu et al., 2013). Однако эта реакция характерна да-

леко не для всех растений, и у пшеницы, как и в наших опытах с ячменем, дефицит фосфатов подавлял образование боковых корней (Talboys et al., 2014).

Заключение

Выявлена важная роль вторично активного трансмембранного переноса цитокининов при дефиците фосфатов у растений ячменя. Регуляция этого процесса обеспечивает снижение концентрации гормона в побеге и накопление его в корнях, способствуя ингибированию роста побега и ветвления корней в процессе адаптации растений ячменя к дефициту фосфора.

Список литературы / References

- Дедова М. А., Высоцкая Л. Б., Кудоярова Г. Р., Веселов С. Ю. (2014) Влияние вторично активного транспорта на содержание цитокининов в побегах и корнях растений пшеницы в норме и после действия теплового шока. *Вестник Башкирского университета*, 19(2): 449–452 [Dedova M. A., Vysotskaya L. B., Kudoyarova G. R., Veselov S. Yu. (2014) Effect of secondary active transport on cytokinin content in shoots and roots of wheat plants after heat shock and under normal conditions. *Bulletin of Bashkir University* [Vestnik Bashkirskogo universiteta], 19(2): 449–452 (in Russian)]
- Коробова А. В. (2014) Распределение цитокининов между побегом и корнем растений пшеницы под влиянием засоления и его зависимость от активного транспорта. *Известия Уфимского научного центра РАН*, 4: 75–80 [Korobova A. V. (2014) Cytokinin distribution between root and shoot of wheat plant under salinity and its dependence on active cytokinin uptake. *Bulletin of the Ufa Scientific Center of the RAS* [Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN], 4: 75–80 (in Russian)]
- Трекозова А. В., Ахиярова Г. Р., Высоцкая Л. Б., Веселов С. Ю., Кудоярова Г. Р. (2015) Влияние дефицита фосфора на соотношение масс корень/побег, удлинение и ветвление корней и содержание гормонов в растениях арабидопсиса. *Агрохимия*, 8: 32–38 [Trekozova A. V., Akhiyarova G. R., Vysotskaya L. B., Veselov S. Yu., Kudoyarova G. R. (2015) Effect of phosphorus deficit on root to shoot mass ratio, root elongation, branching and hormones content in Arabidopsis plants. *Agrochemistry* [Agrokhimiya], 8: 32–38 (in Russian)]
- Burkle L., Cedzich A., Dopke C., Stransky H., Okumoto S., Gillissen B., Kuhn C., Frommer W. B. (2003) Transport of cytokinins mediated by purine transporters of the PUP family expressed in phloem, hydathodes, and pollen of Arabidopsis. *Plant Journal*, 34(1): 13–26
- Hirose N., Takei K., Kuroha T., Kamada-Nobusada T., Hayashi H., Sakakibara H. (2008) Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *Journal of Experimental Botany*, 59(1): 75–83
- Ko D., Kang J., Kiba T., Park J., Kojima M., Do J., Kim K. Y., Kwon M., Endler A., Song W.-Y., Martinoia E., Sakakibara H., Lee Y. (2014) Arabidopsis ABCG14 is essential for the root-to-shoot

translocation of cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(19): 7150–7155

Kudoyarova G. R., Dodd I. C., Veselov D. S., Rothwell S. A., Veselov S. Y. (2015) Common and specific responses to availability of mineral nutrients and water. *Journal of Experimental Botany*, 66(8): 2133–2144

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. (2014) Accumulation of cytokinins in roots and their export to the shoots of durum wheat plants treated with the protonophore carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP). *Journal of Experimental Botany*, 65(9): 2287–2294

Laplaze L., Benkova E., Casimiro I., Maes L., Vanneste S., Swarup R., Weijers D., Calvo V., Parizot B., Herrera-Rodriguez M. B., Offringa R., Graham N., Doumas P., Friml J., Bogusz D., Beckman T., Bennett M. (2007) Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation. *Plant Cell*, 19(12): 3889–3900

Miyawaki K., Matsumoto-Kitano M., Kakimoto T. (2004) Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in *Arabidopsis*: tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate. *Plant Journal*, 37(1): 128–138

Niu Y. F., Chai R. S., Jin G. L., Wang H., Tang C. X., Zhang Y. S. (2013) Responses of root architecture development to low phosphorus availability: a review. *Annals of Botany*, 112(2): 391–408

Pavlu J., Novák J., Koukalová V., Luklová M., Brzobohatý B., Černý M. (2018) Cytokinin at the crossroads of abiotic stress signalling pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8): 2450

Sakakibara H., Takei K., Hirose N. (2006) Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends in Plant Science*, 11(9): 440–448

Talboys P. J., Healey J. R., Withers P. J. A., Jones D. L. (2014) Phosphate depletion modulates auxin transport in *Triticum aestivum* leading to altered root branching. *Journal of Experimental Botany*, 65(17): 5023–5032

Veselov S. Yu., Valcke R., Van Onckelen H., Kudoyarova G. R. (1999) Cytokinin content and location in the leaves of the wild-type and transgenic tobacco plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46(1): 26–31

Veselov S. Yu., Timergalina L. N., Akhiyarova G. R., Kudoyarova G. R., Korobova A. V., Ivanov I. I., Arkhipova T. N., Prinsen E. (2018) Study of cytokinin transport from shoots to roots of wheat plants is informed by a novel method of differential localization of free cytokinins bases or their ribosylated forms by means of their specific fixation. *Protoplasma*, 255(5): 1581–1594

Vysotskaya L. B., Korobova A. V., Veselov S. Y., Dodd I. C., Kudoyarova G. R. (2009) ABA mediation of shoot cytokinin oxidase activity: assessing its impacts on cytokinin status and biomass allocation of nutrient deprived durum wheat. *Functional Plant Biology*, 36(1): 66–72

Werner T., Motyka V., Laucou V., Smets R., Van Onckelen H., Schmulling T. (2003) Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *Plant Cell*, 15(11): 2532–2550

Zažimalová E., Murphy A. S., Yang H., Hoyerová K., Hošek P. (2010) Auxin transporters-why so many? *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(3): a001552