

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ им. В.Ф. КУПРЕВИЧА

УДК 581.143: 577.175

Мазец Жанна Эмануиловна

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ КВАРТАЗИНА И
БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ
ПРОЦЕССЫ ДТ-ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ ЧАЙНИЗ СПРИНГ

03.00.12 - " Физиология растений "

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

МИНСК - 1997

Работа выполнена в Институте экспериментальной ботаники НАНБ

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
ДЕЕВА В.П.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор ПАЛИЛОВА А.Н.

кандидат биологических наук
ПШЕНИЧНАЯ Л.А.

Оппонирующая организация - Белорусский Государственный Университет

Защита состоится "15" сентября 1997г. в 14-00 часов на заседании совета
по защите диссертаций Д.01.38.01 в Институте экспериментальной ботаники
им. В.Ф. Купревича (220072, г. Минск, ул. Скорины, 27).

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке им.
Я. Коласа НАНБ

Автореферат разослан "15" августа 1997

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат биологических наук

И.В. Рогольченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Физиологически активные вещества, обладающие свойствами направленной регуляции роста и развития растений в онтогенезе, изменения отдельных реакций метаболизма, повышения устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды, урожайности, улучшения качества продукции, привлекают большое внимание исследователей и практиков сельского хозяйства (Никелл Л.Д., 1984; Баскаков Ю.А., 1988; Кефели В.И. и др., 1990). Такими свойствами обладают новые регуляторы роста квартазин (КВ) и брассиностероиды (БРС). Широкое их использование тормозится из-за недостаточной изученности механизма действия разных по структуре веществ с учетом высокой избирательности их влияния на отдельные генотипы. Выяснению природы избирательности действия различных физиологически активных веществ посвящено уже немало работ (Деева и др., 1988, 1993, 1996), однако еще многие стороны такого явления остаются недостаточно изученными. Это прежде всего характер взаимосвязи действия синтетических и природных соединений с гормональным и генным уровнями регуляции растительного организма. В литературе эти вопросы освещаются лишь фрагментарно и чаще всего без учета различной реакции отдельных генотипов на действие того или иного вещества. В решении указанных вопросов возможны различные экспериментальные подходы. Одним из них является использование в качестве объектов сорта и созданных на его основе дителоцентрических (ДТ) линий пшеницы, различающихся по наличию или отсутствию плеча в хромосоме. Это позволит выявить роль отдельных хромосом в регуляции ответной реакции растений на воздействие препаратами. Такой подход представляет несомненный теоретический интерес, может способствовать более глубокому раскрытию механизмов избирательности действия физиологически активных веществ и имеет перспективу для более эффективного и направленного использования КВ и БРС при выращивании различных растений.

Связь работы с крупными научными программами, темами. Тема диссертации связана с выполнением научно-исследовательской работы "Изучение физиолого-биохимических и генетических основ избирательности действия регуляторов роста в зависимости от генотипа и факторов внешней среды" (N госрегистрации 01900013051), входящей в комплексную программу фундаментальных исследований "Продуктивность растений".

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы явилось выявление особенностей действия КВ и БРС на отдельные звенья метаболизма в процессе роста и развития растений, включая этапы органогенеза и формирование продуктивности у зуплонда и ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг в зависимости от генома, гомеологичной группы и состояния хромосом. В связи с этим были поставлены следующие задачи:

- изучить действие разных способов применения КВ и БРС на рост и развитие зуплонда и ДТ-линий пшеницы сорта Чайниз Спринг на начальных этапах органогенеза;

- исследовать влияние регуляторов роста на содержание отдельных фитогормонов у сорта и ДТ-линий;

- установить особенности действия КВ и ЭБ на синтез и качественный состав различных белков в растениях исследуемых генотипов;

- выявить специфичность действия регуляторов роста на продуктивность зуплоида и ДТ-линий в зависимости от генома, гомеологичной группы и состояния хромосом.

Научная новизна полученных результатов. Впервые установлена взаимосвязь действия синтетического препарата КВ и аналогов фитогормонов БРС на рост, развитие и физиолого-биохимические процессы в зависимости от структурного состояния хромосом. Впервые выявлена специфичность действия брассинолида (БР), эпи (ЭБ)- и гомобрассинолидов (ГБР) на рост, развитие, продуктивность и отдельные реакции белкового обмена ДТ-линий пшеницы сорта Чайниз Спринг в зависимости от генома, гомеологичной группы и структурного состояния хромосом. Получены новые данные о содержании отдельных фитогормонов (ИУК, АБК и зеатин-рибозид) у зуплоида и ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг и характере их изменения при воздействии КВ и БРС.

Практическая значимость полученных результатов. Положения и выводы, излагаемые в диссертации, представляют значительный теоретический интерес, так как расширяют представления о механизме избирательного действия регуляторов роста различной природы. Это открывает широкие перспективы для обоснованного применения изучаемых физиологически активных веществ.

Результаты исследований по влиянию КВ и ЭБ на рост, развитие, продуктивность и физиолого-биохимические процессы ДТ-линий могут быть использованы в учебно-методическом процессе вузов в курсе "Физиология растений".

Экономическая значимость полученных результатов. Использование результатов по различной чувствительности генотипов к действию регуляторов будет способствовать повышению эффективности и ускорению селекционного процесса. Полученные данные могут быть использованы при разработке приемов направленного применения физиологически активных веществ в сельскохозяйственной практике.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту. На защиту выносятся следующие положения:

- особенности действия ФАВ на рост, развитие и продуктивность растений пшеницы в зависимости от генома, гомеологичной группы и структурного состояния хромосомы;

- различный характер действия регуляторов роста на содержание отдельных фитогормонов у ДТ-линий;

- специфичность действия разных по природе регуляторов роста на синтез и качественный состав белков в зависимости от состояния хромосомы.

Личный вклад соискателя. Весь экспериментальный материал получен лично автором. Выбор условий эксперимента, интерпретация результатов и анализ данных проведены соискателем самостоятельно. В работе обобщен экспериментальный материал, полученный с использованием современных физиолого-биохимических методов исследований. Полученные автором результаты экспериментально обоснованы и достоверны.

Апробация результатов диссертации. Основные результаты работы были доложены на симпозиуме "Брассиностероиды - биорациональные экологически безопасные регуляторы роста и продуктивности растений" (1-3 июля 1993 г., Минск), на Третьей международной конференции "Регуляторы роста и развития растений" (27-29 июня 1995 г., Москва), на Втором съезде Белорусского общества Физиологов растений (18-20 октября 1995 г., Минск), на IV конференции "Брассиностероиды - биорациональные, экологически безопасные регуляторы роста и продуктивности растений" (3-6 июля 1995 г., Минск), на конференции молодых ученых, посвященной 50-летию со дня основания Института физиологии и генетики растений НАН Украины (9-11 октября 1996 г., Киев), Конференции молодых ученых, посвященной 100-летию В.Ф. Купревича (30 января, 1997 г., Минск).

Опубликованность результатов. Основные положения работы опубликованы в 4 статьях и 6 тезисах.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 189 страницах машинописного текста, включая 41 рисунок и 12 таблиц, состоит из введения, общей характеристики работы, 6-ти глав, выводов, списка литературы (279 источников) и двух приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследования были 18 дителоцентрических (ДТ) линий пшеницы Чайниз Спринг. Маркированные линии яровой мягкой гексаплоидной (AABBDD) пшеницы Чайниз Спринг характеризуются отсутствием одного из плеч в определенной паре гомологичных хромосом. Исследования проводились в лабораторных и полевых опытах. В модельных опытах растения выращивались на среде Хогланда-Арнона (Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М., 1973) до десятидневного возраста. Регуляторы роста применялись путем опрыскивания 6-ти дневных растений (КВ - 0.025%, ЭБ - 10^{-7} %) или замачивания семян в растворах регуляторов (КВ - 0.0125% и БРС - 10^{-8} %).

Определение содержания фитогормонов проводилось с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (Веселов, Кудоярова, Еркеев и др., 1992). Для определения были использованы наборы для иммуноферментного анализа фирмы "Башинвест"(Уфа). Учет результатов проводился спектрофотометрически при длине волны 492 нм на иммуноферментном калориметрическом анализаторе КАИ-Ц-01.

Определение синтеза белка *in vivo* проводилось с использованием меченого предшественника ^{14}C -лейцина (3,7 мкКи/мл). Легкорастворимые белки выделялось по методу Клячко и др. (1971) с некоторыми модификациями в условиях нашего опыта через 24, 72 и 96 ч после опрыскивания КВ и ЭБ. Измерение радиоактивности проводилось на сцинтиляционном счетчике "Mark - Ш".

Компонентный состав легко- и труднорастворимых белков анализировался в нативных и денатурирующих условиях методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ). В нативных условиях электрофорез проводился в градиенте 4-26 %, с использованием в качестве экстрагента трис-глициновый буфер, pH 8,3 (Сафонов, Сафонова, 1971). Электрофорез осуществлялся с использованием буфера, содержащего 0,025 М трис-НСl, 0,192 М глицина, pH 8,3 при силе тока 8 мА на пластину в течение 16-18 ч при низкой температуре.

Полипептидный состав легко- и труднорастворимых белков в денатурирующих условиях исследовался с помощью ДНС - электрофореза в градиентом 12-24% ПААГ на вертикальных пластинках (150 * 140 * 1 мм) в 0,125 М Трис-глициновом электродном буфере, pH 8,3 и 0,1% ДСН при силе тока 35 мА на I пластинку в течение 3-х часов по системе Laemmli (Laemmli, 1970). Гели окрашивались на белок Кумасси R-250 или G-250 (Остерман, 1981).

Статистическая обработка экспериментальных данных была выполнена на компьютере ИВМ/РС/АТ-486DX с использованием статистического пакета программ RISHON, разработанного в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси. Количественные и качественные различия между отдельными компонентами электрофоретических спектров белковых фракций определялись с помощью денситометрирования. С целью более точной идентификации компонентов в электрофоретических спектрах белков использовалась специально разработанная программа для ПЭВМ по определению молекулярных масс.

РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ДТ-ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ ЧАЙНИЗ СПРИНГ ПРИ ДЕЙСТВИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Для исследования действия новых регуляторов роста КВ и БРС на рост и развитие растений мы использовали набор ДТ-линий как модель для изучения этих интегральных процессов, контролируемых многими генами, включающимися на разных этапах онтогенеза. Установлено, что на ранних этапах развития сорт и 12-ть ДТ-линий были в той или иной степени чувствительны к предпосевной обработке регуляторами. Результаты влияния 3-х БРС (БР, ЭБ и ГБР) показали, что несмотря на сходство в строении этих веществ, механизм действия каждого из них на растительный организм имеет свои специфические особенности. БРС положительно влияли на длину и массу корней и проростков ДТ-линий с "длинным" плечом хромосом 6А, 7А, 5В, отстающих в развитии от зуплоида по морфометрическим показателям (рис. 1).

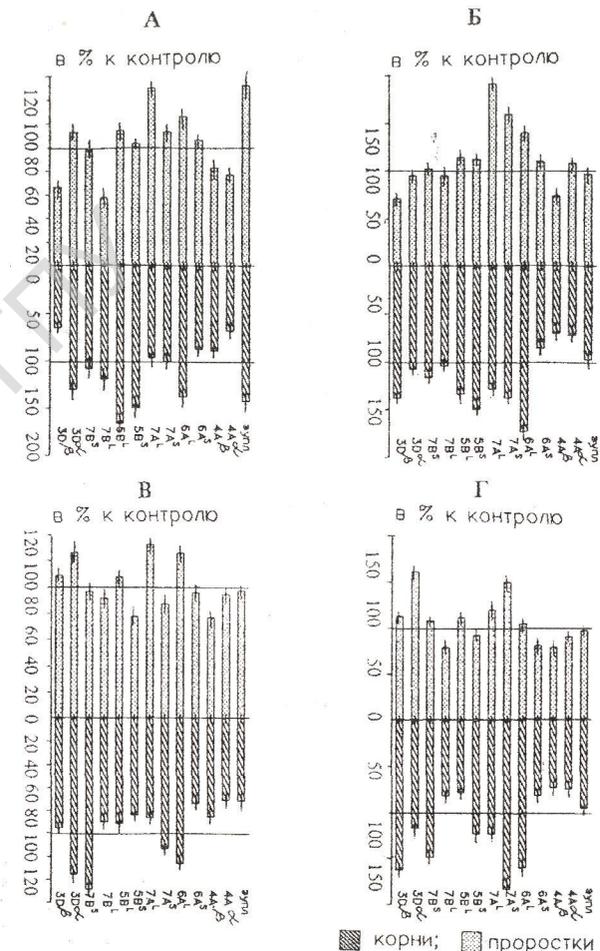


Рис. 1 Влияние регуляторов роста на массу корней и проростков десятидневных растений зуплоида и ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг: А - брассинолид; Б - эпибрассинолид; В - гомобрассинолид; Г - квартазин

Различия отмечались у линий с отсутствием одного из стандартных плеч в хромосомах 7В и 3D, а также при недостатке "L" - плеча у линий 7-ой гомеологичной группы генома А и 5-ой генома В. При действии КВ прослеживаются заметные различия в ответных реакциях линий в зависимости от структуры каждой из изученных гомологичных пар хромосом, что свидетельствует о разных точках приложения и механизмах действия регуляторов.

В полевых опытах обнаружено, что предпосевная обработка ЭБ и КВ увеличивала всхожесть семян у эуплоида и линий 4A^α и 4A^β, а у линий 5B^L и 1B^S появлялись редкие всходы на день позже контроля. К моменту начала кушения обработанные варианты всех исследуемых линий превышали по высоте контрольные варианты. Обработка обоими препаратами способствовала более ранней закладке боковых побегов и увеличивала их количество у эуплазматического сорта и линий 4A^β и 1B^S, а у ДТ 4A^α и 5B^L - снижала. Под действием регуляторов увеличилась высота конусов нарастания и количество колосковых бугорков, за исключением ДТ -линий 4A^α (ЭБ) и 4A^β (КВ), где снижалась длина конуса нарастания, а у 1B^S уменьшалось количество колосковых бугорков при действии ЭБ. Анализ этапов органогенеза растений показал, что ЭБ и КВ изменяют сроки прохождения отдельных фенологических фаз у ДТ-линий и эуплоида. Так необработанные растения большинства исследуемых линий проходили фазу колошения, тогда как обработанные находились в фазе цветения.

При использовании другого способа обработки, опрыскивания шестидневных растений ЭБ и КВ одной из контрастных пар ДТ-линий 5B^L и 5B^S и эуплазматического сорта, установлены специфические различия в действии этих веществ на динамику накопления биомассы и длины корней и проростков в зависимости от состояния хромосомы. ЭБ и КВ снижали прирост биомассы проростков у эуплоида и исследуемых ДТ-линий на протяжении всех экспозиций (24- 120 ч), но в большей степени это отмечалось при действии ЭБ на линию 5B^S. Динамика изменения массы корней у сорта и линии 5B^L при обработке ЭБ аналогична с кинетикой у проростков, но степень колебаний выше. У линии 5B^S последний показатель был выше контрольного за исключением последней экспозиции.

КВ стимулировал прирост длины и массы корней у эуплоида и ингибировал эти показатели у линии 5B^S. Обработка стимулировала рост корней у линии 5B^L, но замедляла прирост их биомассы. Обнаружено, что действие исследуемых ФАВ проявляется в большей степени в тех случаях, когда количественные признаки у линий ниже, чем у сорта. Это, может быть, связано с взаимодействием эндогенных и экзогенных регуляторов роста.

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИТОГОРМОНОВ У ОТДЕЛЬНЫХ ДТ-ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ ЧАЙНИЗ СПРИНГ

Иммуноферментный анализ показал, что отсутствие плеча в хромосоме приводит к перестройкам в метаболизме фитогормонов, что выразилось в снижении содержания ИУК и увеличении количества зеатин-рибозида (ЗР) на 10-ый день развития у 10-ти исследуемых линий по-сравнению с эуплоидом, а уровень АБК было выше только у линий 7A^L, 3D^α и 3D^β.

Обработка семян БРС оказывает существенное влияние на содержание ИУК, АБК и ЗР 10-ти дневных проростков растений эуплоида и 10 ДТ-линий. Так БР снижал содержание ИУК и ЗР у сорта и большинства линий, а уровень АБК был ниже только у эуплоида и ДТ-линий с "S"- плечом хромосом 7A, 5B, 7B. Под действием ЭБ падало содержание ИУК у всех ДТ-линий за исключением эуплоида, 7A^L, 5B^L, 7B^S, где этот показатель превышал контроль, увеличивался уровень АБК у 6A^L, 6A^S, 5B^L, 5B^S в 4-5 раз, а у ДТ-линий 7B^S, 3D^α и 3D^β - уменьшался. ГБР повышал уровень АБК у большинства линий, при этом содержание ИУК возрастало в 2-3 раза лишь у линий 7B^L, 3D^α, 3D^β, а у остальных исследуемых линий - снижалось; количество ЗР в 1.5-4.0 раза увеличивалось у эуплоида и линий 6A^S, 7A^L, 7B^L, 3D^β.

Изменения роста и развития растений исследуемых линий в результате действия КВ сопровождалось разной степенью накопления фитогормонов. У большинства линий, кроме эуплоида и линий 7A^S, 3D^α и 3D^β возрастало в 1.2-6.0 раз содержание АБК. У линий 7A^L, 7A^S, 5B^L, 7B^L, 3D^β в 1.2 - 5.0 раз увеличивалось количество ИУК, а у ДТ 5B^L и 7B^L в 3.0 - 6.0 раз уровень ЗР. КВ, главным образом, оказывал влияние на содержание АБК и ЗР, увеличивая уровень первого и снижая количество последнего у большинства линий.

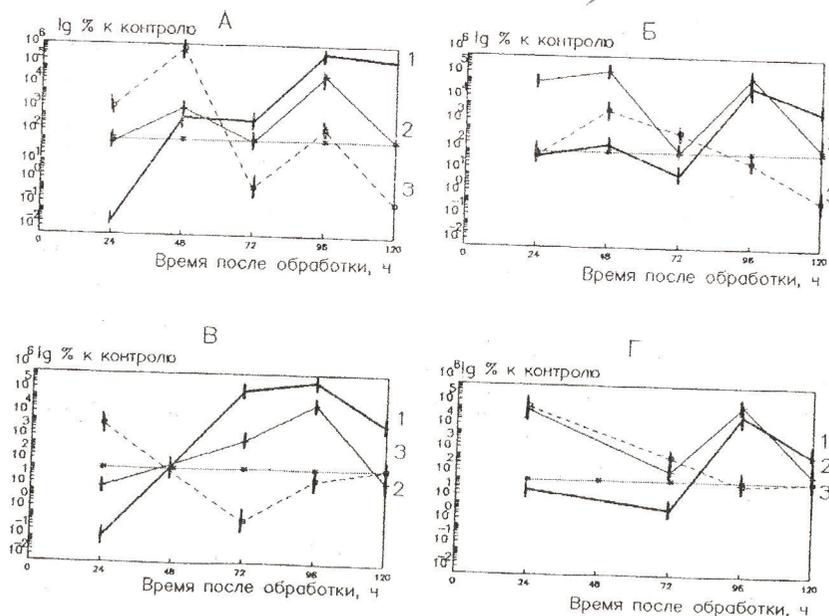


Рис.2 Влияние опрыскивания эпибрасинолидом (А,Б) и квартазином (В,Г) на динамику накопления свободных форм ИУК (А,В) и АБК (Б,Г) у эуплоида и ДТ-линий 5B^L(2) и 5B^S(3) пшеницы Чайниз Спринг

Анализ влияния другого способа обработки - опрыскивания растворами КВ и ЭБ эуплоида и линий 5В^L и 5В^S показал (рис. 2) различный характер накопления свободных форм ИУК и АБК. Влияние ЭБ на содержание ИУК отмечено уже через 24 ч у сорта и линии 5В^S. При обработке КВ изменения в накоплении этого гормона также наблюдались через сутки после воздействия у всех исследуемых объектов, причем у сорта и у линии с "L"-плечом они были сходны в течение эксперимента и отличны от кинетики этого гормона у линии 5В^S. Изменения в содержании АБК фиксировали через 24 ч после воздействия ЭБ у линии 5В^L и у всех изучаемых объектов - при обработке КВ. К концу опыта количество АБК было на уровне контроля у линии 5В^L (ЭБ) и у обеих линий (КВ).

Из результатов эксперимента вытекает, что в адапционном процессе на воздействие регуляторами принимают участие все три исследуемые фитогормона - ИУК, АБК и цитокинины, хотя на разных этапах этого процесса их участие проявляется неодинаково. Перестройки в содержании указанных гормонов при воздействии 4-х физиологически активных веществ обнаруживают сложные взаимодействия с гормональной и генетической системами регуляции не только на уровне отдельных хромосом, но и гомеологичных групп и геномов.

ДЕЙСТВИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА СИНТЕЗ И КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ И ДТ-ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ ЧАЙНИЗ СПРИНГ

Биосинтез и компонентный состав белков. Проведенные исследования показали, что отсутствие плеча в хромосоме изменяет направленность процессов синтеза белка и влечет за собой заметные сдвиги в содержании и компонентном составе легкорастворимых белков у ДТ-линий 5В^L и 5В^S при сравнении с сортом.

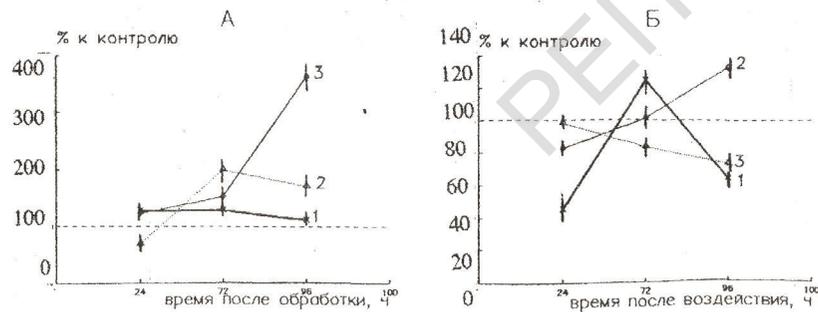


Рис. 3 Влияние опрыскивания эпибрасинолидом (А) и квартазином (Б) на интенсивность синтеза легкорастворимых белков у эуплоида (1) и ДТ-линий 5В^L (2) и 5В^S (3)

Влияние опрыскивания КВ и ЭБ на белоксинтезирующую систему эуплоида и ДТ-линий 5В^L и 5В^S разнообразно в зависимости от генотипа, структуры препарата и времени после воздействия. Выявлено, что чем значительнее отклонения изучаемых процессов у линий от эуплоида, тем более четко проявляется действие регуляторов.

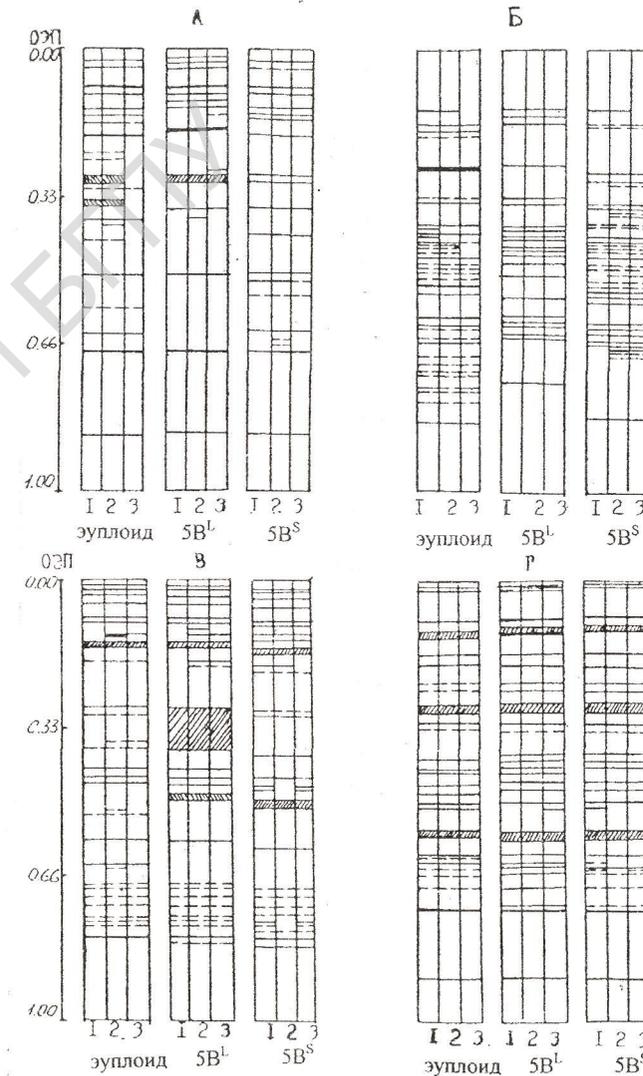


Рис. 4 Влияние эпибрасинолида (2) и квартазина (3) на компонентный состав легкорастворимых белков эуплоида и ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг: А - через 24 ч; Б - 72 ч; В - 96 ч; Г - 120 ч после воздействия; 1 - контроль

Отмечено, что через 24 и 96 ч после воздействия ЭБ интенсивнее идут процессы утилизации белков у эуплоида и ДТ-линии 5B^S, а у ДТ-линии 5B^L - их синтеза (Рис.3). Через 72 ч после воздействия ЭБ наблюдается максимальная интенсивность синтеза легкорастворимых белков у сорта и линии 5B^L, а у ДТ-линии 5B^S этот эффект отмечен спустя 96 ч. КВ угнетал процессы синтеза белка у сорта на протяжении опыта, но активизировал у линии 5B^L (через 24 ч) и у линии 5B^S (72 ч) после воздействия.

Данные по изменению интенсивности синтеза и содержания легкорастворимых белков при действии ЭБ и КВ согласуются с перестройками данной группы белков под влиянием обоих регуляторов (рис. 4). В результате изучения действия КВ на компонентный состав белков установлено, что перестройки ЭФС наблюдались во всех зонах, но более существенные изменения отмечались среди средне- и низкомолекулярных белков. Характер изменений компонентного состава у всех исследуемых объектов был различным, но несмотря на это отмечалось некоторое сходство - замена одних форм белка другими (у линий) или исчезновение их (у сорта). Это относится к белку с М.м. свыше 669.0 кД у линии 5B^L, который не выявлен уже через сутки после воздействия, а у сорта и линии 5B^S - спустя 72 ч. Необходимо отметить, что в отличие от ЭБ появление новых средне- и низкомолекулярных компонентов, особенно в течение первых 3-х суток после воздействия КВ, возможно, является результатом распада исчезнувших высокомолекулярных белков. Новые фракции в спектре легкорастворимых белков при действии обоих препаратов отмечены в средне- и низкомолекулярной зоне, однако эти изменения носят в большинстве случаев кратковременный характер.

В связи с изменением компонентного состава белков и их синтеза при действии регуляторов роста важно было исследовать их влияние на более глубокие преобразования качественного состава различных белков - на уровне их полипептидного состава.

Полипептидный состав отдельных групп белков

Легкорастворимые белки. Анализ ЭФ-спектра показал, что отсутствие плеча в хромосоме приводит к изменениям в полипептидном спектре легкорастворимых белков у дителосомиков по сравнению с эуплоидом в онтогенезе, которые проявляются как в изменении количества полипептидов, так и в сдвиге их относительной электрофоретической подвижности (ОЭП), содержания в них белка.

Под влиянием ЭБ преобразования прослеживаются во всех областях полипептидного спектра данной группы белков. У линий генома А основные изменения отмечены среди средне- и низкомолекулярных компонентов, а у эуплоида и изучаемых линий генома В и D преимущественно в высоко- и низкомолекулярной зоне.

ЭФ- спектры легкорастворимых белков дителоцентрических линий меняются по-разному под влиянием КВ. Преобразования отмечались во всех зонах спектра, но в большей степени в области высоко- и низкомолекулярных компонентов. В результате обработки КВ наблюдается резкая редукция числа фракций у эуплоида (96 часов) и линий генома В (24 и 96

часов), линий геномов А и D. Препарат способствует деградации высокомолекулярных компонентов, индуцируя появление средне- и низкомолекулярных пептидов у большинства изучаемых форм, за исключением линий 4A^α и 6D^α, где препарат стимулировал синтез высокомолекулярных компонентов.

Труднорастворимые белки. Отсутствие плеча в хромосоме приводит к изменениям в ЭФ спектре труднорастворимых белков, что выражается либо в увеличении, либо в уменьшении количества компонентов. Влияние ЭБ на полипептидный состав труднорастворимых белков носит специфический характер, определяемый состоянием хромосомы и временем действия препарата - через 24 ч претерпевают изменения, преимущественно, высоко- и низкомолекулярные компоненты: у линий с "L"- плечом генома В они исчезают, а у линий с "S"- плечом этого же генома, у линий 4A^β и 6D^β - появляются. Спустя 96 ч перестройки отмечены в средне- и низкомолекулярной зоне. Стабильные изменения - появление белков de novo выявлено у линий 4A^α (19.95 кД) и 5B^S (79.4 кД).

Анализ влияния КВ на ЭФ спектр структурных белков показал, что препарат индуцирует синтез высоко- и среднемолекулярных белков de novo у эуплоида и ДТ-линий генома В, кроме 5B^L через сутки после воздействия. Спустя 96 ч активизируется синтез белков у сорта и линии 5B^L. У линий 1B^L и 5B^S появление новых низкомолекулярных фракций, возможно, объясняется деградацией высокомолекулярных компонентов.

В большинстве случаев изменения в ЭФ спектре данной группы белков при действии обоими регуляторами носят временный характер. Устойчивые перестройки компонентного состава отмечены у 4A^β, 6D^α в низкомолекулярной зоне и у линии 5B^S - в высокомолекулярной при действии ЭБ, а при обработке КВ - у эуплоида (в средне- и низкомолекулярной) и у линий с "длинным" плечом генома В (в высоко- и среднемолекулярной области).

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о высокой избирательности действия изучаемых регуляторов роста на качественный состав различных белков в зависимости от генотипа, специфичности препарата и времени после обработки.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ДТ-ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ ЧАЙНИЗ СПРИНГ

Установлено, что отсутствие плеча в хромосоме приводит как к замедлению, так и к ускорению прохождения этапов органогенеза, что находит отражение и в отклонении формирования элементов продуктивности у линий по-сравнению с эуплоидом.

Химические регуляторы оказывают многообразное действие на растительный организм, влияя на различные физиолого-биохимические реакции, в результате чего изменяются процессы роста и развития, а в конечном счете и продуктивность растений.

Брассиностероиды. Учет высоты растений, количества и массы зерна главного и боковых побегов, массы зерна с растения и 1000 зерен при опрыскивании БРС растений показал, что все исследуемые формы растений были в разной степени чувствительны к действию регуляторов в зависимости от генотипа линий, структуры препарата и почвенно-метеорологических условий проведения опытов. Препараты у большинства исследуемых линий, за исключением 4A^α, 1B^β, 3D^α и 3D^β, вызывали увеличение урожая зерна с растения и, главным образом, за счет возрастания массы зерна с боковых побегов (табл.).

Таблица

Влияние регуляторов роста на отдельные элементы структуры урожая эуплоида и ДТ-линий пшеницы Чайнз Спринг (средние данные за 2-3 года), в % к контролю

Вариант	эпибрассинолид				гомобрассинолид				квартазин			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
эуплоид	106.4	100.4	118.0	103.7	109.8	127.0	129.2	117.3	105.4	117.0	114.3	110.3
3A ^α	111.5	79.1	107.4	126.0	111.5	89.6	93.4	101.4	115.4	113.2	98.5	114.4
3A ^β	108.0	126.3	104.5	117.4	125.8	211.0	114.5	150.5	112.8	139.3	106.0	121.3
4A ^α	104.3	82.0	101.7	88.7	118.7	87.3	97.0	103.7	89.7	108.5	91.9	97.2
4A ^β	79.0	90.6	88.8	71.6	77.5	172.2	86.3	122.8	98.6	71.8	100.7	84.6
6A ^β	65.8	124.0	102.7	82.7	119.7	252.0	100.0	144.0	74.3	186.6	100.0	97.5
7A ^L	230.0	132.0	130.4	189.0	191.3	138.5	121.7	172.2	187.0	92.3	139.0	153.0
1B ^L	151.5	111.0	108.4	77.6	-	-	-	-	143.6	84.8	95.6	95.7
1B ^S	102.0	93.2	94.9	64.0	-	-	-	-	69.5	59.5	78.2	78.2
5B ^L	134.6	118.6	124.9	154.1	133.5	222.0	125.9	159.5	135.9	281.0	134.7	185.4
5B ^S	153.1	129.4	133.4	217.6	172.9	253.0	125.0	194.2	181.7	223.5	122.4	194.2
3D ^α	84.4	99.0	79.0	92.0	92.4	78.6	90.3	88.8	97.3	124.5	96.2	96.3
3D ^β	77.9	94.8	82.3	82.2	93.5	100.0	90.9	94.4	106.1	109.6	106.3	107.8
6D ^α	103.2	98.2	106.9	143.7	96.5	270.0	97.5	151.9	143.2	209.0	128.6	143.8
6D ^β	121.2	112.8	114.0	116.8	120.9	262.0	100.0	209.0	125.2	242.0	114.6	171.8
7D ^β	227.0	165.7	132.3	187.9	146.8	125.0	122.6	148.0	214.9	127.7	122.6	187.9
НСР _{0.05}	12.2	5.10	6.12	14.3	9.2	10.61	7.85	8.95	9.7	7.27	7.82	4.55

1 - масса зерна главного колоса; 2 - масса зерна с боковых колосов; 3 - озерненность главного колоса; 4 - масса зерна с растения

На линию 4A^β препараты оказывали противоречивое действие: обработка ЭБ и БР - снижала массу зерна с боковых побегов, а ГБР - увеличивала. Увеличение массы зерна с главного колоса под действием БР и ЭБ преимущественно происходила за счет усиления фертильности, а при воздействии ГБР, главным образом, за счет увеличения абсолютной массы

семян. Итак, все изучаемые БРС в разной степени способствовали увеличению массы зерна с растений большинства линий генома В и D с "α" или "L" плечами, но влияние ГБР на элементы структуры урожая у линий генома А и D отлично от остальных БРС, т.к. преимущественно положительное его действие отмечалось у линий с "β" или "S" плечом. Дисперсионный двухфакторный анализ показал, что ГБР оказывал наиболее существенное влияние на элементы продуктивности исследуемых форм по сравнению с регуляторами подобного типа.

Квартазин. Учет продуктивности показал, что в большинстве случаев КВ оказывал положительное влияние на формирование репродуктивных органов у 15 линий, что проявилось в увеличении урожая зерна у сорта и исследуемых линий, за исключением линий 4-ой гомеологической группы генома А и линии 3D^α. Препарат улучшал формирование боковых побегов у большинства линий и наиболее значительно у линий 6A^β, 6D^α, 6D^β и линий генома В, кроме 1B^S, а у линий 4A^β и 1B^S этот показатель снижался, главным образом, за счет массы 1000 семян. КВ способствовал формированию зерна на основном побеге у сорта и большинства исследуемых линий за исключением линий 4A^β, 6A^β, 1B^S. В результате обработки наблюдалось увеличение количества семян и их массы у сорта и большинства линий за исключением линии 1B^S.

Проведенные исследования показали различную степень влияния регуляторов роста на изучаемые ДТ-линии. Основные отличия в направленности действия регуляторов отмечались на линиях с "β"-плечом генома А, 5-ой гомеологической группы генома В и третьей - генома D, что еще раз свидетельствует о различных механизмах действия изучаемых регуляторов на уровне отдельных хромосом, а, возможно, и генов. Наиболее чувствительными к действию всех регуляторов были линии генома В. КВ и БРС изменяли темпы прохождения отдельных этапов онтогенеза в значительной степени влияя на формирование продуктивной кустистости. Установлено, что, как правило, чем сильнее ДТ-линия отставала в развитии от сорта, тем значительнее положительное действие препаратов на элементы продуктивности, т.е. в данном случае регуляторы как бы "компенсируют" недостаток плеча в хромосоме, способствуя наиболее полной реализации потенциальных возможностей растительного организма. Действие изучаемых препаратов было наиболее существенным в неблагоприятные для развития пшеницы годы.

ВЫВОДЫ

1. КВ и БРС оказывали различное действие на начальный рост эуплоида и ДТ-линий в зависимости от генома, гомеологической группы, наличия длинного и короткого плеча в хромосоме, времени после воздействия, структуры препарата и способа его введения в

растительный организм. Наиболее чувствительными к предпосевной обработке семян БРС были линии геномов А и D, и линии всех геномов - при воздействии КВ. БРС стимулировали рост растений линий с "длинным" плечом хромосом 6A, 7A, 5B. Особенности отдельных препаратов проявлялась в направленности их действия на линии с коротким плечом хромосом 6A, 7A, линии 3 гомеологичной группы генома D и линии генома В за исключением линии 5B¹. Реакция на КВ у сорта и ДТ-линий была более быстрой и несколько отличной от БРС.

2. Установлены сложные взаимодействия с гормональной системой растений не только на уровне геномов, но и гомеологичных групп и отдельных хромосом. При предпосевной обработке семян наиболее существенные перестройки отмечены в накоплении АБК: при действии БР ее количество в большинстве случаев снижалось, при обработке ЭБ, ГБР и КВ - увеличивалось. При опрыскивании растений регуляторами более быстрые изменения в содержании ИУК и АБК отмечались при действии КВ. Недостаток "короткого" плеча частично "компенсируется" ЭБ в отношении динамики накопления АБК и ИУК и АБК - под влиянием КВ.

3. Выявлены особенности действия ЭБ и КВ на интенсивность синтеза, содержание и качественный состав легкорастворимых белков зуллоида и ДТ-линий 5B¹ и 5B³, которые определяются особенностями генотипа, структурой и временем действия препарата. ЭБ наряду с синтезом активировал и процессы утилизации легкорастворимых белков, а КВ в меньшей мере ускорял синтез и в большей степени усиливал обратный процесс у зуллоида и линии 5B³. Отмечены специфические перестройки компонентного состава данной группы белков под действием обоих регуляторов. Новые фракции в ЭФ спектре при действии КВ и ЭБ обнаружены в средне- и низкомолекулярной зоне и носят в большинстве случаев кратковременный характер. В отличие от ЭБ появление новых компонентов при действии КВ обусловлено заменой высокомолекулярных белковых компонентов более низкомолекулярными.

4. Изменения полипептидного состава легкорастворимых белков при действии КВ и ЭБ наблюдались в большинстве зон ЭФ спектра, но, преимущественно, в высоко- и низкомолекулярной области. В отличие от ЭБ под влиянием КВ в начальный период после воздействия происходила замена высокомолекулярных компонентов более низкомолекулярными у зуллоида и линий генома В, а у линий геномов А и D увеличивалась гетерогенность ЭФС в средне- и низкомолекулярной зоне. К концу опыта (96 ч) усиливаются различия в действии КВ и ЭБ у линий всех геномов, но особенно у ДТ-линий геномов А и D. Перестройки в ЭФС структурных белков также носят временный характер за исключением линий 4A^B, 5B³ и 6D^α, у которых под влиянием ЭБ отмечены более стабильные изменения в низко- и высокомолекулярной зоне, а при обработке КВ - в высоко- и средномолекулярной области у зуллоида и линий с "длинным" плечом генома В.

5. Выявлены особенности действия КВ и БРС на формирование вегетативных и генеративных органов растений в зависимости от генома, гомеологичной группы и структурного состояния хромосом, структуры препарата, способа обработки и климатических условий. Все изучаемые препараты у большинства линий стимулировали формирование главных и, преимущественно, боковых побегов, изменяли темпы прохождения этапов онтогенеза. Основные отличия КВ и БРС на структуру урожая наблюдались на линиях с "β" - плечом генома А, 5-ой гомеологичной группы генома В и 3-ей генома D. Основная прибавка урожая у линий при действии ЭБ и БР отмечалась за счет увеличения количества семян в главном колосе, при обработке ГБР - за счет абсолютной массы семян, под влиянием КВ - оба эти показателя в равной мере определяли прибавку урожая зерна с растения. Отмечено, что наиболее заметное положительное действие препаратов наблюдалось в неблагоприятные для развития пшеницы годы. Причем более стабильный эффект отмечался при предпосевной обработке семян регуляторами роста.

6. Установлено, что, чем сильнее ДТ-линия отставала в росте и развитии от сорта, тем существеннее оказывалось стимулирующее действие препаратов. Следовательно, регуляторы роста как бы "компенсируют" недостаток плеча в хромосоме, что, в известной степени, свидетельствует о взаимосвязи действия изучаемых физиологически активных веществ с генетическим уровнем регуляции растительного организма.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Деева В.П., Хотылева Л.В., Иоффе Ж.Э. Генетическая природа реакции растений на воздействие брассиностеороидами // Брассиностеороиды - биорациональные, экологически безопасные регуляторы роста и продуктивности растений: Тез. докл. симп. - Минск, 1993. - С. 3.
2. Деева В.П., Хотылева Л.В., Мазец Ж.Э. Генетическая детерминация реакции растений пшеницы на воздействие брассиностеороидами // Регуляторы роста и развития растений: Тез. докл. Трет. междунар. конф. - Москва, 1995. - С. 61-62.
3. Мазец Ж.Э., Деева В.П. Влияние эпибрасинолида на рост, развитие, количество и качественный состав белков ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг // Брассиностеронды - биорациональные экологически безопасные регуляторы роста и продуктивности растений: Тез. докл. симп. - Минск, 1995. - С. 15 - 16.
4. Мазец Ж.Э., Деева В.П., Стальмакова Р.М. Влияние квартазина на рост, развитие и количество отдельных фитогормонов ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг // Современные проблемы генетики и селекции: Тез. докл. Республ. конф. - Минск, 1995. - С. 47.
5. Мазец Ж.Э., Деева В.П. Влияние квартазина и эпибрасинолида на полипептидный состав белков ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг // Втор. съезд Белорусского общества физиологов растений: Тез. докл. съезда. - Минск, 1995. - С. 25-26.

6. Мазец Ж.Э., Дзеева В.П., Стальмакова Р.М. Уплыў квартазіну на рост, развіццё і колькасць асобных фітагармонаў у ДТ-ліній пшаніцы Чайніз Спрынг // Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. - 1996.- N 1.- С. 92 - 96.

7. Деева В.П., Мазец Ж.Э., Павлова И.В. Влияние эпибрассинолида и квартазина на полипептидный спектр различных белков в проростках гречихи и ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг// В сб.: Успехи физиологии и биохимии растений. - Днепропетровск, 1996. - С. 81 - 90.

8. Мазец Ж.Э., Деева В.П. Влияние эпибрассинолида на интенсивность синтеза и качественный состав легкорастворимых белков у ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг// Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. - 1996.- N 3.- С. 63 - 66.

9. Мазец Ж.Э., Деева В.П. Влияние квартазина на синтез и качественный состав белков у растений мягкой пшеницы с разными генотипами // Доклада АН Беларусі. - 1996.- Т.40.- N 5.- С.91 -95.

10. Мазец Ж.Э., Деева В.П. Влияние регуляторов роста на содержание ИУК и АБК и ростовые процессы мягкой пшеницы // В сб.: Актуальні проблеми фізіялогіі рослін і генетики: Тез. доповід. VI Конф. молодих вчених. - Київ. -1996.- С.51 -52..

РЕЗЮМЕ

Мазец Жана Эмануїлаўна

Асаблівасці дзеяння квартазіна і брасінастэроідаў на фізіялага-біяхімічныя працэсы ДТ-ліній пшаніцы Чайніз Спрынг

Ключавыя словы: брасінастэроіды, бялкі, выбіральнасць, дзітэлацэнтрычныя лініі, дынаміка, кампанентны склад, квартазін, пшаніца, рэгулятары росту, спецыфічнасць, фітагармоны.

Аб'ект даследавання - эўплоід і створаныя на яго аснове дзітэлацэнтрычныя лініі пшаніцы Чайніз Спрынг. Мэта дысертацыйнай работы - выяўленне асаблівасцей дзеяння квартазіна (КВ) і брасінастэроідаў (БРС) на асобныя рэакцыі метабалізму ў працэсе росту і развіцця раслін, якія ўключаюць этапы арганогенезу і фарміраванне прадукцыйнасці ў эўплоіда і ДТ-ліній пшаніцы Чайніз Спрынг у залежнасці ад генома, гомеалагічнай групы і структурнага стану храмасом. Метады даследаванняў - электрафарэз у ПААГ, цвёрдафазны імунаферментны аналіз, вывучэнне сінтэзу бялка з дапамогай мечанага папярэдніка (¹⁴С - лейцына). Апаратура - прыбор для электрафарэзу ("GE 2/4 LS", ЛКБ, Швецыя), лазерны дэнсітометр ("2202 Ultrosan", ЛКБ, Швецыя), імунаферментны каларыметрычны аналізатар КАІ-Ц-01 (ЛЮМА, Расія).

Устаноўлена ўзаемасувязь дзеяння сінтэтычнага прэпарата (КВ) і аналагаў фітагармонаў (БРС) на рост, развіццё і фізіялага-біяхімічныя працэсы ў залежнасці ад стану храмасом. Паказана спецыфічнасць дзеяння брасіналіда, эпі- і гомабрасіналіда на рост, развіццё, прадукцыйнасць і асобныя метабалічныя працэсы ДТ-ліній пшаніцы сорта Чайніз Спрынг у залежнасці ад генома, гомеалагічнай групы і структуры храмасом. Атрыманы новыя дадзеныя аб уплыве КВ і БРС на характар назапашвання асобных фітагармонаў (ІВК, АБК і зеатын-рыбазіда) у эўплоіда ДТ-ліній пшаніцы сорта Чайніз Спрынг. Палажэнні і вывады, выказаныя ў дысертацыі, прадстаўляюць значную цікавасць у тэарэтычным плане, так як раскрываюць асобныя бакі механізма выбіральнага дзеяння рэгулятараў росту рознай прыроды, садзейнічаюць абгрунтаванаму прымяненню вывучаемых фізіялагічна актыўных рэчываў пры вырошчванні раслін.

РЕЗЮМЕ

Мазец Жанна Эмануїлаўна

Особенности действия квартазина и брассиностероидов на физиолого-биохимические процессы ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг

Ключевые слова: белки, брассиностероиды, динамика, дителоцентрические линии, избирательность, квартазин, компонентный состав, пшеница, регуляторы роста, специфичность, фитогормоны.

Объект исследования - эуплоид и созданные на его основе дителоцентрические линии пшеницы Чайниз Спринг. Цель диссертационной работы состояла в выявлении особенностей действия квартазина (КВ) и брассиностероидов (БРС) на отдельные звенья метаболизма в процессе роста и развития растений, включая этапы органогенеза и формирование продуктивности у эуплоида и ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг в зависимости от генома, гомеологичной группы и состояния хромосом. Методы исследований - электрофорез в ПААГ, твердофазный иммуноферментный анализ, изучение синтеза белка с помощью меченого предшественника (¹⁴С- лейцина). Аппаратура - прибор для электрофореза ("GE 2/4 LS", ЛКБ, Швеция), лазерный денситометр ("2202 Ultrosan", ЛКБ, Швеция), иммуноферментный калориметрический анализатор КАИ-Ц-01 (ЛЮМО, Россия).

Установлены особенности действия синтетического препарата (КВ) и аналогов фитогормонов (БРС) на рост, развитие и физиолого-биохимические процессы в зависимости от структурного состояния хромосом. Показана специфичность действия брассинолида, эпи- и гомобрассинолидов на рост, развитие, продуктивность и отдельные метаболические процессы ДТ-линий пшеницы сорта Чайниз Спринг в зависимости от генома, гомеологичной

группы и структуры хромосом. Получены новые данные о влиянии КВ и БРС на характер накопления отдельных фитогормонов (ИУК, АБК и зеатин-рибозид) у эуплоида и ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг. Положения и выводы, излагаемые в диссертации, представляют значительный интерес в теоретическом плане, так как раскрывают отдельные стороны механизма избирательного действия регуляторов роста различной природы, способствуя обоснованному применению изучаемых физиологически активных веществ при выращивании растений.

SUMMARY

Mazets Zhanna Emanuilovna

Peculiarities of kvartazin and brassinosteroids influence on physiological-biochemical processes of DT-lines of the Chinese Spring wheat

Key words: brassinosteroids, componental structure, ditelocentric (DT)- lines, dynamic, growth regulator, kvartazin, phytohormone, proteins, selectivity, specificity, wheat

The research subject: euploid and DT-lines of the Chinese Spring wheat created on its base. The aim of the dissertation is to exposure the influence of kvartazin (KV) and brassinosteroids (BRS) on separate reactions of metabolism in growth processes and development including ontogenetic stages and crop formation of euploid plants and DT-lines of the Chinese Spring wheat depending on genome, gomeological group and the chromosome structure condition. The methods used in the study: electrophoresis in PAAG, solid phase immunity ferment analysis, styding of protein synthesis with the help of labeled predecessor (¹⁴-C-leicyн). Apparatus appliance for electrophoresis («2202 Ultrosan», LKB, Sweden), immunity ferment calorimetrical analyser KAI-C-01 (LOMO, Russia).

Peculiarities of influence of synthetic preparation (KV) and phytohormones analogies (BRS) on the growth, development and physiological-biochemical processes depending on the chromosome condition is determined. The specificity of influence of brassinosteroids, epi- and homobrassinosteroids on growth, development, productivity and separate metabolical processes DT-lines of the Chinese Spring wheat depending on genome, gomeological group and the chromosome structure is shown. New data about influence of KV and BRS on accumulation nature of certain phitohormones (IUK, ABK and zeatin-ribosid) is received of euploid and DT-lines of the Chinese Spring wheat. Theses and conclusions stated in dissertation are of great interest from the theoretical point of view, because they reveal separate sides of mechanism of selective of action of growth regulators of different character and contribute to grounded use of physiologically active substances in growing plants.

Мазец Жанна Эмануиловна

Особенности действия квартазина и brassinosterоидов на физиолого-биохимические процессы ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Подписано к печати 05.08.1997

Формат 60X84 1/16. Усл. печ.л. 1,31

Усл. кр.- отт. 1,51. Уч.- изд. л. 0,9. Тираж 100 экз. Заказ 91

Институт физики им.Б.И.Степанова НАНБ
220072, Минск, пр.Скорины,68
Отпечатано на ризографе ИФ НАНБ
Лицензия ЛВ 685 от 23.12.93г.