

Литература

1. Ламан, Н.А. Физиологические основы и технологии предпосевной обработки семян: ретроспективный анализ, достижения и перспективы // Регуляция роста, развития и продуктивности растений (Материалы V Международной научной конференции, г. Минск, 28-30 ноября 2007) // Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси – Минск: Право и экономика. - 2007. – С. 1.
2. Городецкая, Е.А. Влияние плазменно-радиоволновой обработки на агрономические качества семян // Городецкая Е.А., Спиридович Е.В., Коревио И.А., Ажаронк В.В., Филатова И.И. // Теор. и прикладные аспекты интродукции растений как перспективного направления развития науки и нар. хоз-ва — Материалы Междунар. научн. конф., посвященной 75-летию со дня образования ЦБС НАН Беларуси. Мн., 12—15 июня 2007 г. — Т. 1. — С. 143—145.
3. Васьюк, П.П. О влиянии воздействия электромагнитных волн низкой интенсивности на всхожесть и поражение семенной инфекцией зерновых культур и злаковых трав // Васьюк П.П., Ермолович А.А., Карпович В.А., Михаленко Е.Г., Новикова О.Т. // Миллиметровые волны в биологии и медицине. - № 1 (33). - 2004. - С. 68-72.
4. Задворнова, Ю.В. Влияние brassinosteroidов на физиолого-биохимические показатели качества семян *Brassica oleracea* L. в условиях ускоренного старения. — Автореферат на соискание ученой степени канд. биол. наук, Минск - 2006г. — С. 1—5.
5. Алексейчук, Г.Н. Физиологическое качество семян сельскохозяйственных культур и методы его оценки // Алексейчук Г.Н., Ламан Н.А. // Мн.: Право и экономика. - 2005. - С. 28-29.
6. Якушкина, Н. И. Физиология растений: учеб. для студентов вузов, обучающихся по специальности 032400 «Биология» - М.: Гуманитар. Изд. центр ВЛАДОС, 2005. - 463с.

Особенности влияния brassinosteroidов на фитогормональный баланс и ростовые процессы ДТ-линий пшеницы Ч. Спринг

Ж.Э. Мазец

Регуляция роста и развития растений с помощью физиологически активных веществ является одним из важнейших направлений физиологии и биохимии растений, а также сельского хозяйства из-за возможности направленно регулировать отдельные этапы роста и развития, повышать устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды, урожайность и качество сельскохозяйственной продукции. Однако широко использование регуляторов роста на практике тормозится по ряду причин, среди которых немаловажное значение имеет недостаточная изученность механизмов их действия, особенно избирательное их влияние на отдельные генотипы растений. Выяснению механизмов избирательного действия различных ФАВ посвящено уже немало работ [1 – 4]. Избранная нами группа относительно новых регуляторов роста brassinosteroidов (БРС) обладает множественным полифункциональным действием на различные метаболические процессы у многих видов растений [5-7]. Однако природа избирательного их влияния на генотипы до сих пор неясна. В связи с этим для понимания природы действия БРС очень важен подбор объекта исследования. Вероятно, этим требованиям должны удовлетворять растения, имеющие очень близкие геномы. Такой выбор предлагается на дителоцентрические линии (ДТ) гексаплоидной яровой пшеницы Чайниз Спринг, полученные профессором Sears в 1954 г. Эти линии отличаются от сорта (эуплоида – контроль) отсутствием длинного (L) или короткого (S) плеча в хромосоме. Использование данных сорта и ДТ-линий позволит выявить роль отдельных хромосом в регуляции ответной реакции растений на воздействие препаратов и характер взаимодействия БРС с генетической системой растений. Такой подход представляет несомненный теоретический интерес, может способствовать более глубокому раскрытию механизма избирательного действия физиологически активных веществ и позволит целенаправленно и эффективно использовать brassinosteroidы при выращивании растений.

Brassinosteroidы – это новая группа фитогормонов. Структурная формула brassinоида была расшифрована в 1979 г. Грови как (22R, 23R, 24S)-2 α , 3 α , 22, 23)-тетрагидрокси-24-метил- β -гомо-7-оксо-5 α -холестан-6-один. А его структурные аналоги гомобрассинолид (C29H50O6) и эпибрассинолид (C29H48O6) были синтезированы в ИБОХ НАН Беларуси. Для БРС характерен тот же набор заместителей в стероидном скелете и боковой цепи, что для брассинолида 1 [5, с. 3-11]. Ниже приведены структурные формулы брассинолида и его аналогов: Брассинолид (БП) R1=Me, R2=H; эпибрассинолид (ЭБ) - R1=H, R2=Me; гомобрассинолид (ГБ) - R1=Et, R2=H.

Брассиностероиды – группа фитогормонов, которые широко распространены в растениях и играют важную роль в процессах роста и развития [8]. БРС – стрессовые адаптогены, обладающие сильной ростстимулирующей активностью. Они содержатся в каждой растительной клетке в очень малом количестве. Концентрация ферментов биосинтеза брассиностероидов наиболее высока в молодых тканях растения: этиолированных проростках, меристемах, флоральных примordiaх, развивающейся пыльце [9]. БРС (как и ауксины) действуют на проростки, усиливая растяжение, регулируют процессы клеточной дифференцировки. Причем, как и в случае растяжения, ауксины запускают процесс дифференцировки, а брассиностероиды поддерживают его. Действие БРС и ауксинов на корневую систему противоположно: ауксины стимулируют ризогенез, а БРС ингибируют образование корней. В больших дозах БРС сдерживают рост и повышают устойчивость к неблагоприятным внешним факторам: перегреву, заморозкам, засухе, инфекции [9]. В последнее время появился целый ряд работ, в которых указывается влияние БРС на изменение баланса и метаболизм эндогенных фитогормонов [10, с. 443-445] таких как ИУК, АБК, цитокинины, гибберелины и этилен, взаимодействие с мембранными структурами [11, с. 60-62]. По своей структуре БРС близки к стероидным гормонам животных, поэтому понимание природы их активности имеет огромное значение для теоретической биологии [12, с. 398-402].

Объекты и методы. Объектами исследования были зуплоид и 10 ДТ-линии (6AS, 6AL, 7AS, 7AL, 5BS, 5BL, 7BS, 7BL, 3DS, 3DL) пшеницы Чайниз Спринг, отличающихся отсутствием определенного плеча в хромосоме. Семена сорта и изучаемых линий на 3 часа замачивались в растворах брассинолида (БР), эпибрассинолида (ЭБ), гомобрассинолида (ГБ) в концентрации 0,01 ppm (10-8%), контрольные семена погружались в воду. Спустя 7 и 10 дней после обработки оценивалось влияние БРС на длину и массу корней и проростков. Растения выращивались в рулонах при освещении люминесцентными лампами, температуре 23-25^oС на среде Хогланда-Арнона.

Количественное определение содержания фитогормонов проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа, основанного на конкуренции за ограниченное количество антител между фитогормоном, содержащимся в исследуемом материале, и постоянным количеством гаптена, иммобилизованного через овальбумин на полистироловом планшете. Количество сорбированных антител определяли с помощью антикроличьих иммуноглобулинов, меченных пероксидазой. Измерение основано на том, что активность связавшегося фермента обратно пропорциональна количеству фитогормонов в образце. Данный метод позволяет определить в экстракте количественное содержание фитогормона до нескольких пикограмм [13, 14]. Были использованы наборы для иммуноферментного анализа для определения содержания свободных ИУК, АБК и зеатин-рибозида фирмы "Башинвест" (Уфа).

Для определения специфичности реакции при определении ИУК и АБК использовали следующую схему экстракции. Растительный материал гомогенизировали и экстрагировали гормоны 80% этанолом в соотношении 1:10 в течение 16- 20 часов при температуре (5+3)^oС. Затем в течение 1 минуты материал перемешивали на качалке и осадок отделяли центрифугированием (15 мин при 15000 g) или фильтрацией. Спирт упаривали, а водный остаток доводили водой до 15 мл и закипяли 1н соляной кислотой до pH 2+1. К водной фазе добавляли 5 мл диэтилового эфира перемешивали покачиванием, дожидались разделения фаз и собирали эфирную фракцию, где содержится ИУК и АБК. Операцию повторяли, добавляя к водной фазе 3 мл эфира. К суммарному эфирному экстракту добавляли 4 мл 1%-ного бикарбоната натрия, снова перемешивали, после разделения фаз и отбрасывали эфирную фазу. При этом ИУК и АБК находились в растворе соды. Вместе с эфиром удалялись иммунореактивные нейтральные производные гормонов, которые мешали определению свободных форм. Раствор соды закипяли и дважды экстрагировали эфиром (по 2 мл эфира каждый раз), как описано выше. Собранную эфирную фазу, где содержались ИУК и АБК метелировали диазометаном.

Суммарное содержание производных зеатина определяли в нейтральном водном остатке. Экстракцию цитокининов проводили в бутаноле.

После упаривания эфира и бутанола (в зависимости от типа гормона) образцы растворяли в 100 мкл 80% этилового спирта.

0,1-1 г растительного материала обычно достаточно для определения ИУК, АБК и цитокининов в 5-ти аналитических повторностях каждого гормона.

Учет результатов проводился спектрофотометрически при длине волны 492 нм на иммуноферментном калориметрическом анализаторе КАИ-Ц.01.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследования было установлено, что БРС оказывали различное влияние на начальный рост зуплоида и ДТ-линий в зависимости от генома, гомеологичной группы, наличия длинного и короткого плеча в хромосоме, времени после воздействия, структуры препарата. БРС положительно влияли на рост растений линий с "длинным" плечом хромосом 6А, 7А. Специфичность этих препаратов проявлялась в направленности их действия на линию 7АС, линии третьей гомеологичной группы генома D и линию 7BL (табл.). Данная концентрация БР активизировала рост зуплоида, а остальные БРС практически не влияли на ростовые процессы сорта. Стимуляторное действие БР и ГБ было аналогичным, а угнетение – специфичным: БР – тормозил рост линии 3ДС, а ГБ- 6АС. Максимальная активизация ростовых процессов под влиянием ЭБ отмечалась на линии 7АL, а ингибировалась линия - 3ДС.

Установлено, что структурные различия между БРС значительным образом влияют на характер взаимодействия с гормональной и генетической системой растений и определяют степень чувствительности растений к тому или иному препарату.

Выявлены 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 брассинолида ее количество резко снижалось, а при обработке эпи- и гомобрассинолидами – возрастало (табл.).

Как известно, в основе регуляции роста каждого органа лежит система одних и тех же веществ. Однако для нормального роста необходимо не просто присутствие гормонов, а их определенное соотношение [15]. Установлено, что под влиянием БР резко увеличивалась концентрация всех трех гормонов у линии 3ДС и при этом отмечалось резкое угнетение ростовых процессов, так как резко снижалось соотношение ИУК/АБК (0,585) и ЗР/ИУК (0,819). А у линии 7АС соотношение ЗР/ИУК было 8,66, что, видимо, и определило активизацию ростовых процессов у данных пиний. В целом, при взаимодействии БР с гормональной системой растений стимуляция роста отмечалась при соотношении ЗР/ИУК выше 1.

В результате воздействия ЭБ значительно возрастал уровень ЗР и было высокое соотношение ЗР/ ИУК у линий 6АL и 7АL, что определило увеличение длины и массы надземных побегов у этих линий, а у линии - 3ДС соотношение ЗР/ИУК и тормозной характер ростовых процессов был аналогичен БР. Из общей тенденции выбиваются линии 5BL и 5BS, у которых под влиянием ЭБ резко увеличивается содержание АБК, а рост при этом не замедляется. Вероятно, экзогенный ЭБ выступает как адаптоген и взаимодействует с эндогенными БРС или гиббереллинами, активизируя ростовые процессы.

Выявлен сложный характер взаимодействия ГБ с гормональной системой зуплоида и ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг. Так у линии 7BL и 5BL резко возрастал уровень АБК и ГБ в данном случае выступал как ингибитор. У пиний генома D – 3ДС и 3DL наиболее чувствительной оказалась линия 3DL, у которой заметно увеличилось накопление двух гормонов - ИУК и АБК. В данном случае активизация ростовых процессов определялась высоким соотношением ИУК/АБК. Аналогичным соотношением характеризовались растения линии 7АС.

Таким образом, характер действия ФАВ, не значительно различающихся по структуре, физико-химическим свойствам, направленности влияния на растение, а также различной степенью проникновения, передвижения, метаболизма, связи с белками-рецепторами, обусловлено как общими так и специфическими реакциями обмена веществ. В связи с чем, при выборе регуляторов роста и развития растений необходимо учитывать особенности генотипов, обладающих

различной пластичностью физиолого-биохимических систем и их адаптационный потенциал, заложенный в геноме [16, с.545].

Таблица – Изменение содержания отдельных фитогормонов и ростовые характеристики десятидневных растений эуплоида и ДТ-линий пшеницы Чайниз Спринг после предпосевной обработки семян brassinolidом (1), эпи- (2) и гомобраassinolidом (3)

Вариант	Содержание отдельных фитогормонов									Ростовые характеристики					
	ИУК			АБК			Зеатин-рибозид			Высота проростков			Масса проростков		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Эуплоид	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-
6A ^L	=	-	-	-	+	=	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6A ^S	-	-	-	+	+	+	-	+	-	=	+	-	=	+	=
7A ^L	=	+	-	+	-	+	=	+	+	+	+	+	+	+	+
7A ^S	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	=	+	+	-
5B ^L	+	+	+	+	+	+	-	-	-	=	+	+	+	+	+
5B ^S	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	=	+	+	-
7B ^L	+	-	+	-	-	=	+	+	-	-	=	-	-	+	-
7B ^S	+	+	+	-	-	+	+	-	+	=	=	=	=	+	=
3D ^a	+	-	+	-	-	-	-	-	-	=	=	+	+	=	+
3D ^b	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	=	-	-	+

«+» – выше контроля; «-» – ниже контроля; «=» – на уровне контроля.

Литература

1. Веденев А.Н., Деева В.П. Поглощение, распределение и метаболизм регуляторов роста квартазина в проростках двух сортов ячменя, различающихся по чувствительности к препарату // Вестн АН РБ. Сер. биол. наук. 1994. № 4. - С. 20-25.
2. Деева В.П., Шелер З.И., Санько Н.В. Избирательное действие химических регуляторов роста на растения: Физиологические основы – Мн.: наука и техника.- 1988.- С. 255
3. Деева В.П., Санько Н.В., Ведзянеев А.М., Зайцева Т.М. Физиолого-биохимические аспекты уздзяення сінтэтычных рэгулятару росту на расліны // Вестн АН БССР. Сер. бял. навук 1991. № 3. С.80-86.
4. Деева В.П., Санько Н.В., Веденев А.Н. и др. Физиолого-биохимические основы адаптивных реакций отдельных генотипов при воздействии экзогенных физиологически активных веществ – В кн. Проблемы экспериментальной ботаники.-Минск Белорусская наука.-1997.-С. 355-367.
5. Хрипач В.А., Жабинский В.И., Лахвич Ф.А. Перспективы практического применения brassinosteroidов – нового класса фитогормонов (Обзор) // Сельскохозяйственная биология. 1995. №1. С. 3-11.
6. V.P. Deeva, Z.E. Mazels, V.A. Khripach Genetic control of brassinosteroids effects in wheat // The Plant Growth Regulation Society of America -24 –th An. meeting. – Atlanta, Georgia (August 8-12, 1997)- 1997., P. 127-132.
7. Мазец Ж.С. К вопросу об избирательности действия регуляторов роста // В сб. Актуальные проблемы современной науки. У 2 ч., Мн.: БДПУ, 2004, Ч.1, С. 153-156.
8. В. А. Хрипач, О. В. Свиридов и др. Иммуноферментный анализ 24R-брасиностероидов // В. А. Хрипач, О. В. Свиридов, А. Г. Прядко, Р. П. Литвиновская, С. В. Дран, В. Д. Матвеевцев, Т. В. Новик, К. И. Михайлопуло, В. Н. Жабинский, М. И. Завадская, М. А. Аверькова, О. А. Драченко, Н. М. Чашина// Биохимическая химия - 2007, Т. 33 №3-371-378
9. Физиология растений: Учебник для студ. вузов/ Н.Д. Алексина, Ю. В. Бапокин, В.Ф. Гавриленко и др. – Под ред. И.П. Ермакова – М.: Изд. центр. «Академия», 2005. - 640 с.
10. Steven D. Clouse Integration of light and brassinosteroid signals in etiolated seedling growth // Trends in Plant Science V.6. №10 2001. P. 443-445.
11. Philip W. Bcraft Plant steroids recognized at the cell surface // Trends in Genetics V. 17 № 2. 2001. P. 60-62.
12. C. Mussig, T. Altmann// Brassinosteroid signaling in plant // Trends in Endocrinology and metabolism. V.12 № 9. 2001. P. 398-402.
13. Иммуноферментная тест-система для определения цитокининов / Кудрярова Г.Р., Веселов С.Ю., Каравайко Н.Н. и др. // Физиология растений. - 1990. Т. 37. № 1. - С. 193-199.
14. Кудрярова Г.Р. Иммунохимические исследования гормональной системы растений: регуляция роста и ответы на внешнее воздействие: Автореф. дис. д-ра биол. наук: 03.00.12.- С.Пб.-1996.- 48 с.
15. Кузнецов Вл. В. Физиология растений: Учеб. для вузов/ Вл. В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева: - М.: Высш. шк., 2005.-С.500-501.

Морфометрическая характеристика ассимиляционного аппарата пихты одноцветковой (ABIES CONCOLOR LINDL. ET GORD) в условиях городской среды

И.А. Шобанова, С.В. Судейная, О.В. Копац

Рекомендуемый для озеленения современных промышленных центров ассортимент древесных и кустарниковых растений трудно представить без хвойных, обладающих высокими эстетическими и санитарно-гигиеническими свойствами. Вместе с тем, местные хвойные породы оказались весьма чувствительными к современному уровню техногенного загрязнения [1]. В решении проблемы улучшения и обогащения качественного состава городских зеленых насаждений важная роль принадлежит хвойным интродуцентам.

Целью наших исследований явилась оценка жизненного состояния Пихты одноцветковой (*Abies concolor* Lindl. et Gord) в условиях города Минска.

Пихта одноцветная естественно произрастает в горах западной части Северной Америки. В Белоруссию интродуцирована во второй половине девятнадцатого века. Одна из красивейших пихт, обладает густой, широкопирамидальной кроной, скелетные ветви расположены горизонтально. Хвоя 50-70 мм длиной и около 2,5 мм шириной, сизовато-зеленая с обеих сторон (отчего и получила свое название), заостренная, держится 5-7 лет. Как высокодекоративная и устойчивая порода, заслуживает широкого использования в зеленом строительстве для создания алейных, групповых и одиночных посадок [2].

В качестве основного методического подхода в выполняемых исследованиях был принят метод сравнительного анализа, предусматривающий размещение изучаемых объектов в зонах отличающихся по уровню воздействия техногенного фактора. Объектами наших исследований явились групповые насаждения пихты одноцветной в Центральном ботаническом саду (ЦБС), Киевском сквере и уличные посадки по ул.Сурганова. Насаждения пихты одноцветной в Киевском сквере находятся на внешней границе сквера, на расстоянии 3-5 м от дорожного полотна, на ул.Сурганова на расстоянии 15-20 м от проезжей части. Известно, что автомобильный транспорт и его инфраструктура являются наиболее опасными источниками воздействия на окружающую среду. Из всех типов озеленительных посадок именно придорожные посадки представляются наиболее проблемными. Экологические условия произрастания в магистральных посадках характеризуются постоянным присутствием в воздухе техногенных транспортных эмиссий (углеводородов, окислов азота и серы, пыли, соединений тяжелых металлов), совместное воздействие которых на растительный организм может проявляться в эффектах антагонизма, синергизма и аддитивности.

Показателем биологического состояния растений было принято определение биометрических параметров хвои 1-4 года жизни. Хвою отбирали с южной стороны нижней части кроны, с ветвей первого порядка. Длину хвои измеряли при помощи миллиметровой линейки. Толщину и ширину на поперечных срезах, сделанных посередине хвои, под микроскопом – МБС-9. Площадь поверхности хвои рассчитывали по формуле Тирена: $S = \pi/2 \cdot l(1,137b + \pi r) \cdot 0,9$, где l , b , r – длина хвои (в см), ее ширина (в мм) и толщина (в мм). Коэффициент 0,9 вводится в связи с тем, что толщина и ширина хвоинки неодинакова по ее протяженности, тогда как измеряют их лишь в середине хвоинки, где они наибольшие [3]. Повторность измерений морфометрических показателей – 30 кратная. Кроме того, в 10-кратной повторности подсчитывали число хвоинок на 10 см побега разных лет. Если побег меньше 10 см, подсчет вели по существующей длине и переводили на 10 см. При подсчете количества хвои на побеге мы принимали во внимание не только растущую хвою, но и листовые следы, как это рекомендовано [3]. Результаты представлены в виде средних арифметических и стандартных отклонений.

Результаты, полученные нами по изучению морфометрических параметров ассимиляционного аппарата пихты одноцветной представлены на рисунке 1. Изменения параметров длины