ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ: ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
т. XXVII, № 5, 1974

УДК 547.962.2

Г. А. ПАНОСЯН, Е. Е. ТАМРАЗЯН

К ВЗАИМОДЕЙСТВИЮ ГИСТОНА С ГИББЕРЕЛЛИНОМ И АУКСИНОМ

Приводятся результаты экспериментов по влиянию обработки семян кукурузы ВИР-44 различными концентрациями гиббереллина, ауксина, гистона, протаминсульфата и их смесей с целью выяснения взаимодействия между ними.

Гистон и протаминсульфат влияют на физиологические эффекты гиббереллина и ауксина, что выражается в сильной стимуляции скорости и энергии прорастания и эффективности роста корешков и стебельков. Этот стимулирующий эффект нельзя объяснить только действием гистона на проницаемость клеток к гиббереллину или ауксину. Предполагается, что гистон влияет на эффект гиббереллина и ауксина на геномном уровне.

Одним из методов исследования регуляторной функции гистонов является изучение взаимодействия между ними и различного рода регуляторами роста, гормонами, активаторами и т. д. Имеются данные, указывающие на то, что растительные гормоны (ауксины, гиббереллины, цитокинины) регулируют синтез РНК и белков [1, 7, 8, 10—12], а также указывающие на образование комплексов растительных гормонов с гистонами [13, 14].

В наших предыдущих исследованиях было показано, что кратковременная обработка семян различных растений гистоном [5] или зеленым прочным—красителем, связывающимся с эндогенным гистоном [4], приводит к целому ряду функциональных и генетических изменений у развивающихся из этих семян растений.

В данном сообщении приводятся результаты экспериментов по влиянию обработки семян кукурузы ВИР-44 различными концентрациями гиббереллина, ауксина, гистона, протаминсульфата и их смесей с целью выяснения взаимодействия между этими соединениями.

Материал и методика. В экспериментах были использованы нефракционированный гистон эритроцитов кур, выделенный по методу Джонса и др. [9], протаминсульфат отечественного производства, гиббереллин и ауксин.

Воздушно-сухие семена кукурузы линии ВИР-44 обрабатывали водными растворами гистона, протаминсульфата, ауксина, гиббереллина и их смесей в разных концентрациях в течение 24 час. при 20°С pH около 6. Контрольные семена замачивали в тех же условиях в водопроводной воде. После обработки семена промывали проточной водопроводной водой и проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге. Вели учет скорости прорастания семян, энергии прорастания и скорости роста корешков и стебельков.

Для оценки влияния исследуемых веществ использовали метод определения эффективности прорастания семян и роста растений, описанный нами ранее [3], а также метод определения a_{max} и b_{50}, значение которых понятно из следующего.

Под энергией прорастания обычно понимается выраженное в процентах число проросших семян к общему их количеству на определенный, условно принятый день прорастания [2, 6]. Иногда даже между скоростью и энергией прорастания ставится знак равенства [6]. Подобная оценка всхожести семян кажется не совсем верной, исходя опять-таки из временной ее характеристики. При сравнении действия различных соединений на прорастание семян, как это будет видно из дальнейшего изложения, мы часто сталкиваемся с тем, что данное соединение вначале несколько задерживает прорастание и только затем стимулирует его. При обычной оценке энергии прорастания «эффект начальной задержки» не учитывается, что может оказаться важным для оценки биологической активности исследуемого соединения.

Результаты и обсуждение. Определение a_{max} и b_{50} становится понятным при рассмотрении рис. 1. На оси абсцисс откладываются дни измерения (на рис.— три дня, обычно от 1 до 5 дней, в зависимости от используемой культуры). За это время контрольные семена прорастают максимально, и последующее

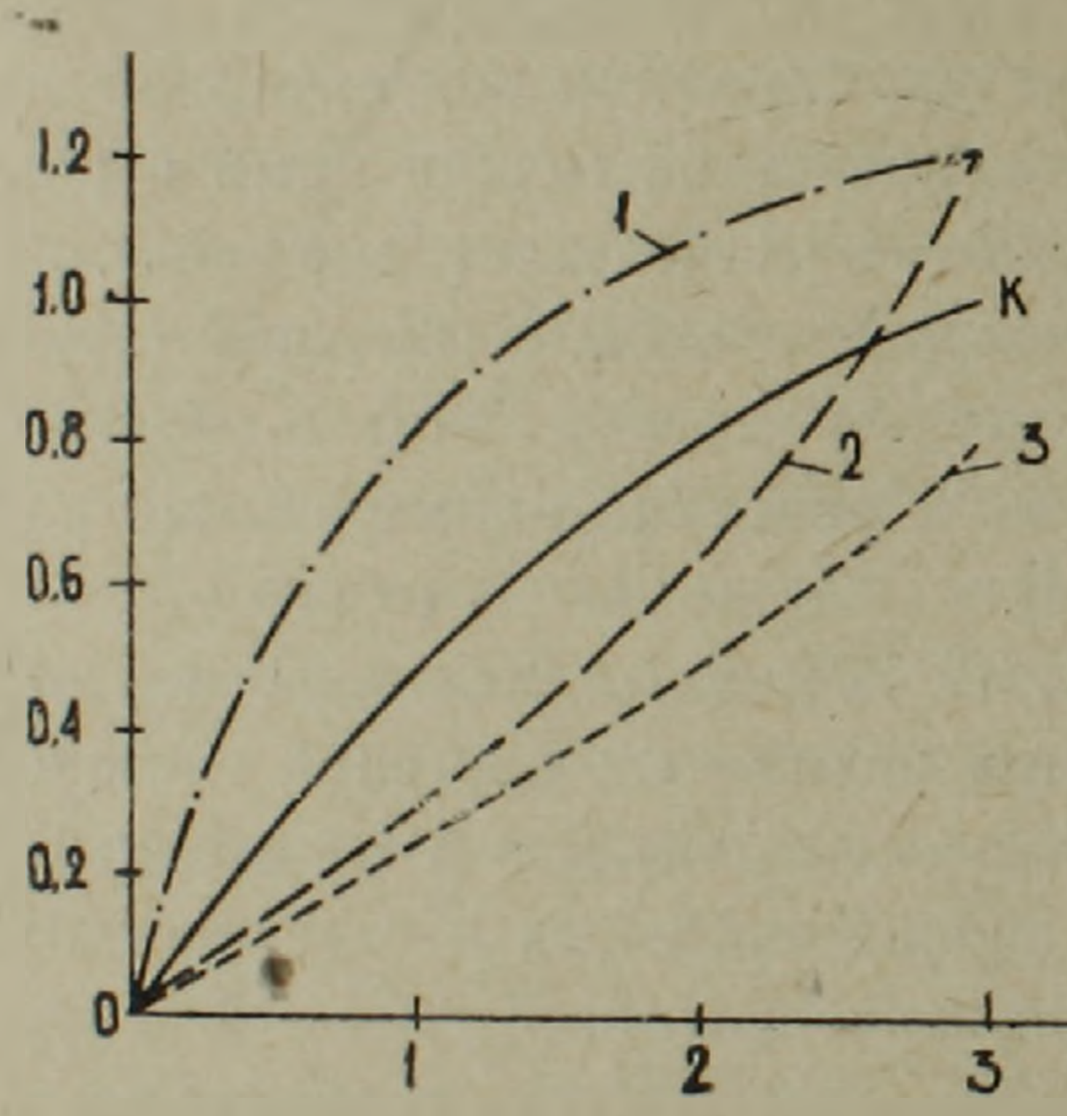

Рис. 1. Результаты гипотетического опыта по влиянию соединений на скорость и энергию прорастания (b_{50} и a_{max}) (объяснение в тексте.).

выдерживание в тех же условиях обычно не приводит к увеличению количества проросших семян. На оси ординат приводится отношение количества проросших семян в опытном образце (группе, варианте и т. д.), N к количеству проросших семян в контроле в последний день измерения. N a_{max} представляет собой ординату данной кривой, когда число проросших семян максимально. Если данное соединение оказывает стимулирующий эффект на прорастание, то $a_{max} > 1$; если не оказывает никакого действия, то $a_{max} = 1$ как и в контроле, а если угнетает, то $a_{max} < 1$.

B_{50} представляет собой отношение времени t_{50}, при котором прорастает половина всех проросших семян опытной группы, к тому же времени t_{50} контрольной (или наоборот). Следовательно, скорость прорас-

тания семян будет определяться временем t_{50}, а сравнительная оценка эффекта данного соединения—величиной b_{50}. При этом, если $b_{50}=1$, то данное соединение не оказывает никакого действия на скорость прорастания. Если b_{50} с положительным знаком (отношение t_{50} опытной группы к t_{50} контрольной), то скорость прорастания увеличивается в b_{50} раз, если с отрицательным (отношение контрольной t_{50} к опытной), то имеется такое же угнетение скорости прорастания. В обоих случаях большее t_{50} делится на меньшее. На рис. 1 приводятся примеры, когда имеется одновременная стимуляция энергии и скорости прорастания (кривая 1; $a_{max}=1{,}2$; $t_{50}=0{,}5$ дням; $b_{50}=2{,}4$), стимуляция энергии, но уменьшение скорости прорастания (кривая 2; $a_{max}=1{,}2$; $t_{50}=2{,}0$ дней; $b_{50}=-1{,}67$), угнетение и энергии, и скорости прорастания (кривая 3; $a_{max}=0{,}8$; $t_{50}=1{,}7$ дней; $b_{50}=-1{,}42$). Контрольные значения равны соответственно 1,0, 1,2 и 1,0. Это позволило нам в наших экспериментах разграничить действие исследованных соединений на скорость прорастания и энергию прорастания.

Как видно из табл. 1, между гиббереллином, ауксином, гистоном и протамином наблюдается взаимовлияние.

Обработка семян гиббереллином и ауксином приводит к изменению скорости и энергии прорастания, которое зависит от концентрации этих веществ. Гиббереллин лишь в самой слабой концентрации стимулирует скорость прорастания при отсутствии стимуляции энергии прорастания. Большие концентрации замедляют прорастание семян. Некоторое увеличение a_{max} наблюдается при концентрации 0,001%, тогда как 0,01%, гиббереллин несколько тормозит всхожесть семян.

Ауксин во всех случаях либо не действует на всхожесть, либо очень слабо тормозит прорастание. Однако скорость прорастания при малых концентрациях увеличивается, а при концентрации 0,01% наблюдается сильное его замедление ($b_{50}=-1{,}44$).

При совместном действии гиббереллина и ауксина наблюдается некоторая конкуренция между ними в отношении влияния на скорость прорастания, тогда как это взаимодействие не замечается при определении только энергии прорастания.

Гистон и протаминсульфат в концентрации 0,04% вызывают стимуляцию как энергии, так и скорости прорастания.

Совместное использование гистона и гиббереллина при всех применяемых нами концентрациях последнего приводит к довольно значительному увеличению энергии и скорости прорастания.

Гистон во всех случаях стимулирует энергию прорастания семян при совместном использовании с ауксином.

Протаминсульфат с гиббереллином и ауксином, используемыми в наивысших концентрациях (0,01%), вызывают стимуляцию и скорости, и эффективности прорастания, причем в случае ауксина он довольно значительно стимулирует скорость прорастания ($b_{50}=+1{,}56$).

Данные таблицы показывают, что в отношении скорости и энергии прорастания между гиббереллином и ауксином, с одной стороны, и

Таблица

Влияние различных соединений и их смесей на a_{max} и b_{50} кукурузы ВИР—44

Соединение, %	A_{max}	b_{50}
Гиббереллин 0,0001	1,02	+1,38
Гиббереллин 0,001	1,07	—1,11
Гиббереллин 0,01	0,96	—1,22
Ауксин 0,0001	0,96	+1,06
Ауксин 0,001	0,96	+1,12
Ауксин 0,01	0,68	— 1,44
Гистон 0,04	1,08	+1,39
Протаминсульфат 0,04	1,14	+1,09
Гиббереллин + ауксин по 0,0001	0,98	1,00
Гиббереллин + ауксин по 0,001	0,89	—1,28
Гиббереллин + ауксин по 0,01	0,93	—1,67
Гистон 0,04 — гиббереллин 0,0001	1,22	+1,20
Гистон 0,04 + гиббереллин 0,001	1,28	+1,19
Гистон 0,04 + гиббереллин 0,01	1,28	+1,56
Гистон 0,04 + ауксин 0,0001	1,22	+1,56
Гистон 0,04 + ауксин 0,001	1,28	+1,79
Гистон 0,04 + ауксин 0,01	1,11	—1,20
Протаминсульфат 0,04 + гиббереллин 0,01	1,23	+1,47
Протаминсульфат 0,04 + ауксин 0,01	1,08	+1,56

гистоном и протаминсульфатом, с другой, имеется определенное взаимодействие, выражающееся (в зависимости от использованных концентраций) либо в снятии, либо во взаимном торможении или усилении эффектов.

Взаимодействие между гиббереллином, ауксином, гистоном и протаминсульфатом наблюдается также при исследовании их влияния на эффективность роста корешков и стебельков кукурузы ВИР-44.

На рис. 2 представлены результаты подобных экспериментов. Опыты показали, что обработка семян гиббереллином приводит к резкому увеличению эффективности роста стебельков. Стимуляция зависит от концентрации: 0,0001% гиббереллин стимулирует рост стебельков в 2 раза, тогда как 0,01% гиббереллин—в 5. Обработка семян гиббереллином приводит также к увеличению эффективности роста корешков в 2,2—2,6 раз. Отсюда видно, что стебельки стимулируются в большей степени, чем корешки.

Ауксин при обработке воздушно-сухих семян резко стимулирует рост стебельков только при относительно высоких концентрациях—0,01%, при меньших концентрациях—0,001 и 0,0001%—оказывает тормозящее действие (тормозит почти в два раза). Ауксин в концентрации 0,01% стимулирует рост корешков всего на 65%, тогда как 0,001 и 0,0001% концентрации тормозят рост корешков более, чем в два раза.

Обработка семян смесью растворов гиббереллина и ауксина, применяемых в концентрациях, оказывающих максимальный стимулирующий эффект, оказывает стимулирующее влияние на эффективность роста стебельков, но в гораздо меньшей степени, чем в случае обработки семян каждым из этих веществ в отдельности—всего в 2,35 раза. То есть наблюдается как бы взаимное угнетение эффекта. Меньшие кон-

центрации обоих веществ (0,0001%), по-видимому, не оказывают взаимного тормозящего действия, даже в какой-то мере наблюдается аддитивность эффектов гиббереллина и ауксина. Однако полное взаимное угнетение роста корешков наблюдается при обработке семян смесью гиббереллина и ауксина в обеих концентрациях (0,01 и 0,0001%).

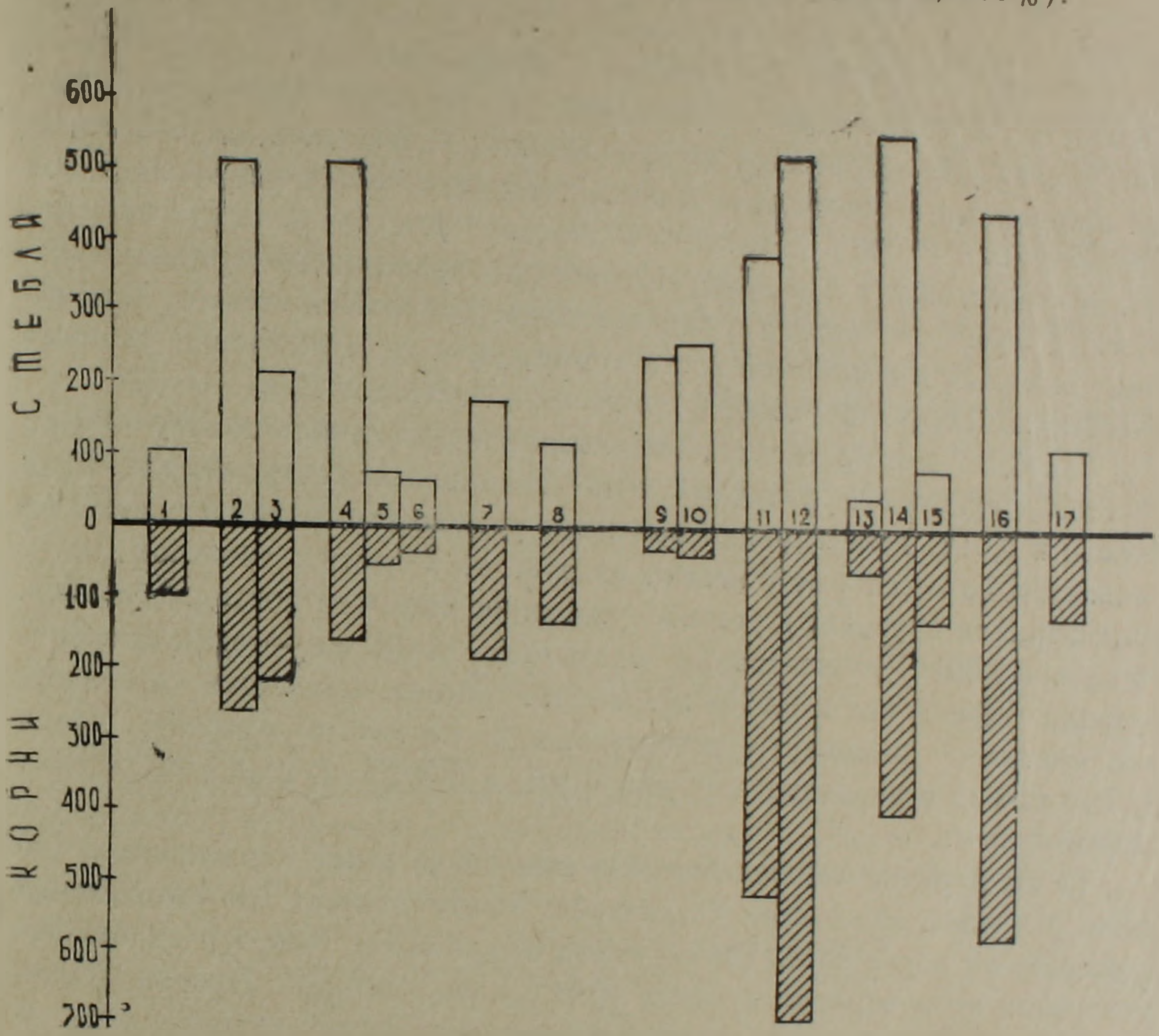

Рис. 2. Эффективность ($E_{100.3.1}$) роста стебельков и корешков кукурузы ВИР-44 (в % к контролю) при обработке семян различными концентрациями гиббереллина, ауксина, гистона, протаминсульфата и их смесей. 1—контроль, 2—0,01% гиббереллина, 3—0,001% гиббереллина, 4, 5, 6—соответственно 0,1; 0,001; 0,0001% ауксина, 7—0,04% гистона, 8—0,04% протамина, 9—0,01% гибберел.+0,01% ауксин, 10—0,0001% гибберел.+0,0001% ауксин, 11—0,04% гистон+0,01% ауксин, 12—0,04%+0,0001% гиббереллина, 13, 14, 15—0,04% гистон+0,01, 0,001, 0,0001% ауксин соответственно, 16--0,04% протамина+0,01% гиббереллина, 17—0,04% протамина+0,01% ауксина.

Как видно из рис. 2, гистон и протаминсульфат в концентрации 0,04% приводят к стимуляции роста стебельков и корешков: гистон почти в 2 раза, а протаминсульфат—несколько слабее.

Интересны данные по влиянию на эффективность роста стебельков и корешков обработки семян смесью гистона и гиббереллина. Концентрация гиббереллина 0,01% совместно с гистоном не дает аддитивной реакции по отношению к эффективности роста стебельков, даже наблю-

дается некоторое торможение стимуляции. Однако в отношении эффективности роста корешков наблюдается стимулирующий эффект, превышающий сумму таковых гиббереллина и гистона в отдельности в соответствующих концентрациях.

Резко выраженное взаимодействие между эффектами гиббереллина и гистона наблюдается при определении эффективности роста стебельков и корешков в случае с меньшими концентрациями гиббереллина (0,0001%), которые сами по себе дают относительно слабую стимуляцию стебельков и корешков по сравнению с более концентрированными растворами гиббереллина. Смесь гистона и гиббереллина в данной концентрации (0,000%) приводит к резкому стимулирующему эффекту роста стебельков (в 5,3 раза), что намного превышает сумму стимулирующих эффектов гистона и гиббереллина. В большей степени этот эффект выражен в отношении роста корешков, где стимуляция их роста смесью гиббереллина (0,0001%) и гистона достигает 72%.

Сложные взаимодействия наблюдаются при использовании смеси гистона и ауксина в различных концентрационных соотношениях. Если ауксин в 0,01% концентрации вызывает резкую стимуляцию роста стебельков, а более слабые угнетают их рост, то в смеси с гистоном 0,01% концентрация приводит к резкому угнетению скорости роста стебельков, тогда как 0,001% концентрация оказывает такой же резкий стимулирующий эффект, как и 0,01% ауксин без гистона. Создается впечатление, что гистон повышает чувствительность клеток к ауксину, делая 0,01% ауксин очень концентрированным, а 0,001% ауксин достаточно эффективным.

Та же картина наблюдается и в отношении роста корешков, с той лишь разницей, что гистон увеличивает эффективность 0,001% ауксина в отношении роста корешков во много раз больше, чем это делает эффективная концентрация ауксина (0,01%) без гистона. Протаминсульфат так же, как и гистон, резко увеличивает эффект гиббереллина на рост корешков и снимает эффект ауксина.

Таким образом, гистон и протаминсульфат влияют на физиологические эффекты гиббереллина и ауксина. Этот эффект нельзя объяснить действием гистона на проницаемость клеток к гиббереллину или ауксину, т. к. во многих случаях (0,0001% гиббереллин, 0,001% ауксин с гистоном и гиббереллин с протаминсульфатом) полученные эффекты никак не могут являться результатом простого увеличения концентрации этих веществ в клетке за счет увеличения проницаемости. Создается впечатление, что гистон, обладая стимулирующим эффектом, влияет на эффект гиббереллина и ауксина на уровне тех же процессов, на которые действуют первично и ауксин, и гиббереллин, и гистон, т. е. на геномном уровне.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 6.IV 1973 г.

Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ, Ե. Ե. ԹԱՄՐԱԶՅԱՆ

ՀԻԲԵՐԵԼԻՆԻ ԵՎ ԱՈՒՔՍԻՆԻ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԻՍՏՈՆԻ ՀԵՏ

Ա մ փ ո փ ո ւ մ

Աշխատանքում ներկայացված է հիբերելինի, աուքսինի, հիստոնի, պրոտամինսուլֆատի և նրանց խառնուրդների տարբեր կոնցենտրացիաներով մշակված եգիպտացորենն ВИР-44-ի սերմերը՝ նպատակ ունենալով վերհանել նրանց միջև եղած փոխազդեցությունը։

Պարզվել է, որ հիստոնը և պրոտամինսուլֆատը ազդում են հիբերելինի և աուքսինի ֆիզիոլոգիական էֆֆեկտի վրա, որն արտահայտվում է որոշ դեպքերում ինչպես աճման արագության և ծլման էներգիայի խթանումով, այնպես էլ արմատիկների ու ցողունների աճման էֆֆեկտիվությամբ։

Խթանման էֆֆեկտիվությունը չի կարելի բացատրել միայն բջիջներում հիբերելինի և աուքսինի թափանցելիության վրա հիստոնի ունեցած ազդեցությամբ։ Ենթադրվում է, որ հիստոնն ազդում է հիբերելինի և աուքսինի էֆֆեկտի վրա գենոմի մակարդակում։

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кулаева О. Н.* Усп. совр. биол., 63, 28, 1967.
2. *Авчаров К. Е.* Физиологические основы всхожести семян, М., 1969.
3. *Паносян Г. А., Тамразян Е. Е.* Биологический журнал Армении, 24. 12, 1971.
4. *Паносян Г. А., Тамразян Е. Е.* Биологический журнал Армении, 26, 2, 1973.
5. *Паносян Г. А , Тамразян Е. Е.* Генетика, 9, 5, 1973.
6. *Руге У.* Практикум по физиологии роста и развития растений. М., 1955.
7. *Хавкин Э. Е.* Индуцированный синтез ферментов в условиях роста и морфогенеза растений, М., 1969.
8. *Heslop-Harrison.* Ann Rev. Plant Physiol, 18, 325, 1967.
9. *Johns E. W., Phillips D. M. P., Butler J. A. V.* Biochem. J., 80, 189, 1961.
10. *Stern W.* Ann Rev Plant Physiol. 17, 345, 1966.
11. *Van Overbeck J.* Science, 152, 721, 1966.
12. *Varner J. E.* Ann N. Y. Acad. Science 144, 219, 1967.
13. *Yamade Y., Yasuda T.* BBRC 43. 488, 1971.
14. *Yasuda T., Yamade Y.* BBRC 40, 649, 1970.

Биологический журнал Армении, XXVII, № 5—4