

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ДНК В АЛЕЙРОНОВОЙ ТКАНИ
ПШЕНИЦЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГИББЕРЕЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ

И. Г. АРЦРУНИ, Г. А. ПАНОСЯН

Исследовано влияние гибберелловой кислоты на алейроновую ткань зерновок озимых сортов пшеницы Безостая 1 и Кавказ. У семян Безостая 1 она не индуцирует повышение α -амилазной активности.

Имеется межсортовое различие в содержании ДНК. После обработки гибберелловой кислотой содержание ДНК в алейроновой ткани увеличивается.

Гибберелловая кислота стимулирует в алейроновой ткани зерновки сорта Кавказ процессы, сопряженные с синтезом ДНК.

Гибберелловая кислота (ГК) известна как стимулятор ряда морфогенетических процессов растительных организмов. Однако исследование роли этого растительного гормона в шитимных биохимических преобразованиях, лежащих в основе ростовых, формообразовательных и сопутствующих им процессов, было начато сравнительно недавно.

Влияние ГК на общую амилитическую активность эндосперма ячменя впервые было установлено в 1958 г. Помо [1]. Этот феномен был повторно открыт и детально исследован Вернером и Чандрой [2] в 1964 г. И хотя еще в 1915 г. Гюнтер показал [3], что ведущая роль в ферментообразовании и гидролитической активности эндосперма злаковых принадлежит алейроновой ткани, лишь в 1967—1972 гг. окончательно было установлено, что ГК стимулирует активность, синтез и секрецию α -амилазы и ряда других гидролаз в алейроновых клетках зерновки злаков [4—7].

Возможность изменения метаболизма нуклеиновых кислот, в частности РНК, в алейроновой ткани под действием ГК впервые была отмечена в 1965 г. [8]. В 1971—76 гг. было установлено, что ГК вызывает увеличение содержания р- и и-РНК в течение первых 12 час. обработки алейроновой ткани этим гормоном [9—11]. На наш взгляд, это может быть обусловлено как повышением генной активности хромосомного аппарата, так и увеличением абсолютного количества наследственной субстанции—ДНК. В настоящей работе приводятся результаты изучения влияния ГК на содержание ДНК в алейроновой ткани пшеницы.

Материал и методика. Объектом исследований служили сорта Безостая 1 и Кавказ урожая 1977 г. В качестве наиболее просто осуществимого биотеста активности ГК было выбрано изменение амилазной активности в обработанной гормоном алей-

роновой ткани (индуцируемое гормоном усиление секреции ферментов) и в клеточном гомогенате (интенсификация синтеза) [4].

Эмбрионизмированные семена пшеницы замачивались в течение 24 час. в проточной воде, затем материал растирался в струе водопроводной воды в нейлоновой мешочке до полного удаления набухшего клейкого вещества крахмалистой части эндосперма. Отделенная таким образом алейроновая ткань дополнительно промывалась в стерилизованной дистиллированной воде. Инкубация ткани проводилась в 10 мМ Na-ацетатном буфере, содержащем 20 мМ CaCl_2 (рН 4,8, буф. 1) в контрольных вариантах и $0,5 \times 10^{-6}$ М ГК в опытах, при комнатной температуре.

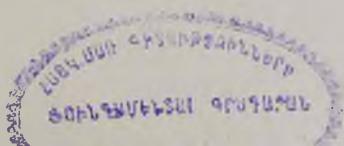
Определения амилазной активности проводились согласно Коллинсу и др. [12].

Для количественного определения ДНК навеска ткани (1 г) гомогенизировалась в 5 мл 10 % ТХУ в стеклянном гомогенизаторе со скоростью вращения пестика 5000 об/мин в течение 2—3 мин, с соблюдением необходимого охлаждения системы. Дальнейшие процедуры производились согласно классической схеме количественного определения нуклеиновых кислот в тканях [13]. ДНК определялась спектрофотометрическим [14] и дифениламинным методом в модификации Бартона [15], белок—микробиуретовым методом Идзаки [16]. Как было нами установлено в предварительных экспериментах, данные фотометрического и калориметрического определений ДНК достоверно не отличались. В данной работе содержание ДНК определялось спектрофотометрическим путем.

Результаты и обсуждение. Известно, что большую роль в генной экспрессии играют хромосомные белки, связанные с ДНК. Наши предыдущие исследования показали, что ГК не вызывает заметных изменений в составе хромосомных белков алейроновой ткани озимых сортов пшеницы. Это дало основание предположить, что в процессе индукции α -амилазы гиббереллином в алейроновых клетках ведущую роль может играть изменение количественного и качественного состава ДНК.

Полученные нами данные (рис. 1) показывают, что алейроновая ткань семян Безостая 1 характеризуется значительно большим по сравнению с той же тканью семян сорта Кавказ содержанием ДНК. Как и предполагалось, межсортовые различия имеются и во внутриклеточном содержании α -амилазы алейроновой ткани. Алейроновые клетки семян сорта Безостая отличаются не только большим содержанием ДНК, по сравнению с сортом Кавказ, но и большим внутриклеточным содержанием α -амилазы. Обработка ГК алейроновой ткани семян Безостая 1 вызывает почти двукратное падение α -амилазной активности в клеточном экстракте при той же интенсивности секреции фермента (рис. 2). Обусловлено ли это индуцированным ГК биохимическим блокированием α -амилазной активности или ГК-зависимой репрессией синтеза фермента, покажут дальнейшие исследования.

Нами установлено, что ГК индуцирует синтез α -амилазы в алейроновой ткани зерновок сорта Кавказ через 12 час. после обработки гормоном. К 24-му часу инкубации алейроновой ткани в присутствии гормона удельная активность α -амилазы в среде возрастает приблизительно в 3,5 раза без заметного изменения внутриклеточного содержания фермента. Это говорит об усилении процессов секреции фермента, индуцируемых ГК, и одновременном увеличении синтеза α -амилазы [4].



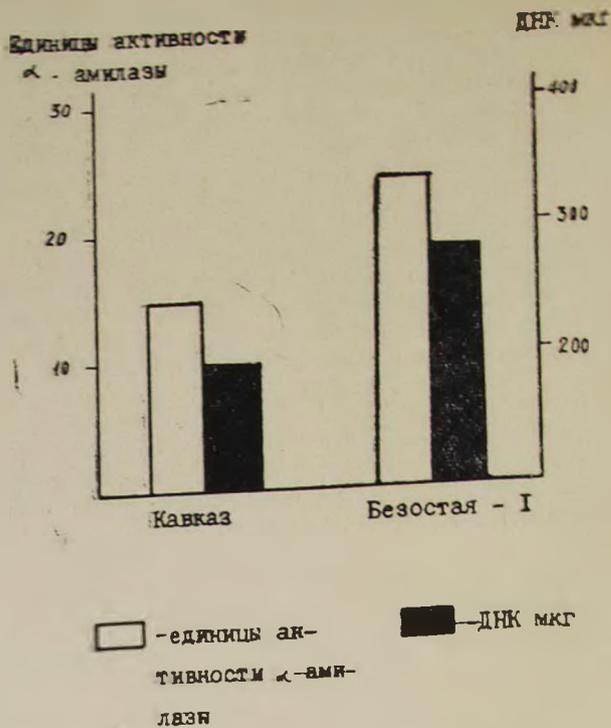


Рис. 1. Содержание ДНК и α -амилазы в алейроновых клетках зерновок. 1—Кавказ. 2—Безостая 1.

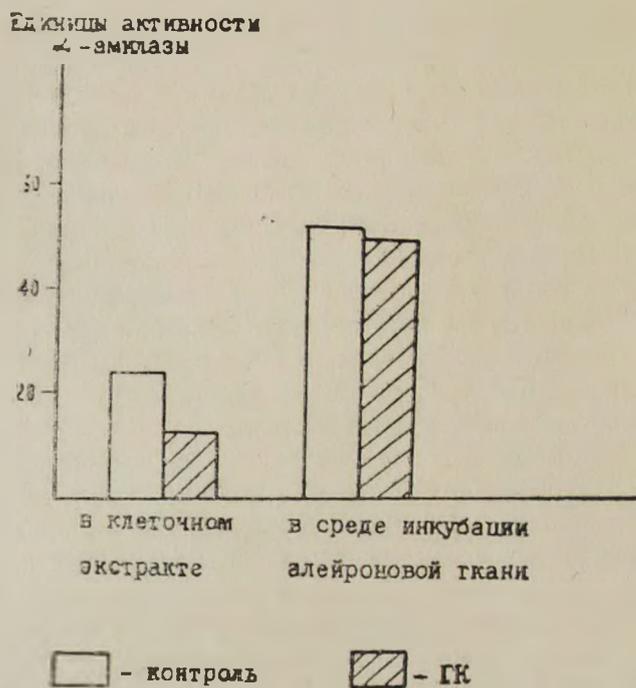


Рис. 2. Изменение α -амилазной активности алейроновой ткани зерновок сорта Безостая 1 после обработки ГК. 1—клеточный экстракт, 2—среда инкубации алейроновой ткани.

Общезвестно, что алейроновая ткань зерновок злаковых представлена гомогенной популяцией неделиащихся клеток. Тем не менее, по нашим данным (рис. 3, кр. 1), при инкубации алейроновой ткани зерновок сорта Кавказ в буфере 1 в первые 12 час. наблюдается повышение содержания ДНК приблизительно на 25%. В последующие 12 час. (24-й час инкубации) оно снижается до первоначального уровня. Совершенно иная картина наблюдается при инкубации алейроновой ткани в присутствии гормона: содержание ДНК превышает исходный уровень почти в 2 раза (рис. 2, кр. 2).

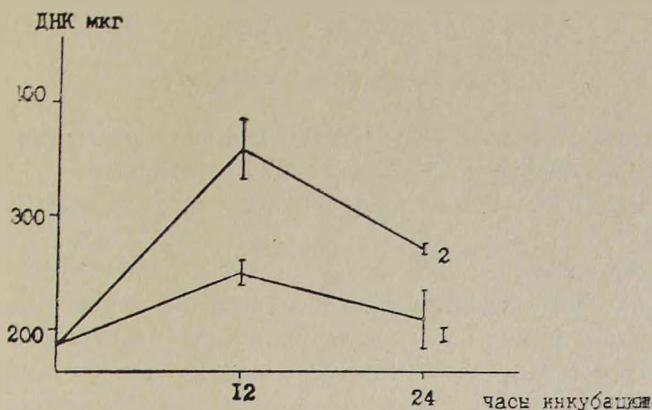


Рис. 3. Динамика изменения содержания ДНК в алейроновых клетках зерновок сорта Кавказ. 1—контроль, 2—ГК.

Таким образом, ГК стимулирует не только амилалитическую активность алейроновой ткани, связанную с синтезом фермента [4], но и резко усиливает процессы синтеза ДНК в ней. Увеличение содержания ДНК в контрольных вариантах, о котором говорилось выше, мы склонны объяснить действием эндогенных гиббереллоподобных веществ [5].

Выявление механизмов указанных явлений, контролируемых ГК, может открыть перспективы в отношении исследования влияния гормона на процессы, сопряженные с реализацией наследственной информации в растительных клетках.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 30.X 1978 г.

**ԳԵՆ-Ի ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ՑՈՐԵՆԻ
ԱԼԵՅՐՈՆԱՅԻՆ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՈՒԹՅ ԶԻԲԵՐԵԼԱԹԹՎԻ
ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԵՐՔՈ**

Ի. Գ. ԱՐՄՐՈՒՆԻ, Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

Հետազոտվել է հիբերելաթթվի ազդեցությունը ցորենի բեզոստայա 1 և 4 սովկաս տեսակների ալեյրոնային հյուսվածքի վրա: Ցույց է տրված, որ բեզոստայա 1 տեսակի սերմնահատիկի ալեյրոնային հյուսվածքում հիբերելաթթուն ամիրազային ակտիվության նկատելի փոփոխություն առաջ չի բե-

րում: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ Բեզոստայա 1 և Կովկաս տեսակների ալելրոնային շերտերը տարբերվում են ԴՆԹ-ի սկզբնական քանակությամբ: Կովկաս տեսակի ալելրոնային ճյուղավածքը հիբրեկլաթթվով մշակելիս առաջին 12 ժամում նկատվում է ԴՆԹ-ի պարունակության աճ, որը հետագա 12 ժամվա ընթացքում նկատելիորեն նվազում է: Հորմոնով մշակելուց 24 ժամ հետո ԴՆԹ-ի քանակը 3 անգամ գերազանցում է նրա սկզբնական մակարդակը ճյուղավածքում:

GIBBERELIC ACID INDUCED CHANGES OF DNA IN WHEAT ALEURON TISSUE

I. G. ARTSRUNY, G. A. PANOSYAN

The influence of gibberelic acid (GA) on aleuron tissue of winter wheat species Bezostaya 1 and Cavcaz was investigated.

It was found that GA did not enhance α -amylase activity in tissue of Bezostaya 1.

It has been shown that Bezostaya 1 and Cavcaz species considerably differ in DNA content, that GA induces the increase of DNA level in wheat aleuron tissue. The conclusion that GA stimulates processes connected with DNA synthesis in wheat aleuron tissue was made.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Yomo H. Hakkō Kyōkaishi, 16, 444—448, 1958.
2. Varner J. E., Chandra I. R. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 52, 100—106, 1964.
3. Gunther O. Bot. Archiv, 18, 1927.
4. Chrispeels M. S., Varner J. E. Plant. Physiol., 42, 398—406, 1967.
5. Chrispeels M. S., Varner J. E. Plant. Physiol., 42, 1008—1016, 1967.
6. Jones R. Plant. Physiol., 47, 3, 412—416, 1971.
7. Bennet P. A., Chrispeels M. S. Plant. Physiol., 49, 445—447, 1972.
8. Chandra I. R., Varner J. E. Bioph. et Bioch. Acta, 108, 583—592, 1965.
9. Evins W. H. Biochem., 10, 4295—4303, 1971.
10. Ho D. T. H., Varner J. E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71, 4783, 1974.
11. Higgins T., Zwar J., Jacobsen L. Nature, 260, 5547, 166—169, 1976.
12. Collins J. J., Jenner C. F., Paleg L. J. Plant. Physiol., 49, 398, 1972.
13. Schmidt-Tannhauser. J. Biol. Chem., 161, 3, 1945.
14. Георгиев Г. П. Химия и биохимия нуклеиновых кислот. М., 1968.
15. Burton K. Biochem J., 62, 315—323, 1956.
16. Itzaki I., Gill R. Analytical Biochem., 9, 4, 401—410, 1964.