

УДК 581.192.

ДЕЙСТВИЕ ГИББЕРЕЛЛИНА НА РОСТ ПРОРОСТКОВ И СИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ПРОРАСТАЮЩИХ ЗАРОДЫШАХ ПШЕНИЦЫ

С. Г. ТИРАЦУЯН, Г. А. ПАНОСЯН

Показано, что обработка гиббереллином изолированных зародышей пшеницы приводит к увеличению длины их ростков. Ингибиторы транскрипции и трансляции подавляют вызванное гиббереллином увеличение длины проростков, что свидетельствует о действии его на синтез РНК и белка. Гиббереллин стимулирует включение ^3H -уридина и ^3H -тимидина во фракцию грубого хроматина. Степень стимулирующего действия гиббереллина зависит от его концентрации.

Ключевые слова: зародыши пшеницы, гиббереллин, ^3H -уридин, ^3H -тимидин, нуклеиновые кислоты.

Гиббереллин приводит к нарушению покоя и ускорению прорастания обработанных им семян, что сопровождается дерепрессией генома [9], выражающейся в действии на синтез хроматиновой РНК [4]. Характерной особенностью внешнего проявления действия гиббереллина является стимуляция роста стеблей в длину. Однако до настоящего времени нет достоверных данных о механизме его действия на рост растений. Предполагается, что оно осуществляется в результате модификации синтезируемой РНК [12]. Так или иначе использование целого семени для изучения характера действия гиббереллина не дает однозначного ответа: связано ли оно с усилением гидролиза запасных веществ в эндосперме, происходящим в результате стимуляции синтеза мРНК для α -амилазы, или это прямое влияние на зародыш.

В связи с этим в качестве объекта исследования были выбраны изолированные зародыши пшеницы.

Материал и методика. Зародыши пшеницы семян сорта Безостая 1 репродукции 1981 г. изолировали по методу Джонстона и Штерна [11]. Семена размельчали в течение 20 сек при 13000 об/мин и просеивали через сита размерами пор 10 и 25 меш. Массу, оставшуюся на сите размерами пор 10 меш, гомогенизировали повторно. Для получения зародышей брали массу, оставшуюся на сите с размерами пор 25 меш. После отсеивания муки мелкого помола, содержащей в основном крахмал, и отсеивания шелухи отбирали зародыши, жизнеспособность которых проверяли окрашиванием нитросиним тетразолиевым [5], а также проращиванием их на питательной среде, содержащей 0,9% агара, 1% глюкозы и 0,01% стрептомицина.

В качестве контрольной среды для проращивания служил раствор, содержащий 5 мМ Трис-HCl (pH 7.4); 20 мМ KCl и 20 мкг/мл сахарозы. Для обработки в опытных вариантах использовали следующие растворы: гиббереллина в концентрациях 10^{-9} — 10^{-2} М, актиномицина Д (АД) — 10^{-6} — 10^{-4} М, циклогексимида — 10 мкг/л. Хроматин выделяли по методу Симона и Беккера в модификации Сугиты и др. [16, 17].

Зародыши проращивали на питательной среде в предварительно стерилизованных чашках Петри в темноте при 26° в течение 96 ч. Через каждые 24 ч производился пересев зародышей на новую стерилизованную питательную среду.

Радиоактивность препаратов измерялась на счетчике Packard Tri-Carb № 3880.

При изучении включения ^3H -уридина и ^3H -тимидина в хроматин зародыши инкубировали с мечеными уридином и тимидином в течение всего времени их прорастивания [6]. Грубую фракцию хроматина (после осаждения и промывки осадка хроматина 0,05 н сульфатом аммония) осаждали трихлоруксусной кислотой на фильтрах «Amicon» и определяли радиоактивность производных ^3H -уридина и ^3H -тимидина с хроматином [6].

Полученные данные статистически обработаны.

Результаты и обсуждение. Зародыши пшеницы отбирали вручную, поскольку показано сильное ингибирование прорастания зародышей, флотируемых из смесей органических растворителей [14]. В пользу большей жизнеспособности зародышей, отобранных вручную, свидетельствуют данные о синтезе белка и профилях седиментации рибосом и полисом, так как интенсивность прорастания определяется интенсивностью образования полисом. Результаты наших экспериментов показали жизнеспособность изолированных зародышей, прорастающих на контрольной среде, и чувствительность к действию гиббереллина.

На рис. 1 приведена длина ростков изолированных зародышей пшеницы, обработанных разными концентрациями гиббереллина. Уста-

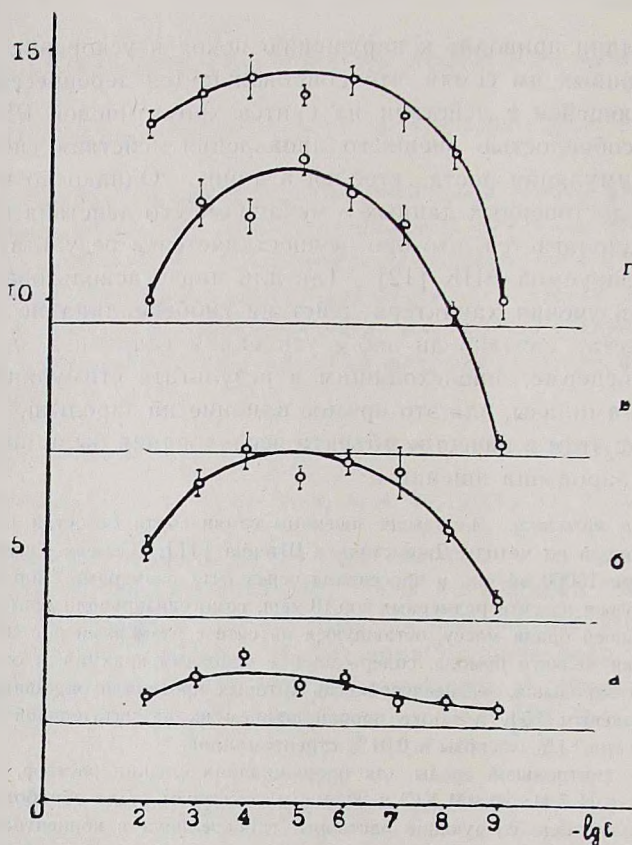


Рис. 1. Изменение абсолютной длины ростков изолированных зародышей пшеницы (в мм) в зависимости от концентрации гиббереллина при прорастании в течение 24, 48, 72 и 96 ч. (а)—при 24, (б)—48, (в)—72 и (г)—96-часовой обработке. Прямой линией обозначены длины ростков контрольных зародышей при прорастании соответствующее время.

новлено, что последний оказывает стимулирующее действие на рост в довольно широких пределах концентраций (10^{-7} — 10^{-3} М) в течение всего периода прорастания. Эксперименты показывают, что ускорение прорастания семян и удлинение их стеблей связано с действием гиббереллина непосредственно на зародыш. Полученные результаты согласуются с данными Чена и Осборна [17].

АД подавляет рост проростков зародышей незначительно, а циклогексимид—на 19, 45, 52 и 62% при прорастании зародышей в течение 24, 48, 72 и 96 ч соответственно (рис. 2) Этим подтверждается существование в сухих зародышах долгоживущей информационной РНК [18]. АД, ингибируя синтез новой РНК, не вызывает подавления синтеза белка на старых матрицах и роста семян, когда в эмбрионах существует долгоживущая иРНК и синтез белка происходит на полисомах, образованных из старых рибосом.

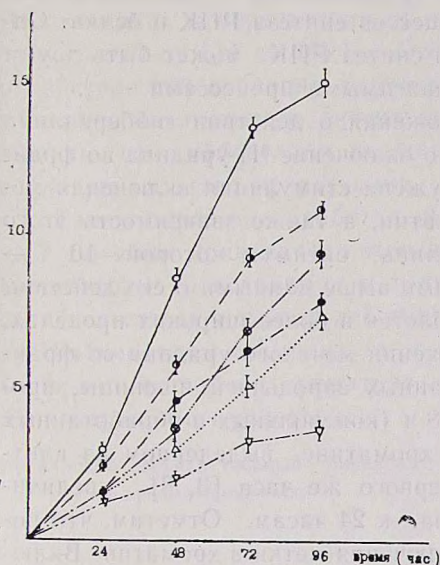


Рис. 2.

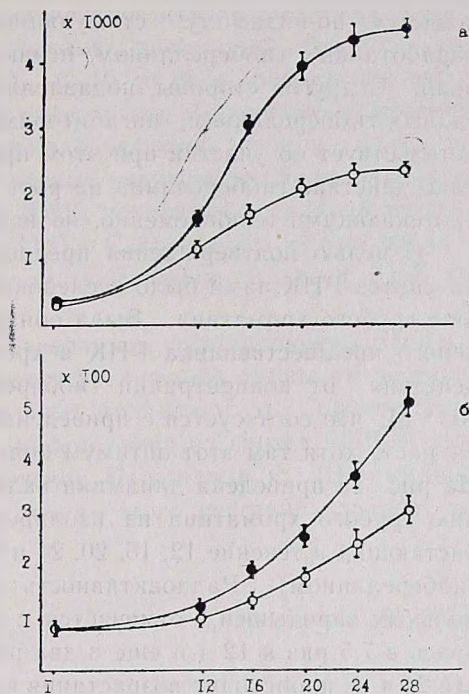


Рис. 3.

Рис. 2. Изменение длин ростков изолированных зародышей пшеницы при проращивании на контрольной среде (— · — · —) и обработанных: (—) — гиббереллином в концентрации 10^{-6} М; (· · · ·) — актиномицином Д в концентрации 10^{-5} М; (— — —) циклогексимидом; (— — — —) одновременно гиббереллином и актиномицином Д в вышеуказанных конечных концентрациях; (— · — · —) — гиббереллином и циклогексимидом.

Рис. 3а. Динамика включения ³Н-уридина во фракцию РНК «грубого» хроматина из прорастающих зародышей пшеницы. (○—○) — контрольные зародыши; (●—●) — обработанные 10^{-4} М гиббереллином. По оси абсцисс—время прорастания в часах, ординат—радиоактивность включенной метки в импульсах в минуту.

Рис. 3б. Динамика включения ³Н-тимидина во фракцию ДНК «грубого» хроматина. (○—○) — контрольные зародыши, (●—●) — обработанные 10^{-4} М гиббереллином.

Гиббереллин оказывает стимулирующее действие на рост проростков начиная с 24 часа. Этот эффект достигает максимума к 48 ч, а затем разница в росте между контрольными и обработанными зародышами практически сохраняется при всех концентрациях гиббереллина. Наши данные согласуются с результатами Гамбурга [3], изучавшего действие гиббереллина на проростки семян. АД тормозит рост зародышей, обработанных гиббереллином, на 40, 84, 68 и 76% при прорастании их в течение 24, 48, 72 и 96 ч соответственно. Циклогексимид ингибирует удлинение ростков, стимулированное гиббереллином, на 100, 108, 110 и 133% соответственно. Более сильное ингибирование роста циклогексимидом также подтверждает решающую роль предсуществующих рибосом в инициации прорастания. Неполное торможение роста проростков зародышей актиномицином Д и циклогексимидом объясняется, по-видимому, стимуляцией растяжения клеток зародышей, обработанных гиббереллином, играющим при прорастании решающую роль. С другой стороны, подавление прорастания зародышей, обработанных гиббереллином, ингибиторами транскрипций и трансляций свидетельствует об участии при этом процессов синтеза РНК и белка. Однако действие гиббереллина на рост и синтез РНК может быть двумя протекающими одновременно, но независимыми процессами.

С целью подтверждения предположения о действии гиббереллина на синтез РНК нами было исследовано включение ^3H -уридина во фракцию грубого хроматина. Была обнаружена стимуляция включения меченого предшественника РНК в хроматин, а также зависимость этого действия от концентрации гиббереллина, оптимум которой 10^{-6} — 10^{-4} М, что согласуется с приведенными выше данными о его действии на рост, хотя там этот оптимум колеблется в более широких пределах. На рис. 3а приведена динамика включения меченого уридина во фракцию грубого хроматина из изолированных зародышей пшеницы, прорастающих в течение 12, 16, 20, 24 и 28 ч (контрольных и обработанных гиббереллином). Радиоактивность в хроматине, выделенном из контрольных зародышей, отмечается с первого же часа [3, 8], увеличиваясь в 7,5 раз к 12 ч и еще в два раза — к 24 часам. Отметим, что после 24 ч не происходит возрастания включения метки в хроматин. Включение ^3H -уридина в хроматин обработанных зародышей в 1,28 раз превосходит аналогичный показатель у 12-часовых контрольных зародышей, а к 24 часам — в 1,88 раз. Скорость включения метки в хроматин обработанных зародышей не возрастает после 24 ч, в то время как наибольшее действие на рост гиббереллин оказывал при более длительных экспозициях, что свидетельствует в пользу предположения, согласно которому синтез РНК под действием гиббереллина первичен, а усиление роста — вторично и даже может происходить независимо от этого синтеза в первые дни прорастания. Стало быть, хроматин из зародышей, обработанных гиббереллином, имеет в два раза более доступную ДНК в качестве матрицы, чем таковой из контрольных зародышей, причем гиббереллин индуцирует это возрастание доступности матрицы ДНК полностью в течение 24 ч [10].

Можно отметить лишь единичные работы, посвященные влиянию

гиббереллина на синтез ДНК в целом семени, однако нет никаких данных о его действии на этот процесс в зародышах пшеницы. В работе Василевска и др. [2] получены данные о возможном воздействии этого фитогормона на уровне репликации ДНК. Отмечается процесс деконденсации хроматина, сопровождающийся увеличением активного синтеза ДНК и РНК [1].

При изучении динамики включения ^3H -тимидина в хроматин контрольных зародышей пшеницы (рис. 3б) буквально с первого же часа выявилась радиоактивность, правда, очень незначительная. Включение метки в ДНК хроматина даже до ее синтеза можно объяснить полуконсервативной репликацией ДНК, сохранившейся в покоящихся зародышах [15]. Кратковременная обработка их гиббереллином не приводит к каким-либо достоверным изменениям во включении ^3H -тимидина во фракцию хроматина. Интенсивное включение метки в хроматиновую ДНК происходило при довольно длительной обработке эмбрионов гиббереллином (после 12 ч). С 16 до 28 ч прорастания зародышей в присутствии гиббереллина имеет место увеличение включения ^3H -тимидина в нерастворимый в трихлоруксусной кислоте материал хроматина—от 144 до 178%. Полученные результаты свидетельствуют о действии гиббереллина на синтез ДНК, поскольку последний не стимулирует митотическую активность [13]. Скорее всего можно предположить, что гиббереллин вызывает амплификацию участков ДНК на исследуемом этапе прорастания.

Таким образом, обработка гиббереллином изолированных зародышей пшеницы приводит к интенсивному увеличению длины их ростков. Ингибиторы транскрипции и трансляции подавляют этот процесс, что свидетельствует в пользу действия гиббереллина на синтез РНК и белка. Гиббереллин стимулирует включение ^3H -уридина и ^3H -тимидина во фракцию грубого хроматина. Степень этого действия зависит от концентрации стимулятора.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 6.XII 1982 г.

ԳԻԲԵՐԵԼԻՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՑՈՐԵՆԻ ԱՃՈՂ ՍԱՀՄԵՐԻ ԾԻԼԵՐԻ ԱՃԻ ԵՎ ՆՈՒՎԼԵՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԻ ՎՐԱ

Ս. Կ. ՏԻՐԱՑՈՒՅԱՆ, Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

Հոդվածում ցույց է տրված, որ ցորենի մեկուսացված սաղմերի մշակումը գիրբերելինով հանգեցնում է դրանց ծիլերի երկարության աճին: Տրանսկրիպցիայի և տրանսլացիայի ինհիբիտորները ճնշում են գիրբերելինի առաջացրած ծիլերի երկարության աճը, որը խոսում է ՌՆԹ-ի և սպիտակուցի սինթեզի վրա գիրբերելինի ազդեցության օգտին: Գիրբերելինը ստիմուլացնում է ^3H -ուրիդինի և ^3H թիմիդինի ներմուծումը բրոմատինի մեջ: Գիրբերելինի ստիմուլացնող ազդեցության աստիճանը կախված է նրա կոնցենտրացիայից:

THE EFFECT OF GIBBERELLIN ON THE GROWTH OF SEEDS AND NUCLEIC ACID SYNTHESIS IN THE GROWING WHEAT EMBRYOS

S. G. TIRATSUYAN, G. A. PANOSYAN

The treatment of isolated wheat embryos seeds with gibberellin leads to the increase of their lengths. Inhibitors of transcription and translation suppress this increase, which testifies to gibberellin action on the RNA and protein synthesis. Gibberellic acid stimulates the application of ^3H -uridin and ^3H -thimidin into chromatin. The degree of stimulating effect of gibberellic acid depends on its concentration.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ахметов Р. Р., Гилязетдинов Ш. Я., Вахитов В. А. Тез. докл. I Всесоюзн. конф. Регуляторы роста и развития растений, М., 17, 1981.
2. Василевска Л. Д., Вельгат Я. М., Янковски Е., Клячевски К. Тез. докл. I Всесоюзн. симп. по физиолог. и биохим. раст., М., 1981.
3. Гамбург К. З. Фитогормоны и клетки, М., 1970.
4. Лихолат Т. В., Пospelов В. А. ДАН СССР, 213, 1, 1973.
5. Фирсов М. К. В кн.: Жизнеспособность семян, М., 1978.
6. Anderson K. M., Chance H., Kadohama N. Exp. Cell. Research, 94, 176, 190, 1975.
7. Chen D., Osborne D. J. Nature, 226, 1, 1157, 1970.
8. Chi P., Cheng R. I. Suradolnik. Nature, 271, 357, 1978.
9. Galston A. W., Davides P. J. Science, 163, 1288, 1969.
10. Jarvis B. C., Frankland B., Cherry J. J. II. Plant Physiol., 43, 1734, 1968.
11. Johnston F. B., Stern H. Nature (Lond), 179, 145, 160, 1957.
12. Johrl M. M., Varner I. E. Proc. Natl. Acad., USA, 59, 269, 1968.
13. Haber A. H., Lutppold H. J. Plant Physiol., 486, 1959.
14. Kern H. Biologia Plantarum (Praha), 17, 4, 309, 309, 1975.
15. Machalah J. P., Vakil U. K. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, 17, 85, 1980.
16. Simon J. H., Becker W. M. Biochem. et Biophys. Acta, 454, 154, 1976.
17. Sugita M., Yoshida K., Sasaki K. Plant Physiol., 64, 2, 780, 1979.
18. Waters L., Dure L. Mol. Biol., 19, 1, 27, 1966.

«Биол. ж. Армений», т. XXXVI, № 4, 1983

УДК 631.522.21

О РЕАКЦИИ LYCOPERSICON HIRSUTUM F. GLABRATUM НА САМООПЫЛЕНИЕ

А. М. АГАДЖАНЫН, Е. М. НАВАСАРДЯН

У дикого томата *L. hirsutum* f. *glabratum* обнаружена сильная отрицательная реакция на самоопыление, выражающаяся в снижении завязываемости плодов и количества семян на плод и цветок. Полученные результаты, как и ранее опубликованные данные об инбредной депрессии у этого томата, свидетельствуют о том, что в его системе размножения, несмотря на самофертильность, доминирующее положение зани-