

УДК 581.1;634.8;633.11

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ АБК И ИУК В СЕМЕНАХ ТРИТИКАЛЕ, ПШЕНИЦЫ И РЖИ НА РАННИХ СТАДИЯХ ПРОРАСТАНИЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ КОРОТКОГО ТЕПЛОВОГО ШОКА

*Л.В. Чумикина**, кандидат биологических наук,
Тел. +7 (967) 056-29-96, e-mail: chumikina@mail.ru

*Л.И. Арабова**, кандидат биологических наук

*В.В. Колпакова***, доктор технических наук, профессор

*А.Ф. Топунов**, доктор биологических наук, профессор

**Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный
исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии наук, г. Москва*

***Всероссийский научно-исследовательский институт
крахмалопродуктов, п. Красково, Московская обл.*

Ключевые слова: *тритикале, пшеница, рожь, прорастание, тепловой шок, абсцизовая кислота, индолил-3-уксусная кислота.*

Изучена динамика содержания индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) и абсцизовой кислоты (АБК) на разных этапах раннего прорастания семян тритикале (гибрид ржи и пшеницы), пшеницы и ржи при нормальной температуре (22°C) и коротком тепловом шоке (40°C). Полученные данные свидетельствует о нелинейной динамике фитогормонов на воздействие повышенной температуры. Установлена зависимость ростовых процессов от соотношения ИУК/АБК при коротком тепловом шоке.

Введение. Семена растений представляют особый интерес для изучения их способности отвечать на температурный стресс в период набухания и раннего прорастания. Температурный режим — один из важнейших экологических факторов, который оказывает существенное воздействие на метаболизм, рост, развитие и продуктивность растений. Поэтому выяснение механизмов термоустойчивости может быть отнесено к числу основных направлений исследований в современной физиологии растений [1]. Очевидно, что набухающие семена оказываются в сложной ситуации при действии повышенных температур: с одной стороны, они должны защищать себя от неблагоприятного действия теплового стресса, а, с другой стороны, решить проблему собственного прорастания, то есть перейти к реализации новой

генетической программы и обеспечить синтез необходимых для этого клеточных белков и их мРНК. Механизм неблагоприятного действия повышенных температур на процесс прорастания пока остается неясным и требует всестороннего исследования. Основополагающую роль в этой системе играют фитогормоны. Интенсивные исследования, проводимые учеными в настоящее время, выделяют особую роль фитогормона ингибиторного характера – абсцизовой кислоты (АБК). АБК является растительным гормоном, который регулирует покой и прорастание семян. Не исключено, что ингибирующий эффект АБК на прорастание является временным и обратимым и сохраняется, пока ее содержание не понизится до уровня, не оказывающего ингибирующего действия. Другим важным растительным гормоном является индолил-3-уксусная кислота (ИУК), которая относится к группе фитогормонов стимулирующего типа – ауксином, веществам индольной природы. ИУК присутствует практически во всех тканях растительного организма. ИУК играет ключевую роль в регуляции таких функций, как рост и развитие растений, образование васкулярных тканей, пыльцы и развитие других частей растений. Роль ауксинов в клеточном делении и клеточной элонгации описана в работе Рида [2]. Ауксин сам по себе не является необходимым гормоном для прорастания семян. Несмотря на это, ИУК необходима для роста молодых проростков. Большая часть ауксинов в растениях находится в связанной неактивной форме. Считают, что конъюгаты ИУК играют роль запасной или транспортной формы ауксина. Они помогают сохранять гомеостаз ИУК как путем инактивации ИУК, так и путем сохранения ее резервной формы, из которой она может высвобождаться в результате гидролиза. Только свободная ИУК является биологически активным соединением. При высокотемпературном стрессе происходит уменьшение содержания ИУК и увеличение содержания АБК [3]. Известно, что существует метаболическая связь между ИУК и фитогормонами стресса – этиленом и АБК. Ауксин, активируя синтез этилена, может быть триггером аккумуляции АБК. Отметим, что ауксины также участвуют в адаптивных процессах, происходящих в растении под влиянием теплового шока. Представлялось важным установить взаимосвязь между изменением уровня АБК и ИУК и характером ростовых процессов, происходящих на различных этапах набухания и раннего прорастания семян пшеницы, тритикале и ржи в период подготовки зародыша к возобновлению ростовой активности. Исследования проводили при нормальной и повышенной температуре (40°C). Особенно важно было исследовать

уровень фитогормонов в зародыше, поскольку именно в нем происходит остановка и возобновление роста.

Материалы и методы исследований. Объектом исследований служили семена тритикале (*Triticosecale* Wittm. & A. Camus.) (гибрид ржи и пшеницы) сорта “Немчиновская 56”, ржи сорта “Валдай” и озимой пшеницы сорта “Ангелина”. Семена поверхностно стерилизовали слабым раствором перманганата калия в течение двух минут при интенсивном перемешивании с последующим ополаскиванием бидистиллятом и обсушиванием фильтровальной бумагой. Семена проращивали в чашках Петри в термостате на фильтровальной бумаге с бидистиллированной водой при 22°C и при тепловом шоке (ТШ) 40°C (4 часа). Семена подвергали ТШ в периоды: 1) первые 4 часа; 2) после 8 часов набухания при 22°C (8 ч+4 ч 40°C); 3) после 2 часов набухания при 22°C (20 ч+4 ч 40°C); 4) после 44 ч набухания при 22°C (44 ч+4 ч 40°C). Для определения содержания фитогормонов сразу после шока вручную отделяли зародыши и хранили их при -70°C. Контролем служили семена, набухавшие 4, 12, 24 и 48 ч при 22°C. Для изучения ростовой активности семена после шока быстро переносили на 22°C, и наблюдали за ростом проростков до 8 суток. Содержание фитогормонов (АБК и ИУК) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [4]. За контрольный уровень гормонов принимали содержание фитогормонов в зародышах зерна, не подвергнувшись тепловому шоку [5]. Эксперименты проводили в трех биологических и трех аналитических повторностях. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Microsoft Office Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. Нами было проведено сравнительное исследование динамики накопления ИУК в зародышах пшеницы, тритикале и ржи в процессе набухания и раннего прорастания. На рис. 1 представлены кривые, отражающие содержание ИУК в зародышах исследуемых культур в процессе набухания при 22°C в периоды: гидратация - 4 ч; начало лаг-фазы - 12 ч; конец лаг-фазы - 24 ч и начало роста проростка - 48 ч.

Исследования динамики содержания ИУК в зародышах при коротком тепловом шоке (40°C) в разные периоды набухания семян показали, что резкое повышение температуры с 22° до 40°C индуцировало быстрые изменения в гормональной системе. Из данных, представленных на рис. 1б, следует, что при коротком тепловом шоке на всех стадиях набухания семян содержание общей ИУК значительно выше, чем в контроле (рис. 1а). В целом, полученные данные свидетельствуют о не-

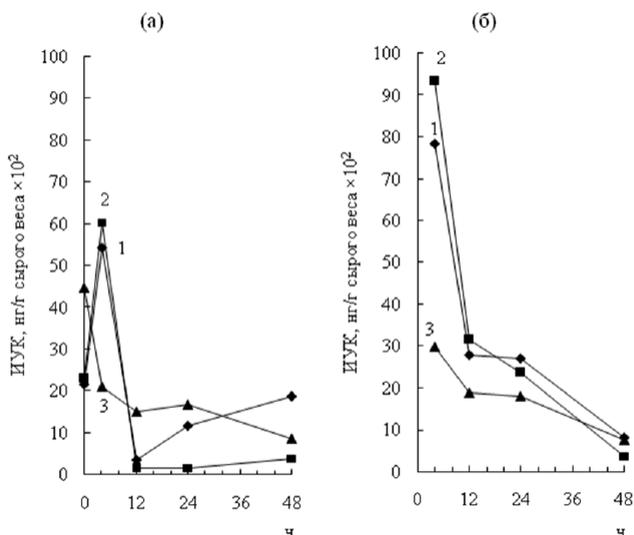


Рисунок 1 - Изменение содержания общей индолил-3-уксусной кислоты в зародышах пшеницы (1), тритикале (2) и ржи (3), набухавших при 22°C (а) и 4 ч 40°C (б).

линейной динамике ответа ауксиновой системы на воздействие повышенной температуры. Исследования также показали, что количественные изменения свободной и связанной ИУК у подвергнутых тепловому шоку семян были противоположными на каждой фазе исследуемого периода. Увеличение уровня свободной ИУК сопровождалось снижением уровня связанной, что могло быть результатом высвобождения ИУК из конъюгированной формы или усилением биосинтеза этого гормона на протяжении всей лаг-фазы. Таким образом, ответная реакция ИУК на ТШ начала развиваться очень быстро и проявлялась в изменении содержания различных форм ИУК.

Мы также исследовали динамику содержания АБК, как и ИУК, в различные периоды набухания и прорастания (рис. 2).

Мы установили, что изменения уровня АБК происходят не за счет реакции в системе свободная-связанная форма фитогормона. Вероятно, накопление активной формы АБК в процессе прорастания, в основном, осуществлялось за счет синтеза фитогормона *de novo*. Низкое содержание АБК к моменту роста зародышевого корешка (48 ч) необхо-

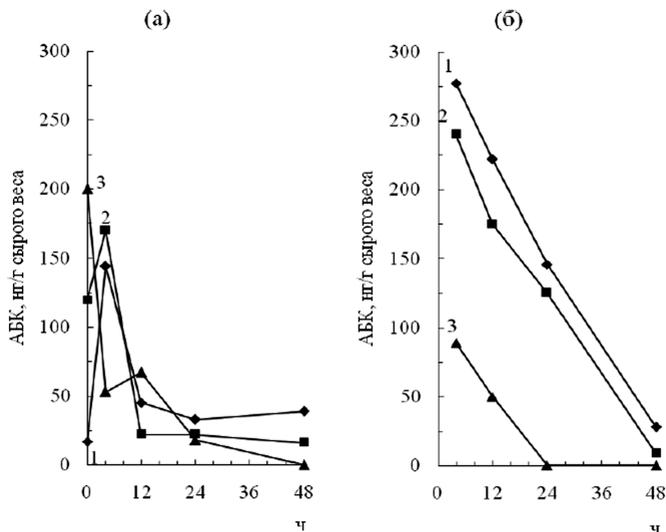


Рисунок 2 - Изменение содержания общей абсцизовой кислоты в зародышах пшеницы (1), тритикале (2) и ржи (3), набухавших при 22°C (а) и 4 ч 40°C (б).

димо для нормального роста. Экспонирование зерна в разные периоды набухания и прорастания при 40°C индуцировало быстрые изменения уровня как свободной, так и связанной форм АБК (рис. 3).

Так как на протяжении всего исследуемого периода одновременно изменялось содержание АБК и ИУК, то важно было оценить изменение баланса этих фитогормонов. Соотношение эндогенных фитогормонов находится в динамическом равновесии, характерной особенностью которого является чрезвычайная подвижность и чувствительность к внешним воздействиям. Результаты наших опытов свидетельствуют об изменениях соотношения фитогормонов ИУК и АБК в зародышах тритикале и пшеницы при коротком ТШ на разных стадиях набухания. Эти изменения носят колебательный характер. Предположительно подобные колебания могут быть связаны с саморегуляцией, то есть включением процессов накопления фитогормона или перехода его из неактивного состояния в активное. Возможен процесс разрушения гормона и перехода его из активного состояния в неактивное [6]. Таким образом, баланс фитогормонов в условиях теплового шока является одним из

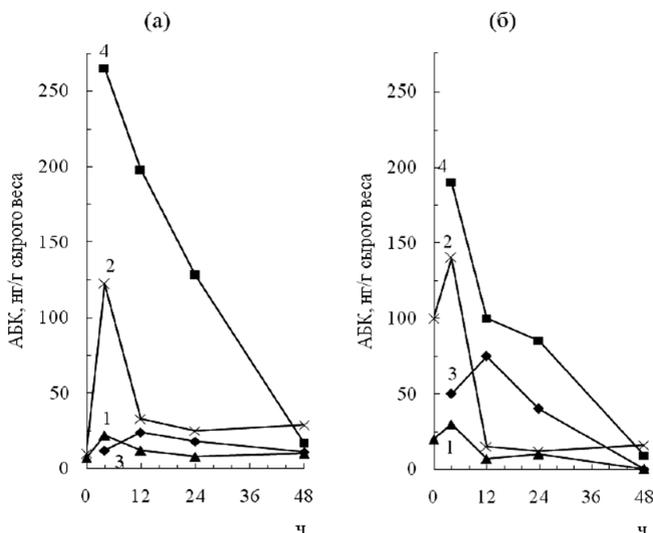


Рисунок 3 - Изменение содержания свободной и связанной форм абсцизовой кислоты в зародышах пшеницы (а) и тритикале (б), набухавших при 22°C и 4 ч 40°C.

1 – свободная АБК 22°C; 2 – связанная АБК 22°C; 3 – свободная АБК 40°C; 4 – связанная АБК 40°C.

важных факторов, влияющих на адаптацию растительного организма к неблагоприятным условиям.

Так как семена испытывают при прорастании различные экологические стрессы, в том числе и тепловой стресс, то они должны быть защищены. Проявлением такой защиты у растений является ингибирование роста. На гормональном уровне это проявляется в накоплении АБК, которое смещает гормональное равновесие в сторону гормонов ингибиторов. Мы проследили зависимость ростовых процессов от соотношения ИУК/АБК при нормальной температуре и коротком тепловом стрессе. Результаты наших опытов показали, процессы, связанные с проклевыванием (24 ч), и процессы, обеспечивающие дальнейший рост проростка (48 ч), отличаются по температурной чувствительности.

Заключение. В настоящее время не вызывает сомнений участие фитогормонов в формировании реакций растений на действие неблагоприятных факторов.

гоприятных факторов различной природы, в том числе высокой температуры. Фитогормоны, регулируя процессы роста, морфогенеза, играют важную роль в реализации программы устойчивости. Совокупность полученных нами данных по влиянию теплового шока на различные регуляторные системы на разных этапах раннего прорастания семян тритикале, пшеницы и ржи необходима для биохимической характеристики процесса прорастания семян, для расширения современных представлений о механизмах приспособления растений к условиям окружающей среды. Биохимическая характеристика процесса прорастания, в свою очередь, является важным этапом для решения одной из центральных проблем семеноводства и продуктивности земледелия, для понимания причин старения семян и ухудшения их качества при хранении, для выработки биохимических характеристик в оценке качества семян.

Библиографический список

1. Чумикина, Л.В. Зависимость биохимических и физиологических характеристик зерна пшеницы, ржи и тритикале от условий прорастания / Л.В. Чумикина, Л.И. Арабова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2003. - №2. – С. 40-43.
2. Reed, J.W. Roles and activities of Aux/IAA proteins in Arabidopsis / J.W. Reed // Trends Plant Sci. – 2001. - V. 6. – P. 420-425.
3. Wu, C. Heat-induced phytohormones changes are associated with disrupted early reproductive development and reduced yield in rice / C. Wu, K. Cui, W. Wang, Q. Li, S. Fahad, Q. Hu, J. Huang, L. Nie, S. Peng // Scientific Reports. – 2016. - V. 6. – P. 34978.
4. Кислин, Е.Н. Определение природных фитогормонов с помощью хроматографических методов / Е.Н. Кислин. – СПб.: Изд. С.-Петерб. ун-та, 2004. – 32 с.
5. Chumikina, L.V. Change in the content of IAA and ABA at early stages of germination of triticale, wheat and rye seeds / L.V. Chumikina, L.I. Arabova, V.V. Kolpakova, A.F. Topunov // Materials of the VI International research and practice conference “Science and Education”, Munich, Germany, June 27th - 28 th . – 2014. – P. 13-19.
6. Котова, Л.М. Изменение баланса фиогормонов в стеблях и корнях гороха после декапитализации проростков / Л.М. Котова, А.А. Котов, А.Н. Кара // Физиология растений. – 2004.- №1. – С. 121-125.

**DYNAMICS OF ABA AND IAA CONTENT IN TRITICALE,
WHEAT AND RYE SEEDS AT EARLY STAGES OF
GERMINATION AT THE EFFECT OF SHORT HEAT
SHOCK**

Chumikina L.V., Arabova L.I., Kolpakova V.V., Topunov A.F.

Keywords: *triticale, wheat, rye, germination, heat shock, abscisic acid, indole-3-acetic acid.*

The dynamics of the content of indole-3-acetic acid (IAA) and abscisic acid (ABA) at different stages of early germination of triticale (rye and wheat hybrid), wheat and rye seeds at normal temperature (22°C) and short heat shock (40°C) was studied. The data indicate a nonlinear dynamics of phytohormones at the effect of high temperature. Dependence of growth processes on the ratio of IAA/ABA at short heat shock was established.