

На правах рукописи

ЕФРЕМОВА ЕЛЕНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА НА МОРФОГЕНЕЗ И ГОРМОНАЛЬНЫЙ БАЛАНС
КУКУРУЗЫ, ИНФИЦИРОВАННОЙ МОЗАИЧНЫМ ВИРУСОМ КАРЛИКОВОСТИ**

03.00.05 – ботаника

03.00.12 – физиология и биохимия растений

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Томск 2003

Работа выполнена на кафедре физиологии растений и биотехнологии Томского государственного университета

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор Карначук Раиса Александровна

Официальные оппоненты:

профессор Олонова Марина Владимировна

кандидат биологических наук, Зотикова Алибина Петровна

Ведущая организация:

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
г. Новосибирск

Защита состоится “___” _____ 2003 г. на заседании диссертационного совета Д 212.267.09 при Томском государственном университете по адресу: 634050, Томск, пр. Ленина, 36.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Томского государственного университета

Автореферат разослан “___” _____ 200 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

С.П. Кулижский

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Болезни растений, вызванные вирусами, имеют широкое распространение и ежегодно наносят большой ущерб сельскохозяйственным культурам, снижая урожай и его качество. Исследования механизмов устойчивости растений к вирусам имеют теоретическую и практическую значимость, что необходимо для разработки способов защиты, безопасных для окружающей среды.

Одним из наиболее перспективных и экологически чистых методов защиты растений является индуцирование их устойчивости (Озерецковская, 1994). Он основан на усилении естественного потенциала растительной ткани так, как это происходит в природе. Известно, что индуцирующими свойствами обладают многие вещества как биотической, так и абиотической природы. Одним из наиболее важных абиотических факторов является свет. Значение света разного спектрального состава на рост и развитие растений хорошо изучено и показано многими исследователями (Клешнин, 1953; Воскресенская, 1979; Карначук, 1989 и др.) Однако вопрос о влиянии селективного света на вирусный патогенез до сих пор остается открытым. Существует предположение, что селективный свет способен изменять многие процессы, происходящие в больном растении (Jenkins, 1995; Fujibe, 2000). Нами впервые исследовано длительное воздействие света разного спектрального состава на инфекционный процесс различных по устойчивости растений кукурузы. Изменения, происходящие в больном растении, могут быть опосредованы эндогенными гормонами, уровень которых находится под контролем света (Кефели, 1975; Карначук, Головацкая, 1998 и др.).

Цели и задачи исследования. Целью данной работы являлось изучение влияния селективного света на рост, морфогенез и формирование гормонального баланса здоровых и инфицированных растений кукурузы, по-разному реагирующих на заражение вирусом мозаичной карликовости (MDMV). Данное исследование приближает нас к пониманию светоиндуцируемых механизмов, повышающих вирусостойчивость растений. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- 1) проанализировать рост, количество фотосинтетических пигментов, а также гормональный баланс здоровых и инфицированных растений кукурузы, выращенных на белом свете;
- 2) изучить особенности роста, пигментного фонда и гормонального баланса здоровых и инфицированных растений кукурузы, выращенных в условиях длительного освещения синим и красным светом;
- 3) оценить влияние селективного света на титр MDMV в контрастных по устойчивости к вирусу генотипах кукурузы

Научная новизна. Работа представляет комплексное исследование регуляции начальных этапов инфекционного процесса на примере различных по устойчивости к MDMV растений кукурузы *Zea mays L.*, выращенных в условиях длительного освещения синим и красным светом. Эксперименты с использованием спектрального света вносят вклад в развитие представлений о механизмах фоторегуляции вирусного патогенеза, с помощью которых возможно оптимизировать развитие инфицированных растений.

Впервые показана зависимость развития вирусной инфекции от качества света. Установлено, что синий свет положительно влияет на морфогенез инфицированных растений восприимчивого генотипа, снижая негативный эффект вирусного поражения, тогда как длительное освещение красными лучами спектра негативно действует на рост и развитие растений.

Впервые получены данные о гормональном балансе инфицированных растений кукурузы, выращенных при длительном освещении селективным светом. Показана зависимость развития системной приобретенной устойчивости растений от уровня и активности цитокининов. По нашим данным, синий свет может выступать в качестве индуктора противовирусной устойчивости, путем стимуляции образования и активности индивидуальных цитокининовых групп.

Впервые проведено сравнительное изучение титра MDMV в листьях чувствительных, толерантных и устойчивых генотипов кукурузы, выращенных в условиях длительного освещения синим и красным светом. Показано, что синий свет способствует снижению концентрации вирусных частиц в листьях растений восприимчивого генотипа. Красный свет влияет на снижение титра вируса в листьях устойчивых и толерантных форм растений и зависит от генов *Mdm1* и *Wsm1*.

Практическая значимость.

Данную работу можно рассматривать как вклад в разработку биологических основ защиты растений от вирусной инфекции, что необходимо для селекционной работы по созданию высокопродуктивных и устойчивых сельскохозяйственных сортов.

На основе полученных данных можно рекомендовать использование света синих люминесцентных ламп на начальных этапах онтогенеза в качестве индуктора повышения защитных механизмов растений к вирусной инфекции.

На защиту выносятся следующие основные положения:

1. При равных условиях заражения чувствительные, толерантные и устойчивые растения кукурузы по-разному реагируют на длительное воздействие синего и красного света.

2. Синий свет может выступать в качестве индуктора противовирусной устойчивости, путем стимуляции образования и увеличения активности индивидуальных групп цитокининов.

3 Синий свет способствует снижению концентрации вирусных частиц в листьях растений восприимчивого генотипа. Красный свет влияет на снижение титра вируса в листьях устойчивых и толерантных растений и зависит от генов *Mdm1* и *Wsm1*.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на XXXIX и XL Международной научно-студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск, 2001-2002); Молодежной конференции «Исследования молодых ботаников Сибири» (Новосибирск, 2001); Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «IV Сибирская школа молодого ученого» (Томск, 2001); IV Международной конференции "Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях» (Москва, 2001); 6-й Пушкинской школы-конференции молодых ученых «Биология – наука 21 века» (Пушино, 2002); II Международной конференции по анатомии и морфологии растений (Санкт-Петербург, 2002); Конференции памяти профессора С.И. Лебедева « Приемы повышения урожайности растений: от продуктивности фотосинтеза в современной биотехнологии» (Киев, 2002); Всероссийской научно-практической конференции « Физиология растений и экология на рубеже веков» (Ярославль, 2003); V Съезде общества физиологов растений (Пенза, 2003).

Публикации. По теме работы было опубликовано 2 статьи и 11 тезисов.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 124 страницах, содержит 32 рисунка и 9 таблиц. Работа состоит из введения, пяти глав (обзора литературы, описания объекта и методов исследования, результатов экспериментов), заключения, выводов и списка использованной литературы (42 работы на русском языке, 143 – на иностранных языках).

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Состоит из двух разделов, в которых представлены сведения о реакции растений на длительное воздействие света синих и красных участков спектра, о современных представлениях фоторецепции зеленых растений и молекулярно - генетической модели восприятия светового сигнала. Описаны физиологические процессы вирусных болезней и механизмы устойчивости к ним. Рассмотрены вопросы о влиянии вирусной инфекции на гормональную систему растений и реакциях иммунного ответа. Изложены новейшие представления о транспорте вирусной инфекции в растении, а также о влиянии индукторов устойчивости на межклеточный транспорт вирусов.

2. ОБЪЕКТ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования. Кукуруза обыкновенная - *Zea mays L.*, (семейство Злаковые - *Gramineae*) - типичный представитель большой экологической группы растений с особым «кооперативным» фотосинтезом. Благодаря экологической пластичности этот вид возделывается в различных климатических областях земного шара и составляет одну из важнейших продовольственных и кормовых культур.

В эксперименте использовали три контрастных по устойчивости к MDMV генотипа кукурузы: Pa405 (устойчивый), *Wsm1* (толерантный), Oh28 (восприимчивый). Инбредная линия Pa405 обладает наиболее обширной и длительной устойчивостью к трем вирусам семейства *Potyviridae*. Это искусственно созданный генотип и содержит несколько генов устойчивости, включая единственный доминантный ген к MDMV *Mdm1* (Louie и др. 1991, McMullen и Louie 1991).

Инбредная линия Oh28 не содержит ни одного гена устойчивости и восприимчива ко многим вирусам семейства *Potyviridae*, инфицирующим кукурузу.

Изогенная линия *Wsm1* была получена в результате шести обратных скрещиваний (backcross) Oh28 с гибридом F1 (Oh28 x Pa405). *Wsm1* несет ген устойчивости к WSMV (*Wheat streak mosaic virus*) *Wsm1* из области 6S хромосомы генотипа Pa405. Линия *Wsm1* была отобрана при помощи RFLP маркеров, и обладает высокой устойчивостью к вышесказанным вирусам (McMullen et.al. 1994).

В качестве инфекционного материала использовали мозаичный вирус карликовости кукурузы обычный штамм А (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV-A).

Эксперименты с использованием спектрального света. Зерна кукурузы Oh28, Pa405 и *Wsm1* были инокулированы вирусом MDMV методом VPI (см. ниже). Семена были высажены в почвенную культуру, содержащую состав земля: торф: песок в соотношении 1:2:1, соответственно. Параллельно в отдельные емкости были высажены здоровые семена кукурузы каждого генотипа при тех же условиях.

С первого дня онтогенеза инфицированные (опытные) и здоровые (контрольные) проростки кукурузы были разбиты на равные группы и помещены в различные блоки фитотрона под длительное освещение белым, синим и красным светом, с фотопериодом 16 ч.

Растения выращивали в течение 14 дней при температуре воздуха 25⁰ С, влажности 70%. Источником освещения являлись люминесцентные лампы: белые ЛБ-40 / 400-700 нм /; синие PHILIPS TL-D 36 W/18 /400-500 нм /, с макс. 420-440 нм; красные PHILIPS TL-D 36 W/15 / 600-700 /, с макс. 640-660 нм.

Выделение эндогенных гормонов проводили одновременно из 1 г навески сырого растительного материала. Выделение свободных и связанных индолилуксусной (ИУК) и абсцизовой кислоты (АБК) проводили по методу (Кефели, Турецкая, 1966), свободных цитокининов – по методу (Негрецкий, 1988), свободных и связанных гиббереллинов (ГК) – по методу (Ложникова и др., 1973). Идентификацию гормонов осуществляли с помощью тонкослойной хроматографии, используя стандартные метчики гормонов. Учитывая, что ГК₁, ГК₃, а также ГК₄, ГК₇ не разделяются и элюируются в виде общих зон (Обут и др., 1983), анализировали их смеси, которые соответственно обозначали как ГК_{1,3} и ГК_{4,7}. Количественное определение гормонов исследовали по 6 проб в трех аналитических повторностях с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Содержание цитокининов, ИУК, АБК определяли по методу (Кудоярова и др., 1989), ГК – по методу (Холодарь и др., 1995). Активность эндогенных цитокининов по методу изменения содержания бетацианина в семядолях ширицы (биотест).

Накопление белка оболочки MDMV регистрировали с помощью ИФА на 13 – й день патогенеза

В ходе эксперимента измерялись морфометрические показатели (высота растений, длина междоузлий, площадь листа) и пигментный фонд растений (Шлык, 1971).

Количество и активность гормонов, а также уровень пигментов определяли в третьем закончившем рост листе кукурузы.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью специализированного пакета “Statistica 5.0”. В таблицах приведены данные в виде средних арифметических со стандартной ошибкой, на рисунках – в виде средних арифметических с двухсторонним доверительным интервалом.

VPI - метод искусственного заражения растений. Впервые метод VPI был разработан и введен в практику R.Louie в 1995 году. Метод используется для механической передачи всех известных растительных вирусов устойчивым генотипам. Эта технология позволяет доставить вирус непосредственно в меристематическую ткань зародыша семени. Вирусный элюат вводится внутрь зародышевой ткани, с помощью тонких металлических насадок, прикрепленных к вибрирующему электрическому прибору. Используя данный прибор производятся три прокола в проводящую систему зародыша, доставляя вирус в клетки.

3. ВЛИЯНИЕ MDMV НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПО УСТОЙЧИВОСТИ ГЕНОТИПОВ КУКУРУЗЫ, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ БЕЛОГО ОСВЕЩЕНИЯ

Наиболее характерным симптомом вирусных болезней является нарушение роста растений. Так, сравнительная характеристика здоровых и пораженных MDMV растений кукурузы показала, что рост больных проростков восприимчивого генотипа Oh28 начинал замедляться уже на второй день после инокуляции, главным образом за счет сокращения междоузлий. Высота опытных проростков устойчивого генотипа Pa405 не отличалась от контроля (табл.1).

Таблица 1 - Высота здоровых и инфицированных MDMV проростков кукурузы, выращенных на белом свету (* - инфицированные).

дни генотип	2	4	6	9	11	13
Oh28	7,4 ±0,5	15 ±0,7	21,7 ±1,2	26,8 ±1,4	28,1 ±1,4	32,3 ±1,6
Oh28*	7,0 ±0,5	13,4 ±0,6	19,8 ±1,1	24,6 ±1,2	26,5 ±1,3	28,5 ±1,5
Wsm1	3,0 ±0,3	7,0 ±0,5	13,3 ±1,0	20,5 ±1,0	25,0 ±1,0	26,5 ±0,7
Wsm1*	2,8 ±0,3	6,5 ±0,6	12,5 ±0,7	18,3 ±0,7	23,0 ±0,9	24,5 ±0,5
Pa405	3,3 ±0,3	8,0 ±0,6	15,6 ±1,0	25,9 ±1,2	27,4 ±1,2	30,7 ±1,3
Pa405*	3,3 ±0,3	7,8 ±0,5	15,5 ±0,8	25,7 ±1,0	27,2 ±1,1	30,5 ±1,2

В результате вирусного инфицирования был подавлен рост листовой пластинки растений. В основном это проявлялось у проростков восприимчивого и толерантного генотипов. Так, в инфицированных проростках Oh28 и Wsm1 площадь третьего, закончившего рост листа, уменьшалась на 21 и 26% соответственно. Площадь листа инфицированных растений устойчивого генотипа Pa405 практически не отличалась от контрольных вариантов.

В связи с уменьшением размеров листьев понижалась общая биомасса инфицированных растений. Средний вес листьев с одного растения кукурузы снижался на 20-25%, как в Oh28 так и Wsm1. Средний вес Pa405 оставался без значительных изменений.

Одной из причин отсутствия значимой разницы между здоровыми и инфицированными растениями Pa405, является, по-видимому, то, что в листьях устойчивого генотипа вирус распространяется медленнее, либо вообще ограничивается числом локально инфицированных клеток, при котором дальнейший транспорт вирусной инфекции затруднен или невозможен (Knoke J.K., Louie R, 2000).

Развитие системной инфекции при мозаичных заболеваниях обычно вызывает различные аномалии в хлоропластах. При исследовании пигментного фонда также была установлена специфика реакций генотипов на заражение MDMV (Табл.2).

Таблица 2 - Содержание пигментов (мг/дм²) в здоровых и инфицированных MDMV проростках кукурузы, выращенных на белом свете (* - инфицированные).

	chl a	chl b	chl (a+b)	car	a/b	(a+b)/car
Oh28	1,32 ±0,09	0,29 ±0,02	1,61 ± 0,12	0,85±0,09	4,55±0,08	1,89 ±0,1
Oh28*	0,91 ±0,08	0,19 ±0,01	1,10 ±0,01	0,77±0,08	4,79±0,05	1,42 ±0,07
Wsm	1,36 ±0,12	0,34 ±0,03	1,70 ±0,15	0,78±0,04	4,05±0,07	2,18 ±0,07
Wsm*	0,88 ±0,07	0,16 ±0,02	1,03 ±0,08	0,58±0,05	5,59±0,07	1,79 ±0,05
Pa405	1,48 ±0,08	0,32 ±0,03	1,72 ±0,09	0,77±0,07	4,73 ±0,4	2,23 ±0,1
Pa405*	1,40 ±0,01	0,28 ±0,03	1,68 ±0,1	0,72±0,07	5,0 ±0,35	2,33 ±0,1

Как видно из данных, у растений кукурузы Oh28 и Wsm1 суммарная концентрация хлорофиллов a и b была ниже, чем у контрольных растений этого генотипа на 31 и 40%, соответственно. Соотношение хлорофиллов a/b в инфицированных листьях изменялось в основном за счет уменьшения хлорофилла b.

Причиной развития множества деструктивных процессов в хлоропластах, приводящих к значительному сокращению хлорофиллов, являлся высокий титр вирусных частиц в клетках, как Oh28, так и Wsm1 (табл. 3).

Таблица - 3 - Титр MDMV, в листьях различных генотипов кукурузы, выращенной на белом свете, 13 сутки патогенеза (нг·г сырого веса).

	1 лист	2 лист	3 лист	4 лист
Oh28	2,93 ±0,25	5,14 ±0,41	4,31 ±0,40	4,76 ±0,45
Wsm1	3,40 ±0,30	5,30 ±0,45	3,51 ±0,31	3,84 ±0,21
Pa405	2,03 ±0,20	3,66 ±0,31	2,86 ±0,25	3,40 ±0,32

В отличие от генотипов Oh28 и Wsm1 в листьях устойчивой линии Pa405 наблюдалась противоположная тенденция: вирусное поражение значительно не изменяло концентрацию, как хлорофиллов, так и каротиноидов. Растения Pa405 проявляли признаки латентной инфекции, что само по себе подтверждает высокую устойчивость генотипа к данному вирусу (табл. 2, 3).

Учитывая роль фитогормонов в регуляции процессов роста и развития растений, можно предположить, что наблюдаемые при вирусном поражении различные нарушения обусловлены воздействием вирусной инфекции на гормональную систему растений.

Данные, полученные в опытах с различными линиями кукурузы, инфицированными MDMV, свидетельствуют о снижении концентрации свободной ИУК в листьях восприимчивого и толерантного генотипах (рис.1). Снижение количества ИУК в инфицированных листьях могло быть вызвано в результате окисления, угнетения их синтеза или обоих механизмов (Grieve, 1956 и др.).

Экспериментальные данные показали зависимость между накоплением титра MDMV, увеличением содержания АБК и уменьшением уровня наиболее активной группы гиббереллинов ГК₁₊₃ у инфицированных растений восприимчивого и толерантного генотипов (табл. 3, рис.2). Возможно, воздействие вирусной инфекции приводит к переключению метаболического пула от углеводов в сторону синтеза АБК, поскольку эти гормоны имеют общего предшественника – мевалоновую кислоту (Дерфлинг, 1985).

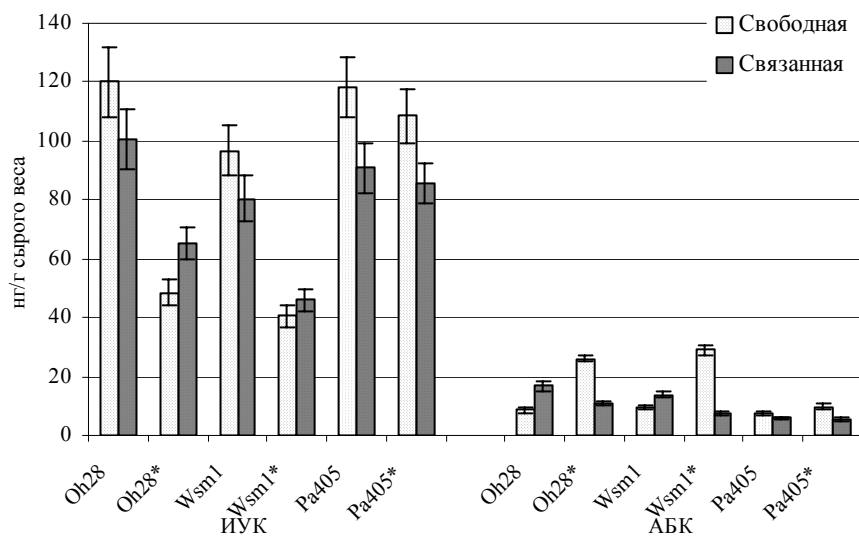


Рисунок 1. Влияние заражения MDMV на уровень ИУК и АБК в 13-дневных проростках кукурузы, выращенных на белом свете (* - инфицированные).

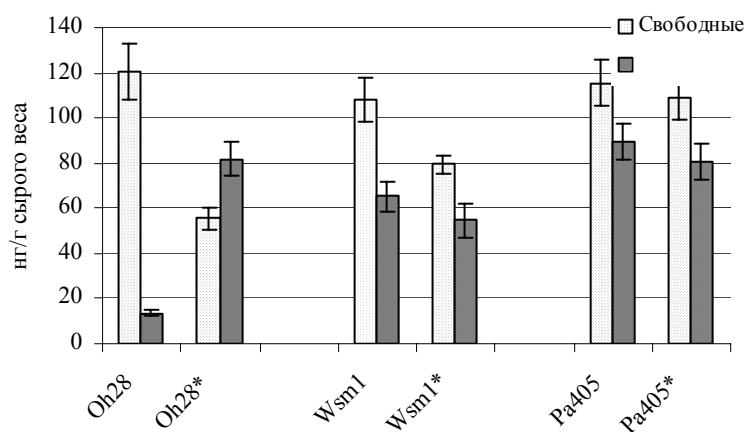


Рисунок 2. Влияние заражения MDMV на уровень ГК₁₊₃ в 13-дневных проростках кукурузы, выращенных на белом свете (* - инфицированные).

Информация по влиянию цитокининов на вирусную инфекцию неполная и зачастую спорная. По результатам нашего исследования, несмотря на отсутствие различий в концентрации общих цитокининов между контрольными и опытными растениями, профиль индивидуальных цитокининовых групп заметно изменялся.

Так, на 13-й день онтогенеза отмечалось снижение активности свободных форм цитокининов в инфицированных листьях восприимчивого Oh28. Активность как зеатина, так и изопентениладенина уменьшалась на 34% и 45%, соответственно. Активность рибозида зеатина в инфицированных растениях резко снижалась во всех изученных генотипах, причем более сильно это проявлялось в листьях Oh28 и Wsm1. (рис.3). Уменьшение активности свободных форм цитокининов в листьях Oh28 совпадало с повышением титра вируса в данном генотипе. Однако в листьях устойчивого Pa405, напротив, увеличение титра MDMV совпадало с увеличением активности свободных форм цитокининов (табл. 3, рис.3).

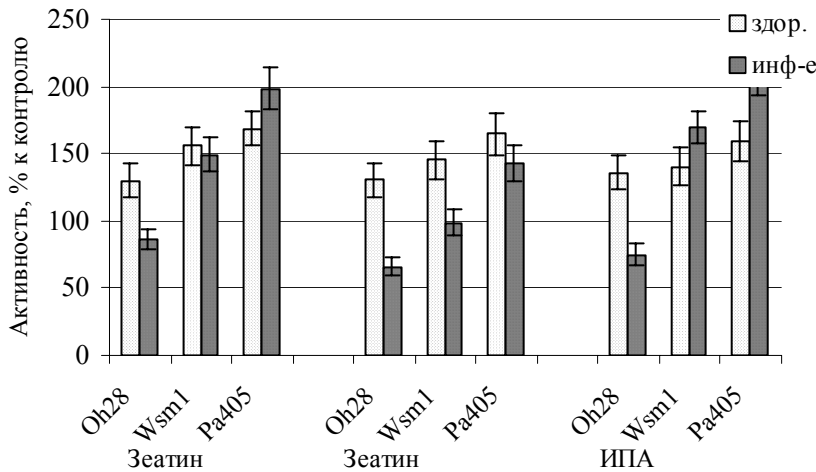


Рисунок 3. Влияние вирусной инфекции на активность зеатина, зеатин рибозида и изопентениладенина (ИПА) в 13-дневных листьях кукурузы, выращенной на белом свету.

Возможно, понижение свободных форм цитокининов и их рибозидов позволяет повышать скорость репликации вирусов в растениях и ведет к старению и гибели инфицированных листьев.

4. ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА НА МОРФОГЕНЕЗ И ГОРМОНАЛЬНЫЙ БАЛАНС КУКУРУЗЫ ИНФИЦИРОВАННОЙ MDMV

Литературные материалы показывают насколько сложно и многообразно влияние селективного света на рост и фотосинтез растений, однако данные по влиянию света разного спектрального состава на вирусное инфицирование практически отсутствуют.

Выявлено, положительное влияние синего света на рост, развитие и накопление фотосинтетических пигментов (особенно хлорофилла b и каротиноидов) во всех изученных генотипах.

Сравнительный анализ здоровых и инфицированных растений на синем свету показал, что высота побега, площадь листа и концентрация фотосинтетических пигментов опытных растений не имело значительных отличий от контрольных.

Принято считать, что устойчивость растений к вирусной инфекции определяется концентрацией вирусных частиц в листьях. Так, положительное влияние коротковолновых лучей на развитие инфицированных проростков сопровождалось уменьшением титра MDMV в Oh28 на 29% (табл.4).

Таблица - 4 Титр MDMV, в листьях различных генотипов кукурузы, выращенной на синем свету, 13 сутки патогенеза (нг г сырого веса).

	1 лист	2 лист	3 лист	4 лист
Oh28	3,46 ±0,30	3,52 ±0,35	3,50 ±0,35	2,50 ±0,25
Wsm1	2,22 ±0,22	2,62 ±0,26	2,80 ±0,20	2,88 ±0,18
Pa405	2,29 ±0,25	2,31 ±0,24	2,31 ±0,21	2,35 ±0,15

Красный свет для всех изученных генотипов был менее благоприятен. Хотя высота здоровых растений была максимальной, за счет увеличения длины междоузлий, площадь листьев и биомасса проростков была значительно ниже, чем у растений, выращенных на белом или синем свету. Замедление роста кукурузы сопровождалось с появлением ярких симптомов мозаики на вновь отрастающих листьях.

Красный свет способствовал значительному снижению концентрации фотосинтетических пигментов, в основном за счет разрушения хлорофилла b и каротиноидов.

Красный свет способствовал увеличению количества вирусных частиц в листьях восприимчивого генотипа Oh28 на протяжении всего патогенеза, тогда как, в листьях Pa405 и Wsm1 наблюдалась тенденция к снижению титра (табл. 5).

Таблица - 5 - Титр MDMV, в листьях различных генотипов кукурузы, выращенной на красном свету, 13 сутки патогенеза (нг г сырого веса).

	1 лист	2 лист	3 лист	4 лист
Oh28	3,04 ±0,30	3,24 ±0,32	4,78 ±0,45	5,28 ±0,41
Wsm1	2,43 ±0,21	2,40 ±0,20	2,43 ±0,21	1,60 ±0,30

Pa405	1,99 ±0,13	1,78 ±0,17	1,59 ±0,19	1,35 ±0,18
-------	------------	------------	------------	------------

Исследование гормонального баланса растений выращенных в условиях длительного освещения спектральным светом показало, что синий свет подавлял синтез ИУК и гиббереллинов, стимулируя образование АБК и цитокининов в листьях всех генотипов.

Сравнительный анализ здоровых и инфицированных растений показал, что синий свет способствовал сокращению различий между контрольными и опытными проростками по количеству ИУК и гиббереллинов, а также снижал негативный эффект вирусной инфекции, за счет увеличения количества и активности свободных форм цитокининов. Возможно, синий свет может выступать в качестве индуктора противовирусной устойчивости, путем стимуляции зеатина и ИПА и косвенно влиять на снижение титра MDMV в листьях восприимчивых растений Oh28.

Красный свет снижал концентрацию активных форм ИУК в зараженных листьях Oh28 и Wsm1 на 58 и 18%, соответственно. При этом уровень связанной ИУК практически не изменялся.

Красный свет способствовал существенному уменьшению цитокининов в Oh28, причем в инфицированных растениях этот показатель снижался на 53% от контроля (рис.4). Исследование индивидуальных цитокининовых групп показало сокращение активности ИПА, кроме того, активность З и ЗР в Oh28 также была значительно ниже, чем в устойчивых генотипах.

Увеличение цитокининовой активности на красном свету происходило в растениях с устойчивой реакцией на заражение. Так, в зараженных листьях Wsm1 это изменение составляло 25%, а в Pa405 40% от контроля (рис.4).

Wsm1 и Pa405 обнаружили схожую реакцию по активности З и ЗР. По-видимому, наличие определенной устойчивости у данных генотипов стало причиной одинаковых ответных реакций на вирусное поражение.

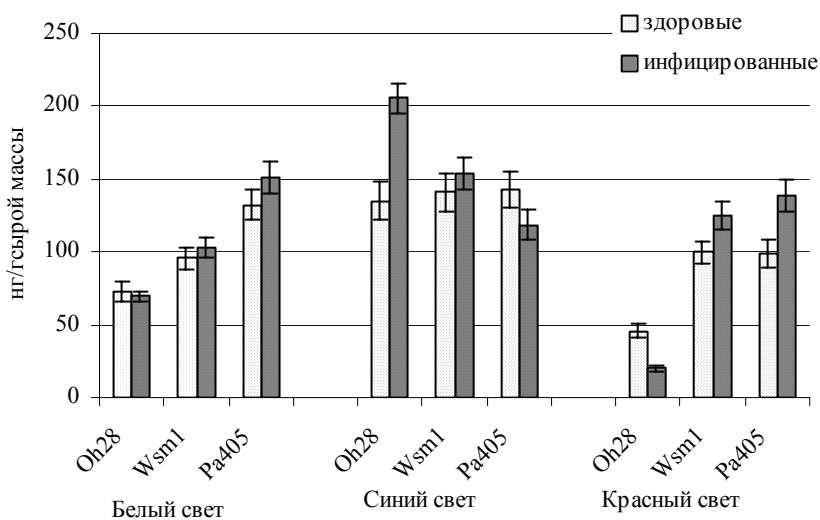


Рисунок 4. Содержание суммарных цитокининов (нг/г сырой массы) в 13-суточных проростках кукурузы, выращенных в условиях белого освещения и на постоянном спектральном свету.

Таким образом, результаты наших опытов показали специфическое действие красного и синего света на вирусное инфицирование различных по устойчивости генотипов кукурузы. Синий свет положительно влиял на рост и развитие инфицированных проростков восприимчивого генотипа Oh28 через изменение гормонального баланса. Красный свет благоприятно влиял на снижение титра в листьях растений с устойчивой реакцией на заражение, возможно, усиливая работу генов *Mdm1* и *Wsm1*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая литературные данные и результаты нашего эксперимента можно заключить, что развитие вирусной инфекции определяется генетическими особенностями растений кукурузы и зависит от их реакции на вирусное поражение. Признаками латентной инфекцией обладали растения устойчивого генотипа Pa405 с геном *Mdm1*, где никаких достоверных отличий по морфометрическим показателям между здоровыми и инфицированными растениями не наблюдалось. Наиболее яркие симптомы заражения на белом свету проявлялись в растениях восприимчивого Oh28 и толерантного Wsm1 генотипов и

заключались в значительной задержке роста и развития проростков, а также деструктивных изменениях в хлоропластах.

Развитие вирусной инфекции отражалось на изменении гормонального баланса растений кукурузы. Замедление роста и развития растений восприимчивого и толерантного генотипов сопровождалось накоплением свободной АБК и подавлением стимуляторов роста, таких как ИУК и гиббереллины. Для растений устойчивого генотипа характерна высокая цитокининовая активность, которая, вероятно, может быть связана с наличием доминантного гена устойчивости *Mdm1*.

Исследования с использованием спектрального света вносят вклад в развитие представлений о механизмах фоторегуляции вирусного патогенеза, с помощью которых возможно оптимизировать развитие инфицированных растений. На примере различных генотипов продемонстрировано значение длительного воздействия синего и красного света на процессы вирусного инфицирования кукурузы на начальных этапах заболевания.

Синий свет положительно влиял на рост и развитие зараженных проростков восприимчивого Oh28. Снижение симптомов заболевания в листьях Oh28 сопровождалось уменьшением титра MDMV.

Синий свет стимулировал повышенное образование свободных форм цитокининов и АБК. Возможно, синий свет может выступать в качестве индуктора противовирусной устойчивости и через повышение активности З и ИПА, косвенно влиять на снижение титра вируса.

Красный свет для всех изученных генотипов был менее благоприятен. Хотя высота здоровых растений была максимальной, за счет увеличения длины междоузлий, общая биомасса и количество фотосинтетических пигментов значительно снижались.

Красный свет способствовал уменьшению титра MDMV в устойчивом Pa405 и толерантном Wsm1 генотипах. Низкий титр MDMV сопровождался накоплением суммарных цитокининов и повышением активности индивидуальных цитокининовых групп З и ЗР. Возможно, красный свет повышает активность генов устойчивости *Mdm1* и *Wsm1*, результатом которого может быть активация защитных сил растений, либо других механизмов.

Таким образом, наблюдаемые при вирусном поражении различные деструктивные изменения в метаболизме растений, обусловленные воздействием вируса на гормональную систему, возможно, контролировать при помощи мощного природного фактора как селективный свет.

ВЫВОДЫ

1 Инфицирование MDMV на белом свету уменьшает рост, биомассу и количество фотосинтетических пигментов в растениях восприимчивого Oh28 и толерантного Wsm1 генотипов. Растения устойчивого генотипа Pa405 проявляют признаки латентной инфекции.

2. Развитие инфекции в растениях восприимчивого генотипа Oh28, способствует уменьшению концентрации ИУК и ГК, а также снижает количество и активность индивидуальных цитокининовых групп. В растениях устойчивого Pa405 и толерантного Wsm1 генотипов развитие системной приобретенной устойчивости совпадает с увеличением активности зеатина (З) и изопентениладенина (ИПА).

3 Установлена зависимость развития вирусной инфекции от качества света. Синий свет положительно влияет на морфогенез и накопление фотосинтетических пигментов растений, снижая негативный эффект вирусного поражения, тогда как длительное освещение красными лучами спектра негативно действует на рост и развитие растений всех изученных генотипов.

4. Синий свет подавляет синтез ИУК и ГК, а также активизирует образование АБК. Синий свет стимулирует образование и активность индивидуальных цитокининовых групп в растениях восприимчивого генотипа Oh 28.

5. Красный свет способствует увеличению концентрации ИУК и ГК, а также стимулирует образование и активность цитокининов в листьях устойчивых и толерантных генотипов Pa405 и Wsm1.

6. Синий свет влияет на уменьшение титра MDMV в растениях восприимчивого генотипа Oh28, предотвращая развитие карликовых форм и проявление мозаики. Красный свет влияет на снижение титра MDMV в растениях с устойчивой реакцией на заболевание, что, вероятно, происходит через увеличение активности генов устойчивости *Mdm1* и *Wsm1*.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ефремова Е.А. Онтогенез мутантных растений кукурузы выращенных под действием света разного спектрального состава // Исследования молодых ботаников Сибири: тезисы докладов молодежной конференции.– Новосибирск, 2001. – С. 30.

2. Ефремова Е.А., Возможность использования баланса фитогормонов в ранней биоиндикации вирусного патогенеза растений // Сборник работ научной молодежи ТГУ «Экология сегодня».-2001.-Вып.1.- С. 23-26.
3. Ефремова Е.А., Вайшла О.Б. Влияние света разного спектрального состава на уровень ИУК в мутантных растениях кукурузы // Тезисы докладов VI международной конференции «Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях» М.: Изд-во МСХА, 2001.С.170-173.
4. Ефремова Е.А., Вайшла О.Б. Влияние уровня индолилуксусной кислоты на морфогенез мутантных растений кукурузы, выращенных на свету разного спектрального состава // Тезисы докладов XXXIX Международной научно-студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс»- Н.: 2001. С. 77-78.
5. Ефремова Е.А. Роль селективного света в механизма устойчивости растений к вирусной инфекции // Тезисы конференции памяти профессора С.И. Лебедева « Приемы повышения урожайности растений: от продуктивности фотосинтеза в современной биотехнологии» - Киев.: 2002.
6. Vaishlya O.B., Redinbaugh M.G., Ephremova E.A. Effects of spectral light on the hormone balance and MDMV titer in Maize inbred lines Pa 405 and Oh 28 // International conference “ Photosynthesis and crop production” – Kyiv, Ukraine, 2002. – P. 106.
7. B. Vaishlya, V.I. Shatilo, E.A. Ephremova. Auxins and cytokinins participation in plants resistance to viruses // Book of abstracts. International symposium «Auxins and cytokinins in plant development». Supplement to Biologia plantarum. 1999. V.42. – P.37.
8. Ефремова Е.А. Участие селективного света в механизмах устойчивости растений к вирусной инфекции // XL Международная научно-студенческая конференция « Студент и научно-технический прогресс» - Н.: 2002. С. 28.
9. Ефремова Е.А. Влияние света разного спектрального состава на морфогенез и гормональный баланс инбредных линий кукурузы (*Zea mays L.*), контрастных по устойчивости к вирусу карликовой мозаичности кукурузы» Тезисы докладов II Международной конференции по анатомии и морфологии растений.- С-Петербург, 2002. С.15
10. Ефремова Е.А., Вайшла О.Б., Рэдинбоу М.Г. Фоторегуляция роста и гормональный баланс инбредов кукурузы на ранних этапах онтогенеза // Тезисы докладов VI Пушкинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука 21-го века». Пушкино, 2002. С.
11. Ефремова Е.А., Вайшла О.Б., Шатило В.И. Гормональная регуляция вирусного патогенеза в системе растение-хозяин – патоген // Сборник научных трудов ТСХИ НГАУ . – Вып. 5. – Томск, 2002 г. – С. 90-93.
12. Ефремова Е.А., Гусева О.П. Влияние вируса карликовой мозаичности на рост и фотосинтетический аппарат различных генотипов кукурузы. // Тезисы всероссийской научно-практической конференции « Физиология растений и экология на рубеже веков» - Ярославль, 2003. С. 153.
13. Ефремова Е.А. Роль селективного света в устойчивости растений кукурузы к вирусной инфекции // Тезисы докладов V Съезда общества физиологов растений. - Пенза 15-21 сентября, 2003. С. 117.