ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ

Первая Всероссийская молодежная научная конференция, посвященная 125-летию биологических исследований в Томском государственном университете

(Томск, 6–9 октября 2010 г.)

Издательство Томского университета

2010

РЕГУЛЯЦИЯ ЭПИБРАССИНОЛИДОМ МОРФОГЕНЕЗА И СОДЕРЖАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ПРОРОСТКАХ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) [1]

М.В. Ефимова, М.А. Елисеева

В данной работе установлено, что эффект эпибрассинолида на рост проростков Arabidopsis thaliana (L.) Heynh определяется онтогенетическим состоянием организма, на котором растения обрабатывались гормоном.

THE REGULATION OF MORPHOGENESIS AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENT CONTENT BY EPIBRASSINOLIDE IN THE SEEDLINGS OF *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.)

M.V. Efimova, M.A. Eliseeva

This research was showed that response reaction of Arabidopsis thaliana seedlings caused by epibrassinolide closely related with stage of the plant ontogenesis, when phytohormones was added.

Ключевую роль в регуляции процессов жизнедеятельности растений играют фитогормоны. Среди основных функций фитогормонов можно отметить их способность включаться в трансдукцию сигналов внешней среды, активировать защитные механизмы растений в ответ на стрессорные воздействия и, как результат, повышать интенсивность фотосинтеза и продуктивности растений. Особое место в ходе этих процессов отводится новому классу фитогормонов – брассиностероидам (БС), проявляющим высокую биологическую активность в сравнительно низких концентрациях [1].

Для изучения регуляторной роли брассиностероидов в морфогенезе растений нами был использован синтетический брассиностероид с высокой физиологической активностью – эпибрассинолид (ЭБЛ) в концентрации 10^{-6} и 10^{-8} М (рис. 1). Работа выполнена на модельном растении *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (сем. Крестоцветные) экотипа Columbia. Семена *A. thaliana* стерилизовали 3 % H_2O_2 и высевали в чашки Петри на модифицированную жидкую среду Мурасиге – Скуга с половинным составом солей. Для стимуляции и синхронизации прорастания семена арабидопсис выдерживали в течение 3 дней при температуре 4–6 ºС (стратификация) и предосвещали белым светом (люминесцентные лампы ЛД-40, 3 ч, 3700 лк), после чего семена проращивали в темноте, температура воздуха составляла 22±2 °С. Для изучения регуляции морфогенеза и состава фотосинтетических пигментов брассиностероидами (эпибрассинолид) нами использовано две концен-

[1] Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (мероприятие 1.3.1) (Государственный контракт № П 1369 от 2 сентября 2009 г.) и РФФИ (10-04-90830-моб_ст).

трации гормона (10^{-8} М и 10^{-6} М) и два варианта обработки – на этапе высевания семян (до стратификации) и после стратификации. В качестве контроля использовали 7-дневные проростки, выращенные в темноте без добавления гормона. Синтетический аналог эпибрассинолида любезно предоставлен чл.-корр. НАН Беларуси В.А. Хрипачем (лаб. химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси, Минск).

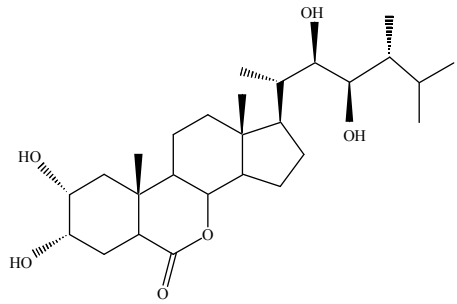

Рис. 1. Структурная формула 24-эпибрассинолида

Для оценки уровня фотосинтетических пигментов определенное количество проростков растирали в 96 % этаноле и центрифугировали (10 мин при 8 тыс. об/мин, центрифуга многофункциональная Eppendorf 5804R). Оптическую плотность пробы определяли на спектрофотометре Shimadzu UV-1650. Концентрацию пигментов в спиртовой вытяжке рассчитывали согласно H.K. Lichtenthaler [2]. Длину гипокотилей проростков *A. thaliana* измеряли под лупой БМ-51-2, а площадь семядолей – под микроскопом Micros MC 100 (Австрия) с помощью цифровой камеры Moticam 2000 (Испания) и программы Motic Images Plus 2.0. Для каждого варианта измеряли по 35–50 проростков в каждой из трех биологических повторностей. Результаты экспериментов представлены на рис. 2–4 как средние арифметические и их стандартные ошибки.

Нами был исследован морфогенез этиолированных проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh под действием экзогенного эпибрассинолида. Показано, что обработка 10^{-6} М ЭБЛ до стратификации семян вызывала ингибирование роста гипокотилей и увеличение размеров семядолей (рис. 2). Наибольшую чувствительность к действию ЭБЛ проявляла корневая система проростков, при этом ингибирующее влияние ЭБЛ на рост корней усиливалось с повышением концентрации гормона. В случае обработки семян эпибрассинолидом после стратификации наблюдалось укорочение гипокотилей и увеличение площади семядолей при концентрации гормона 10^{-8} М (данная концентрация не вызывала ответной реакции при использовании гормона до стратификации) и 10^{-6} М.

Подавление роста гипокотилей наряду с активацией роста семядолей – характерная ответная реакция растений на брассиностероиды [3–8]. С одной стороны, это проявление органоспецифичности и ингибирование роста осевых органов брассиностероидами может быть результатом превышения оптимальной концентрации гормона в проростках [9]. С другой стороны, результатом действия брассиностероидов в темноте является стимуляция светового развития [10]. На рис. 3 отмечено сходство между проростками, выращенными на свету, и этиолированными проростками, обработанными БС.

Анализируя пигментный состав проростков в темноте, можно отметить, что содержание фотосинтетических пигментов у *Arabidopsis* экотипа Columbia в темноте было низким (рис. 4). Уровень хлорофилла a, основного пигмента фотосинтеза, не превышал 0,008 мг на 1 проросток, содержание хлорофилла b было в два раза ниже. При обработке эпибрассинолидом соотношение хлорофиллов зависело от концен-

трации фитогормона и времени обработки. Низкая концентрация ЭБЛ (10^{-8} М) при обработке семян арабидопсис до стратификации вызывала увеличение содержания хлорофилла b, в то время как высокая концентрация гормона приводила к повышению уровня основного пигмента фотосинтеза. В случае обработки семян эпибрассинолидом после стратификации стимулирующего влияния гормона на содержание фотосинтетических пигментов не наблюдалось, при этом уровень хлорофилла b становился ниже определяемого порога определения. Уровень каротиноидов в этиолированных проростках (0,0068 мг/проросток) увеличивался под влиянием ЭБЛ примерно в два раза вне зависимости от концентрации гормона и времени обработки. Соотношение хлорофиллов к каротиноидам высокое в контрольных проростках, оно поддерживалось неизменным при начальной обработке семян (до стратификации); поздняя обработка снижала данное соотношение примерно в 10 раз и не зависела от концентрации ЭБЛ.

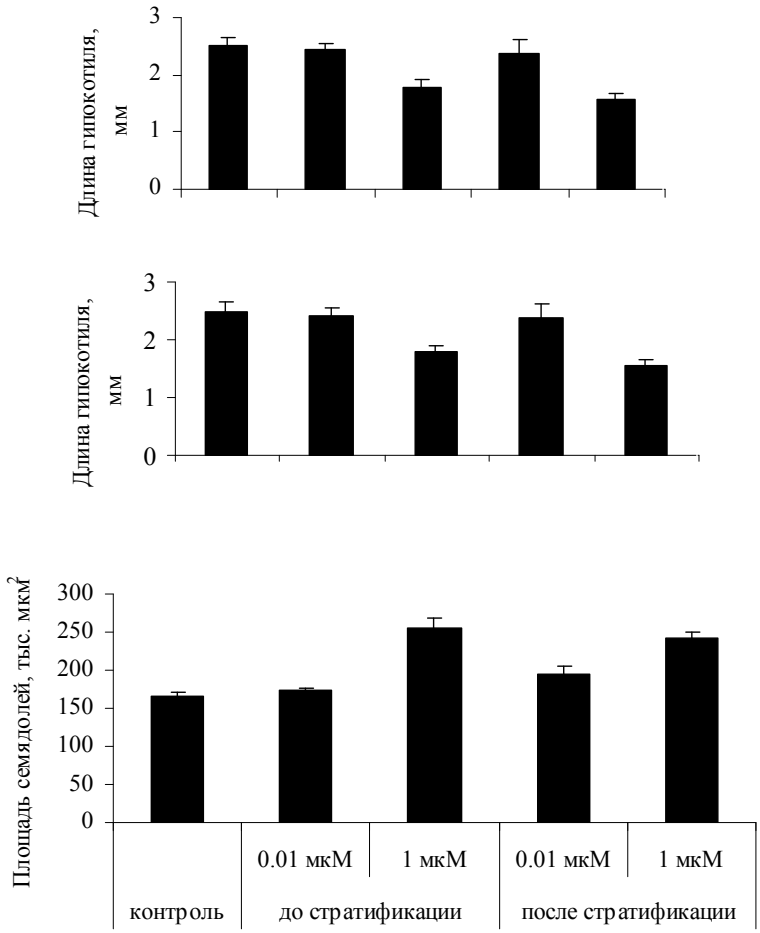

Рис. 2. Влияние эпибрассинолида (0,01 и 1 мкМ)
на ростовые показатели проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh

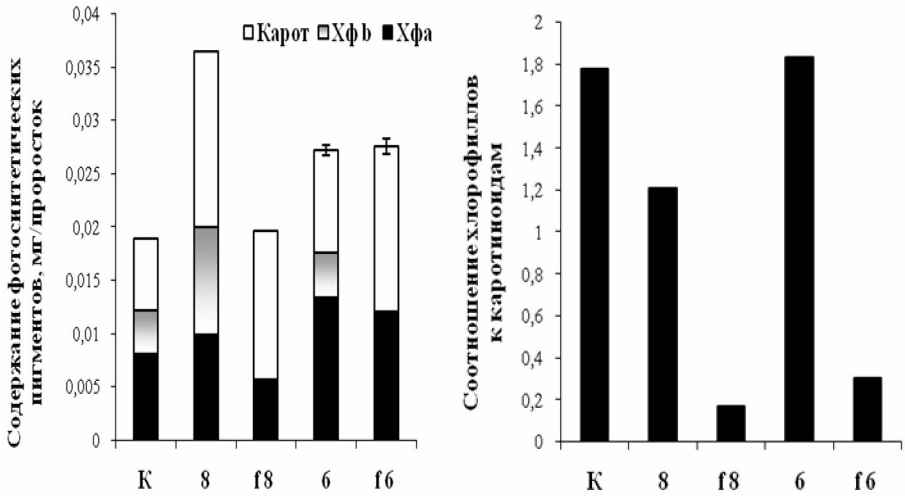

Рис. 3. Содержание фотосинтетических пигментов в проростках *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. «К» – выращивание проростков в условиях темноты; «8» и «6» – обработка эпибрассинолидом в концентрации 10^{-8} и 10^{-6} М соответственно до этапа стратификации; «f 8» и «f 6» – обработка ЭБЛ после этапа стратификации

Наличие фотосинтетических пигментов в темноте свидетельствует о том, что кратковременное предосвещение белым светом инициировало световое развитие растений, при этом эпибрассинолид усиливал реакцию, вызванную предосвещением.

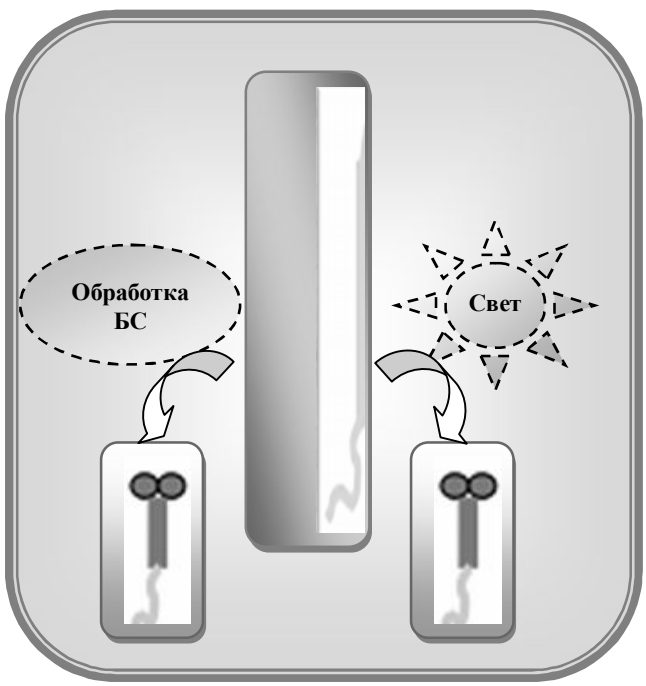

Рис. 4. Модель инициации программы фотоморфогенеза у этиолированных проростков *Arabidopsis* за счет обработки брассиностероидами или действия света

Авторы выражают благодарность профессору кафедры физиологии растений и биотехнологии ТГУ Р.А. Карначук за помощь в проведении работы.

Литература

1. *Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Karnachuk R.A.* Chemical probes in biology / Science at the interface of brassinosteroids: a new role of steroids as biosignaling molecules. M.P. Schneider. (Ed). Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003. Vol. 129. P. 153–167. NATO Science Series. 391 p.

2. *Lichtenthaler H.K.* Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in Enzymology. 1987. № 148. P. 350–382.

3. *Карначук Р.А., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Хрипач В.А.* Действие 24-эпибрассинолида на морфогенез и соотношение гормонов у проростков Arabidopsis на зеленом свету // Физиология растений. 2002. Т. 49, № 4. С. 591–595.

4. *Ефимова М.В.* Роль света и брассиностероидов в регуляции морфогенеза *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh: Автореф. дис. … канд. биол. наук. М., 2006. 23 с.

5. *Ефимова М.В., Карначук Р.А., Головацкая И.Ф. и др.* Взаимодействие сигналов синего, зеленого света и брассиностероидов на ранних этапах онтогенеза *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh // Матер. докл. VI съезда общества физиологов растений России и междунар. конф. «Современная физиология растений: от молекул до экосистем»: В 3 ч. Сыктывкар (Коми НЦ УрО РАН), 2007. Ч. 1. С. 278–280.

6. *Ефимова М.В., Карначук Р.А., Литвиненко И.В. и др.* Влияние селективного света на морфогенез и уровень эндогенных брассиностероидов в проростках *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh // Тезисы докл. годичного собрания общества физиологов растений России и междунар. конф. «Физико-химические механизмы адаптации растений к антропогенному загрязнению в условиях Крайнего Севера». М.: Апатиты, 2009. С. 156.

7. *Ефимова М.В., Карначук Р.А., Литвиненко И.В. и др.* Физиологическая роль брассинолида в морфогенезе проростков *Arabidopsis thaliana* L. // Труды Том. гос. ун-та. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2010. Т. 273. Сер. общенаучная: Молодежная науч. конф. Том. гос. ун-та. 2009. Вып. 2. Проблемы естествознания. С. 58–60.

8. *Efimova M., Kuznetsov Vl., Khripach V. et al.* The role of brassinosteroids and green light in regulation of initial events of morphogenesis of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh // Abstracts of 20th International conference on plant growth substances (IPGSA). 2010. 28 June – 2 July, Tarragona, Spain. P. 77.

9. *Symons G.M., Reid J.B.* Brassinosteroids do not undergo long-distance transport in pea. Implications for the regulation of endogenous brassinosteroid levels // Plant Physiol. 2004. Vol. 135. P. 2196–2206.

10. *Li J., Nagpal P., Vitart V. et al.* A role for brassinosteroids in light-dependent development in *Arabidopsis* // Science. 1996. Vol. 272. P. 398–401.