

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ β -ГЛЮКОЗИДАЗЫ И ФОСФОЛИПАЗЫ D В РАЗВИВАЮЩИХСЯ ПРОРОСТКАХ ОВСА ПРИ ОБРАБОТКЕ 1-НАФТИЛУКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ

Суховеева С.В.¹, Кабачевская Е.М.¹, Ляхнович Г.В.¹,
Кравец В.С.², Колесников Я.С.², Волотовский И.Д.¹

¹*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
Минск, Беларусь, suhoveevasvetlana@mail.ru*

²*Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины,
Киев, Украина*

Фитогормоны играют ключевую роль в жизнедеятельности растительного организма. Функции многих классов фитогормонов связаны с контролем ростовых и тропных реакций растений. Ауксины — группа фитогормонов, представляющих собой производные триптофана и индола. Среди эффектов ауксинов на растение можно назвать ризогенез, поддержание аттрагирующих центров меристем, апикальное доминирование, а также контроль роста растяжением клеток растений. Основным фитогормоном группы ауксинов является индолил-3-уксусная кислота (ИУК). К числу синтетических негидролизуемых аналогов индолилуксусной кислоты относится 1-нафтилуксусная кислота (НУК).

Недавно было показано, что β -глюкозидазы могут участвовать в высвобождении активных форм ауксинов из гликозидных конъюгатов. Также β -глюкозидаза и фосфолипаза D могут участвовать в remodelировании клеточной стенки и клеточных мембран в ходе роста клеток растений растяжением. Эта информация косвенно свидетельствует о возможном участии ферментов фосфолипазы D и β -глюкозидазы в процессах, ответственных за развитие ростовых и тропных реакций. В связи с этим, комплексное исследование изменений экспрессии генов ферментов фосфолипазы D и β -глюкозидазы при индукции ростовых и тропных ответов представляет как научный, так и практический интерес.

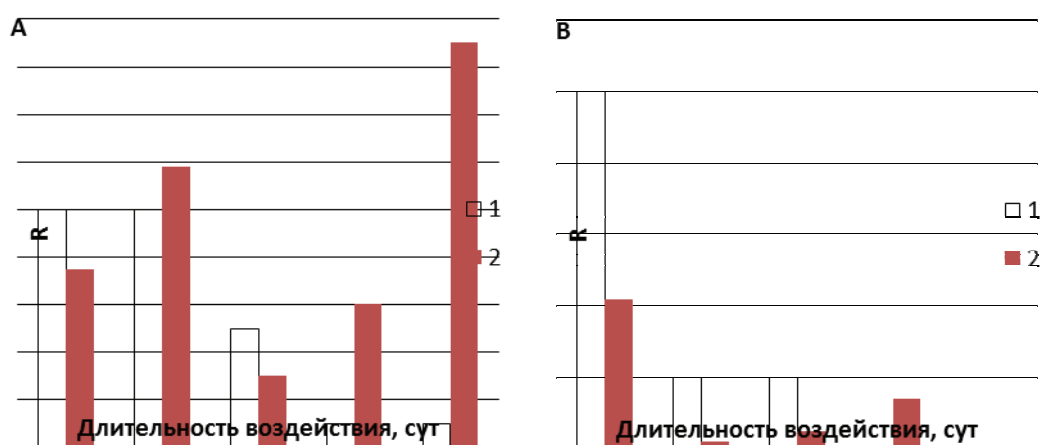
Целью данной работы стало выяснение влияния НУК на относительный уровень экспрессии гена β -глюкозидазы и фосфолипазы D по критерию транскрипции (далее экспрессии) в первых листьях проростков овса (*Avena sativa* L.) сорта «Гоша» белорусской селекции.

Растения овса с момента проклевывания до 3-суточного возраста выращивались в воде при 15-часовом световом дне и освещении полихроматичным белым светом (40 Вт, 150 мкмоль м⁻²с⁻¹) при температуре 25°C. Начиная с 3-дневного возраста, интактные проростки опрыскива-

лись 2 раза в сутки 10^{-4} М раствором НУК. Отбор растительного материала проводился через 0,25, 1, 2, 3 и 4 сут после начала воздействия. Для определения относительного уровня экспрессии гена использовался метод ОТ-ПЦР в режиме реального времени (ОТ – обратная транскрипция) [1].

На рисунках 1, 2 представлены результаты изучения влияния НУК на экспрессию исследуемых генов β -глюкозидазы и фосфолипазы D в базальной и апикальной зонах первого листа проростка овса.

Из рисунка 1 видно, что уровень экспрессия гена β -глюкозидазы увеличивается в базальной зоне на 3-4 сутки после начала воздействия, а в апикальной зоне, наоборот, экспрессия данного гена снижается по сравнению с водным контролем уже через 6 ч после начала воздействия и такой эффект сохраняется до 2-х суток воздействия.

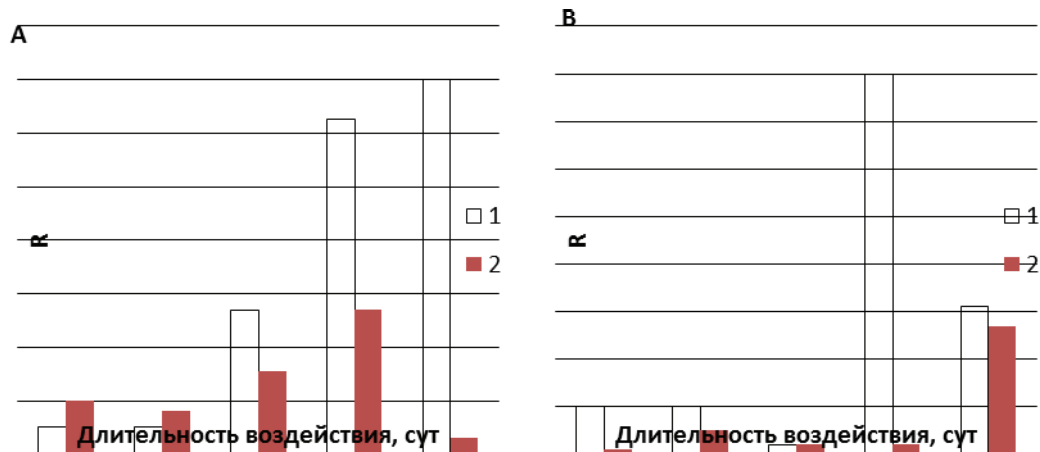


1 - контроль; 2 - при опрыскивании растений НУК.

Рисунок 1 – Зависимость уровня относительной экспрессии (R) гена β -глюкозидазы от времени обработки растений НУК концентрацией 10^{-4} М 2 раза в сутки: А - базальная зона первого листа зеленых проростков овса, В - апикальная зона первого листа зеленых проростков овса.

Возраст растений на начало эксперимента составлял 3 суток.

На рисунке 2 показано, что экспрессия гена фосфолипазы D в базальной зоне снижается через 2 суток после начала воздействия и такой эффект сохраняется до конца воздействия, а в апикальной зоне экспрессия данного гена снижается под воздействием НУК через 3 суток после воздействия, затем восстанавливается.



1 - контроль; 2 - при опрыскивании растений НУК.

Рисунок 2 – Зависимость уровня относительной экспрессии (R) гена фосфолипазы D от времени обработки растений НУК концентрацией 10^{-4} М 2 раза в сутки: А - базальная зона первого листа зеленых проростков овса, В - апикальная зона первого листа зеленых проростков овса.

Возраст растений на начало эксперимента составлял 3 суток.

Таким образом, обработка растений НУК снижает уровень экспрессии гена β -глюкозидазы в апикальной зоне первого листа с возрастом и, в то же время, индуцирует повышение уровня экспрессии данного гена в базальной зоне листа. Полученные данные позволяют сделать предположение о том, что ауксины повышают уровень экспрессии гена β -глюкозидазы в молодых, растущих тканях листа и снижают его в зрелых и стареющих тканях того же растения. Экспрессия гена фосфолипазы D в апикальной и базальной зонах снижается по сравнению с контролем.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ, грант № Б11К-144 и ГФФИУ грант № Ф41.4/042-2012.

Литература

1. Pfaffl M.W. Quantification strategies in real-time PCR / A-Z of quantitative PCR. Editor: S.A. Bustin. – Internatoinal University Line (IUL), La Jolla CA. USA. 2003. – P.8.