

УДК 631.811+581.14.21

ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПРОРАСТАНИЕ ИСХОДНЫХ И ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Э.П. Ладыженская, Т.А. Платонова, А.С. Евсюнина, Н.П. Кораблева,
Институт биохимии им. А.Н. Баха

Создание растений, обладающих устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессорам, методами традиционной селекции имеет ряд существенных ограничений, главное из которых — узкий круг доноров, способных к гибридизации с улучшаемым сортом. Генетическая инженерия существенно расширяет возможности получения устойчивых генотипов, позволяя переносить гены устойчивости независимо от систематического положения их донора.

Картофель — одна из культур, в значительной степени поражаемых грибными болезнями. В связи с этим перспективно создание трансгенных растений, несущих гены защитных пептидов и белков — потенциальных естественных фунгицидов, способных противостоять инфекциям.

К настоящему времени получены трансгенные растения картофеля, несущие гены защитных пептидов (дефензинов) и белков (тауматин и тауматинподобные белки) [1, 2]. Введение в растения гена дефензина — олигопептида с широким спектром фунгицидного и антибактериального действия увеличивает устойчивость к целому ряду фитопатогенных микроорганизмов [3]. Тауматин относится к группе PR 5 (pathogen-related) белков, синтез которых активируется при заражении растений патогенами [4]. Суперэкспрессия гена тауматина стимулирует устойчивость к заражению патогенными грибами [2, 5]. Однако использование таких трансгенных растений лимитируется отсутствием сведений о влиянии введения чужеродного гена на активность процессов роста. Между тем регуляция ростовых процессов играет существенную роль в производстве картофеля. Например, хранение урожая связано с подавлением преждевременного роста, а для выращивания растений важное значение имеет стимуляция прорастания семенных клубней. Один из перспективных подходов к решению этой задачи — использование физиологически активных соединений, обладающих свойствами регуляторов роста.

К числу природных регуляторов роста, перспективных для применения в картофелеводстве, относится жасмоновая кислота (ЖК)* и ее метиловый эфир. Эти соединения, объединяемые обычно под общим названием «жасмонаты», обладают сходной биологической активностью и могут контролировать процесс клубнеобразования [6]. Заслуживает также внимания новый синтетический регулятор роста — антиоксидант Амбиол*, КРП [7]. Действие его на растения изучено далеко не полно, но отмечаются, как правило, ростстимулирующие и адаптогенные свойства препарата [8—11].

Использование в экспериментах системы «исходные растения — трансгенные растения — физиологически активные вещества (ФАВ)» перспективно как для выявления изменений, вызванных генетической трансформацией, так и для изучения механизма действия ФАВ.

Цель работы — сравнительное изучение ростовых реакций клубней от исходных и трансгенных растений сортов Дезире и Луговской второй полевой генерации, полученные от исходных и трансформированных по гену дефензина (Дезире) и тауматина (Луговской) растений

картофеля (*Solanum tuberosum* L.), под действием синтетического (Амбиол) и природного (ЖК) регуляторов роста. В опытах использовали вышедшие из покоя клубни, которые хранили в темноте при 4°C в течение 6 мес.

Для проведения опытов по 30 клубней каждого сорта погружали на 10 мин. в раствор одного из регуляторов роста, либо в дистиллированную воду (контроль). В опытах использовали коммерческий препарат ЖК (10^{-4} , 10^{-6} и 10^{-8} М), а также синтетический регулятор роста Амбиол (10^{-5} — 10^{-2} , 1 и 5 мг/л). После соответствующих обработок клубни из опытных и контрольных вариантов помещали во влажные камеры при оптимальных условиях для прорастания (18°C, темнота). Из контрольных и опытных клубней через 2 нед. изолировали проросшие точки роста («глазки», апексы) для оценки интенсивности прорастания. «Глазки» вместе с образовавшимися на них боковыми корнями взвешивали, вес пересчитывали на 1 клубень. Учитывали также число клубней с боковыми корнями. Повторность опытов 3-кратная.

Установлено, что введение в растения картофеля гена дефензина приводит к стимуляции прорастания клубней. Отмечено также более интенсивное образование боковых корней на проростках клубней, полученных от трансгенных растений (табл. 1).

Таблица 1. Влияние Амбиола на вес проростков и образование боковых корней у клубней исходных и трансформированных по гену дефензина растений картофеля

Доза препарата, мг/л	Исходные растения		Трансгенные растения	
	Вес проростков, мг/клубень	Число клубней с боковыми корнями, шт.	Вес проростков, мг/клубень	Число клубней с боковыми корнями, шт.
Контроль	612±30	10±1	930±26	18±3
5	634±23	7±0,6	608±18	6±0,5
20	810±29	15±1,2	1210±39	15±2
60	625±18	27±1,4	1405±54	30

Обработка Амбиолом показала, что препарат в концентрации 5 мг/л ингибирует рост апексов клубней трансгенных и не влияет на прорастание клубней, полученных от исходных растений. При концентрациях 20 и 60 мг/л Амбиол стимулировал рост апексов на клубнях трансгенных растений, тогда как на клубнях исходных растений незначительная стимуляция роста отмечалась лишь при концентрации 20 мг/л. На образование боковых корней у клубней исходных растений Амбиол в концентрации 5 мг/л практически не влиял, но заметно подавлял этот процесс у клубней трансгенных растений. Амбиол в концентрациях 20 и 60 мг/л стимулировал образование боковых корней у клубней исходных растений, тогда как у клубней трансгенных растений стимуляция наблюдалась только при концентрации препарата 60 мг/л.

* «Государственным каталогом пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, 2009 год» препарат Амбиол не разрешен к применению на картофеле, а внесенных в него препаратов на основе жасмоновой кислоты не имеется

Таким образом, клубни исходных и трансгенных по гену дефензина растений различаются как по интенсивности ростовых процессов, так и по чувствительности к Амбиолу.

Известно, что на стадии активного роста апекса во всех его зонах преобладают процессы деления клеток. При этом боковые корни на ростках являются продуктом деятельности периферической меристемы, которая митотически более активна, чем центральная зона апексов [12]. Очевидно, в апексах клубней трансгенных растений, экспрессирующих ген дефензина, активированы процессы деления клеток, особенно клеток периферической меристемы.

В отличие от гена дефензина, введение в растения картофеля дополнительного гена тауматина вызывало подавление прорастания клубней (табл. 2). При этом число клубней с боковыми корнями на проростках не изменялось.

Обработка Амбиолом клубней исходных растений практически не влияла на прорастание. Образование боковых корней подавлялось при концентрации препарата 20 мг/л. Прорастание клубней трансгенных по гену тауматина растений стимулировалось Амбиолом в концентрации 5 и 20 мг/л. Во всех вариантах опыта Амбиол не действовал на образование боковых корней при прорастании клубней трансгенных по тауматину растений. ЖК стимулировала прорастание клубней как исходных, так и трансгенных по гену тауматина растений. Максимальная стимуляция отмечалась у клубней трансгенных растений при концентрации ЖК 10^{-8} М. При этом подавлялось образование боковых корней.

Таблица 2. Влияние Амбиола и жасмоновой кислоты на вес проростков и образование боковых корней у клубней исходных и трансформированных по гену тауматина растений картофеля

Вариант	Исходные растения		Трансгенные растения	
	Вес проростков, мг/клубень	Число клубней с боковыми корнями, шт.	Вес проростков, мг/клубень	Число клубней с боковыми корнями, шт.
Контроль	580±31	30	310±11	30
Амбиол (5 мг/л)	530±28	30	420±16	30
Амбиол (20 мг/л)	570±25	10±3	540±19	30
Амбиол (60 мг/л)	550±21	30	330±17	30
ЖК (10^{-4} М)	880±17	19±2	440±18	30
ЖК (10^{-6} М)	840±12	21±1	510±22	30
ЖК (10^{-8} М)	760±11	24±4	660±24	10±1

Итак, генетическая трансформация растений картофеля по генам дефензина либо тауматина, повышающая устойчивость к заражению патогенами, может влиять на способность клубней к прорастанию. Для коррекции ростовых процессов у исходных и трансгенных растений (подавление прорастания продовольственного картофеля или стимуляция прорастания семенных клубней) целесообразно применение Амбиола или жасмоновой кислоты.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПРОРАСТАНИЕ КЛУБНЕЙ ИСХОДНЫХ И ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ *Solanum tuberosum* L.

The effect of physiological active compounds on the sprouting of tubers of natural and transgenic potato (*Solanum tuberosum* L) plants.

Resume

The comparative study of the sprouting of tubers obtained from natural and transformed in gene of defensin or thaumatin potato plants was performed. The effect of natural (jasmonic acid) and synthetic (ambiol) plant growth substances on the sprouting was investigated also.

It was shown that the genetic transformation of potato plants in genes of defensin or thaumatin affects the tuber sprouting. Treatment with ambiol or jasmonic acid is useful to correction (stimulation or inhibition) of growth process of tubers of natural and transgenic potato plants.

Резюме

Проведено сравнительное изучение ростовых реакций клубней картофеля, полученных от исходных и трансформированных по гену дефензина (сорт Дезире) и тауматина (сорт Луговской) растений картофеля на действие синтетического (амбиол) и природного (жасмоновая кислота) регуляторов роста.

Показано, что генетическая трансформация растений картофеля по генам дефензина либо тауматина может влиять на способность клубней к прорастанию. Применение амбиола или жасмоновой кислоты целесообразно для коррекции ростовых процессов.

Ключевые слова: картофель, регуляторы роста, генетическая трансформация.

Литература

1. Ляпкина Н.С., Лоскутова Н.А., Майсурян Н.П., Мазин В.В., Кораблева Н.П., Платонова Т.А., Ладыженская Э.П., Евсюнина А.С. Получение генетически модифицированных растений картофеля, несущих ген защитного пептида из амаранта // Прикладная биохимия и микробиология, 2001. Т. 37. № 3. С. 349 – 354.
2. Кузнецова М.А., Спиглазова С.Ю., Сметанина Т.И., Филиппов А.В., Камионская А.М., Скрябин К.Г. Создание трансгенных растений картофеля, несущих ген thaumatin 11 - индуктор устойчивости растений к оомикету *Phytophthora infestans* (Mont. Dby). В сб. «Индукцированный иммунитет сельскохозяйственных культур - важное направление в защите растений» Всерос. науч.-исслед. ин-т защиты растений, 2006, с. 33-35.
3. Broekaert W.F., Terras F.R.G., Gammue B.P.A., Osborn R.W. Plant defensins: novel antimicrobial peptides as components of the host defense system // *Plant Physiol.* 1995. V. 108. N 4. P. 1353 - 1358.
4. Van Loon L.C., Van Strien E.A. The families of pathogen-related proteins, their activities, and comparative analysis // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 1999. V. 55. № 1. P. 85 – 97.
5. Li R., Wu N., Song B. Transgenic potato plants expressing osmotin gene inhibits fungal development in inoculated leaves // *Chin. J. Biotechnol.* 1999. V. 15. № 2. P. 71 – 75.
6. Pruski K., Astatkie T., Nowak J. Jasmonate effect on in vitro tuberization and tuber bulking in two potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) under different media and photoperiod conditions // *In vitro Cellular and Developmental Biology – plant.* 2002. V. 38. N 2. P. 2003 – 2009.
7. Смирнов Л.Д., Кузнецов Ю.В., Апашева Л.М., Полторак К.Д., Гринченко А.Л., Дюмаев К.М., Эммануэль Н.М. Аминометильные производные 2-метил-5-оксибензимидазола, обладающие регулирующей способностью: Авторское свидетельство 1098934 Кл. С 07 д. 23510 кл. А 01 №43152 // Б.И. 1984, № 23, с. 8.
8. Darlington A., Vishnevetskaia K., Blake T.J. Growth enhancement and antitranspirant activity following seed treatment with a derivative of 5-hydroxybenzimidazole (ambiol) in four drought-stressed agricultural species // *Physiol. Plantarum*, 1996, v.97, iss.2, p. 217-222.
9. Будаговская Н.В., Гуляев В.И. Влияние амбиола, фенозана и верапамила на скорость роста растений. Тезисы докладов VI Международной конференции «Биоантиоксидант». Москва, 2002, с. 68-69.
10. Пентелькин С.К., Пентелькина Н.В. Экологически безопасные стимуляторы роста для лесных питомников // *Лесохоз. информ.*, 2002, № 6, с. 20-25.
11. Rajasekaran L.R., Blake T.J. Seed pre-treatment using a derivative of 5-hydroxybenzimidazole (AMBIOL) pre-acclimates carrot seedlings to drought // *Canad. J. Plant Sc.*, 2002, v. 82, № 1, p. 195-202.
12. Иванов В.Б. Проллиферация клеток в растениях. М.: Мир, 1987. 216 с