

ЭФФЕКТ ДЕЙСТВИЯ ЗАСУХИ НА СИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ ДНК У СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХСЯ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ СТРЕСС УСТОЙЧИВОСТИ

В настоящее время в связи с глобальным потеплением климата [1] возрастает размер площадей, на которых растения подвергаются действию водного дефицита. Согласно сообщению межправительственной группы по изменению климата, средняя температура на планете к 2025 году может повыситься на 1 °С, а к 2100 – на 3 °С. В результате могут произойти существенные изменения ареалов дикой флоры, географического распределения культурных растений и продолжительности сельскохозяйственного сезона [2]. В этой связи в мировой практике внимание исследователей привлекает изучение биохимических, физиологических, молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе устойчивости растений к стрессу засухи [1, 3–6].

Засуха – это наиболее часто встречающийся из неблагоприятных факторов внешней среды, воздействующих на хлопчатник, который, ухудшая условия питания растений, приводит к замедлению развития хлопчатника, изменению качества хлопка-сырца и волокна, уменьшая длину и крепость его, в результате чего значительно снижается продуктивность растений.

Биохимическими и цитохимическими методами была установлена гетерогенность ДНК, проявляющаяся, главным образом, в прочности связи ДНК с белками и установке ДНК в хроматине клеточного ядра [7].

В исследованиях В.Г. Конарева с сотрудниками [8] было установлено, что ДНК клеточного ядра растений по структурному состоянию и функциональной активности неоднородна. Часть ее находится в лабильном состоянии и функционально более активна. Она обнаруживается преимущественно в активной части генома – эухроматических районах. Часть ДНК является компонентом менее активных гетерохроматических районов. Незначительная часть связана в хроматине за счет особой упаковки в структурах, содержащих кроме белков, РНК и липиды. Переход из одного состояния в другое лежит в основе регулирования функций ДНК и морфологических

процессов в клетке. Он отражает также изменения в физиологическом состоянии клеток. Лабильный хроматин в основном связан с метаболическими процессами, происходящими в растущих клетках или в дифференцированных клетках с активной физиологической функцией. Его много в интенсивно растущих клетках вегетативных органов.

Высокая метаболическая активность лабильной ДНК подтверждается тем, что она не содержит гистонов, лабильная фракция составляет примерно 20–25 % всей ядерной ДНК в денатурированном виде. Это, вероятно, играет определенную роль в репликации и в синтезе РНК, то есть при функционировании генома растений [9].

Стабильный хроматин не характерен для ядер эмбриональных клеток, способных к воспроизведению путем митоза. Его обычно больше всего накапливается в ядрах клеток, находящихся в состоянии покоя, в семенах, покоящихся почках и т.д.

Стимулирование и ингибирование роста растений и других процессов физиологически активными веществами сопровождается смещением соотношения фракций ДНК соответственно в сторону лабильной и стабильной [7, 8].

В связи с вышеуказанными представлениями о состоянии ДНК в клетке, и с тем, что стресс устойчивость растений связана с общей активацией генетических систем в клетке и физиологическими процессами в растительном организме, мы задались целью изучить активность синтеза нуклеиновых кислот и изменение фракционного состава ДНК при засухе у сортообразцов хлопчатника вида *G. barbadense* L., характеризующихся различной степенью стресс устойчивости.

Материалы и методы

Объектом исследований служили коллекционные образцы хлопчатника вида *G. barbadense* L., у которых была изучена физиологическая реакция и активность синтеза нуклеиновых кислот и фракционный состав ДНК при засухе.

В качестве показателей устойчивости растений к засухе использовался способ прорастания семян хлопчатника в растворах сахарозы, имитирующей засуху [10]. Физиологическая оценка степени устойчивости сортов хлопчатника к абиотическим стрессам проводилась по показателям стресс депрессии всхожести семян в растворе с осмотическим давлением в 7 атм.

Для изучения содержания нуклеиновых кислот и фракционного состава ДНК использовали метод ступенчатого воздействия на хроматин растворами разной ионной силы и факторами депротеинизации, что позволяет разделить клеточную ДНК на лабильную, стабильную и остаточную [11].

Данные анализов обрабатывались статистически [12].

Результаты и обсуждение

В первой серии исследований было проведено изучение всхожести семян сортов хлопчатника в условиях засухи, в результате чего было установлено, что при одинаковой напряженности экстремального фактора сорта одного и того же вида хлопчатника существенно отличаются амплитудой изменения физиологического пара-

метра. Это свидетельствует о различной чувствительности сортов хлопчатника к действию абиотического фактора среды, их различной устойчивости и степени адаптации.

Рычагом осуществления адаптационных перестроек является система координации метаболизма, контролируемая в конечном итоге центром генной регуляции ядерной ДНК, реализуемая через деятельность ферментативных систем и лимитируемая энергетическим потенциалом клетки и организмом в целом. В литературе имеются сведения, что абиотические стрессоры экспрессируют мультигенную систему [13]. Несколько минут пребывания организма в неблагоприятных условиях достаточно для перестройки генетического аппарата. В неблагоприятной ситуации быстрой ответной реакцией растений является экспрессия генов. Изучение экспрессии потенциальных генов защитной реакции у хлопчатника показало, что ее регуляция более выражена и наступает быстрее у устойчивого сорта [14].

Результаты изучения активности синтеза нуклеиновых кислот и фракционного состава ДНК у сортов хлопчатника с различной степенью устойчивости представлены в таблице.

Таблица

Показатели стресс-устойчивости, активности синтеза нуклеиновых кислот и фракционного состава ДНК у сортов хлопчатника в условиях засухи

№	Сорта	Стресс депрессия всхожести семян, %	РНК, мг % на сырую массу		ДНК, мг % на сырую массу		
			контроль	опыт	фракции ДНК	контроль	опыт
1.	AP-154	0	105,00 ± 4,35	141,31 ± 2,92	лабильная	4,274 ± 0,11	5,808 ± 0,08
					стабильная	7,209 ± 0,04	6,472 ± 0,06
					остаточная	1,224 ± 0,06	1,420 ± 0,02
					суммарная	12,707	13,700
2.	S-6002	0	109,48 ± 2,55	128,98 ± 1,44	лабильная	4,699 ± 0,02	5,515 ± 0,03
					стабильная	7,253 ± 0,07	7,900 ± 0,05
					остаточная	1,489 ± 0,05	1,596 ± 0,07
					суммарная	13,417	15,011
3.	C-6040-1	14,8	125,30 ± 2,60	111,87 ± 3,43	лабильная	5,905 ± 0,11	5,293 ± 0,15
					стабильная	8,406 ± 0,08	8,015 ± 0,15
					остаточная	2,500 ± 0,05	2,181 ± 0,08
					суммарная	16,811	15,489
4.	5904-1	36,3	120,15 ± 1,44	103,22 ± 1,77	лабильная	5,533 ± 0,03	4,797 ± 0,03
					стабильная	7,652 ± 0,08	8,201 ± 0,06
					остаточная	2,341 ± 0,03	1,968 ± 0,03
					суммарная	15,526	14,966

Из приведенных в таблице данных видно, что сорта хлопчатника AP-154 и S-6002 выделены как высокоустойчивые к засухе. У этих образцов отсутствует стресс депрессия физиологического показателя. В условиях засухи активность синтеза РНК у опытных растений этих образцов хлопчатника превышает контрольные растения на 34,6 % и 17,8 %, соответственно.

Совершенно иная картина отмечается у 2-х других сортов хлопчатника, у которых наблюдается снижение стресс-устойчивости к засухе и активность синтеза РНК в сравнении с контрольными растениями. Так, у сорта хлопчатника С-6040-1 (стресс депрессия физиологического параметра 14,8 %) снижение синтеза РНК в сравнении с контрольными растениями составило 17,8 %, у сорта 5904-1 (стресс депрессия физиологического параметра 36,3 %) – 14,1 %.

При засухе в листьях опытных растений стресс устойчивых сортов, в сравнении с контрольными растениями, увеличивается количество лабильной ДНК, в то время как количество стабильной ДНК уменьшается. Так, например, при засухе у сорта AP-154 увеличение доли лабильной ДНК составило 35,9 %, а процент стабильной ДНК уменьшается на 11 %. У сорта S-6002 эти показатели составили 17,4 % и 8,9 %, соответственно.

Несмотря на то, что содержание остаточной ДНК в общем количестве генома незначительно, однако есть предположение о том, что она является метаболически активной и играет роль в ускорении деления клетки. Увеличение остаточной ДНК при засухе сорта AP-154 составило 16,0 %, у сорта S-6002 – 7,2 %. Следует отметить, что, у изученных стресс устойчивых сортов в условиях засухи отмечается активация синтеза тотальной ДНК.

Повышение содержания лабильной ДНК и РНК у засухоустойчивых сортов при стрессе свидетельствует о том, у стресс устойчивых генотипов отмечается увеличение физиологической лабильности генетической системы, что свидетельствует об активации хромосомного аппарата. Очевидно, у стресс устойчивых образцов позитивное изменение в синтезе лабильной, остаточной ДНК и РНК свидетельствует о повышении функциональной активности генома, что, в свою очередь, обеспечивает ускорение синтети-

ческих процессов, в особенности синтеза белков и тем самым увеличивает устойчивость организма к стрессовым факторам.

Несколько иной характер изменений наблюдается по фракционному составу ДНК у засухоустойчивых сортов. Так, например, у опытных растений сорта С-6040-1, у которого стресс депрессия всхожести семян составила 14,8 %, количество лабильной ДНК уменьшилось на 10,4 %, количество стабильной ДНК увеличилось на 4,7 % в сравнении с контрольными растениями. У сорта 5904-1 снижение синтеза лабильной ДНК составило 13,3 %, в то время как активация синтеза стабильной ДНК составила 7,2 %.

Полученные данные свидетельствуют о том, что стрессовые факторы воздействуют на структуру и функциональную активность генома растений. Если это воздействие оказывает позитивное влияние на устойчивые к стрессу сорта, то на чувствительные генотипы они оказывают негативное влияние и являются причиной деградации нуклеиновых кислот, что приводит к ослаблению растений, снижению устойчивости и может привести даже к гибели растения.

Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что при действии засухи у засухоустойчивых сортов наблюдается активация синтеза РНК, увеличение лабильной и уменьшение количества стабильной ДНК. У изученных стресс устойчивых сортов отмечается активация тотальной ДНК. Полученные экспериментальные данные могут быть интерпретированы следующим образом. У стресс устойчивых образцов изменяется активность общего и локального синтеза ДНК, что может приводить к увеличению дозы отдельных структурных генов, некоторых фракций повторяющихся последовательностей. Эти события могут быть квалифицированы как частично геномные реорганизации. Описанные изменения в генетических системах клетки у устойчивых сортов приводит к интенсификации всех синтетических процессов, включая транскрипцию, трансляцию и экспрессию генов, активность ферментных систем и другие физиолого-биохимические и биофизические процессы, повышающие темпы метаболических реакций, направленных на усиление морфогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chaves M.M., Oliveira M.M. Mechanisms Underlying Plant Resilience to Water Deficits: Prospects for Water-Saving Agriculture // J. Exp. Bot. – 2004. – 55. – P. 2365–2384.
2. Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M.R. Heat tolerance in plants: An overview // Environ. Exp. Bot. – 2007 – 61. – P. 199–223.
3. Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. – М.: Наука, 2006. – 143 с.
4. Николаева М.К., Маевская С.Н., Шугаев А.Г., Бухов Н.Г. Влияние засухи на содержание хлорофилла и активность ферментов антиоксидантной системы в листьях трех сортов пшеницы, различающихся по продуктивности // Физиология растений. – 2010. – 57. – С. 94–102.
5. Рахманкулова З.Ф., Шуйская Е.В., Рогожникова Е.С. Влияние дефицита воды на функции митохондрий и полиморфизм ферментов дыхания у растений // Журнал общей биологии. – 2013. – 74. – С. 167–179.
6. Гончарова Э.Н. Эколого-генетическая и физиологическая основа плодоношения культивируемых растений // IV Международная научно-практическая конференция, Ульяновск, 2002. – 2002. – 1. – С. 166–169.
7. Конарев В.Г. Цитохимия и гистохимия растений. – М.: Высшая школа, 1966. – 320 с.
8. Конарев В.Г. Структура и функциональная активность хроматина растений // Клеточное ядро и его ультраструктуры. – М.: Наука, 1970. – С. 28–33.
9. Конарев В.Г. Белки, нуклеиновые кислоты и проблемы прикладной ботаники, генетики и селекции // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1973. – 52, № 1. – С. 5–28.
10. Методическое руководство «Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям» / под ред. Г.В. Удовенко. – Л., 1988. – 227 с.
11. Алексеев В.Г. Гетерогенность ДНК проростков пшеницы и активность генома // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1973. – 52, № 1. – С. 46–56.
12. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами стат. обработки результатов исслед.). – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
13. Kotak S., Larkindale J., Lee U., von Koskull-Döring P., Vierling E., Scharf K.D. Complexity of heat stress response in plants // Cur. Opin. Plant Biol. – 2007. – 10. – P. 310–316.
14. Cui Yunxing, Bell Alois A., Joost Oscar Expression of potential defence response genes in cotton // Physiol. and Mol. Plant Pathol. – 2000. – 56, N 1. – P. 25–31.

MAMMADOVA A.D., ALIYEV R.T.

Genetic Resources Institute of Natl. Akademika Sci. of Azerbaijan, Azerbaijan, 1106, Baku, Azadliq Ave., 155, e-mail:afet.m@mail.ru

THE EFFECT OF DROUGHT ON THE SYNTHESIS OF NUCLEIC ACIDS AND FRACTIONAL COMPOSITION OF DNA FROM COTTON VARIETIES, CHARACTERIZED BY VARYING DEGREES OF STRESS STABILITY

Aims. As cotton has the highest sensitivity during seed germination we held intra- and interspecific assessment of the resistance degree of cotton accessions according to germinating ability of seeds in some selected by us resistant and susceptible cotton accessions, the changes in the nucleic acid synthesis and fractional composition of DNA under drought stress was studied as well. **Methods.** Physiological evaluation of stress resistance of cotton accessions to drought has been carried out according to the stress-depression of germination of seeds in a solution of sucrose. The amount of nucleic acids and fractional composition of DNA were determined by V.G. Alekseev (1973). To study the fractional composition of DNA stepwise impact on chromatin with solutions of different ionic strength and its deproteinization were implemented which allowed to split the cellular DNA to free or weakly bound, functionally active (DNA labile); completely blocked with histones (stable DNA); firmly linked (residual DNA) DNA. **Results.** In drought conditions the activity of RNA synthesis in experimental samples of cotton 9732Э, 5010-V, S-6022 selected for physiological parameters as drought-resistant plants, exceeds the control by 10.0, 12.3 and 35.6 %, respectively in variety 9732I the increase of the proportion of labile DNA was 9.2 %, and the percentage of stable DNA decreases at the same level – 8.9 %. In 5010-V variety these indicators were 11.1 and 8.0 % and in S-6022 variety 34.9 and 1.4 %, respectively. **Conclusions.** It was found that because of the stress in drought resistant varieties activation of RNA synthesis, increase of labile and decrease of stable DNA was observed which indicates an increase of the physiological liability and functional activity of the genetic apparatus. In susceptible varieties a reduction in the synthesis of RNA and DNA and displacement of DNA fraction ratio towards the stable were noted.

Keywords: cotton, resistance, stress, drought, physiological parameters, nucleic acids.