

ВЗАИМОСВЯЗЬ МОРОЗОСТОЙКОСТИ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С СОДЕРЖАНИЕМ КАТИОНОВ МАГНИЯ В РНК*

В.К. ПЛОТНИКОВ, А.М. НАСОНОВ, Е.Е. ИВАНЕНКО,
Н.А. КУЗЕМБАЕВА, Г.И. БУКРЕЕВА, В.И. КАЛЕНИЧ

В условиях Советского Союза селекция на зимостойкость (морозостойкость) является основным условием для культуры озимой пшеницы... Вопросы методики изучения генетики зимостойкости имеют большое значение ввиду комплексности самого явления.

Н. И. Вавилов

Сорта озимой мягкой пшеницы Безостая 1 и Краснодарская 39 значительно различаются амплитудой молекулярно-физиологических реакций. Норма реакции изменения длины поли-А-хвоста мРНК и её стабильности (время жизни) у высокоморозостойкого сорта Краснодарская 39 намного превышает таковую среднеморозостойкого сорта Безостая 1 [4,6].

Особенности этих сортов способствовали обнаружению, изучению и описанию явления дифференциального распада мРНК *in vitro*, отражающего как генетические особенности, так и физиологическое состояние растений [4]. Дальнейшие исследования показали, что распад рибосомной РНК (рРНК) проростков пшеницы даже в условиях кратковременного мягкого щелочного гидролиза также детерминирован генотипом, особенностями физиологического состояния растений и коррелирует с фотопериодизмом и стрессоустойчивостью сортов злаков [2]. В ходе этих исследований был отмечен факт сортоспецифического выпадения осадков гидрата окиси магния ($Mg(OH)_2$), что мотивировало исследования содержания катионов магния в РНК озимой мягкой пшеницы методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии. Было

обнаружено, что содержание катионов магния варьирует в РНК в зависимости от генотипа и от условий окружающей среды и является, по сути, простейшим молекулярно-кинетическим маркером, позволяющим относительно просто количественно оценивать эффект взаимодействия генотип — среда [5,6].

Однако оставалось непонятным, как изменяется стабильность РНК при увеличении содержания катионов магния в её молекуле: возрастает или снижается? Этот вопрос важен не только в плане фундаментального исследования проблемы стабильности РНК, но и в плане понимания природы явления морозостойкости озимой мягкой пшеницы, так как была найдена тесная взаимосвязь между этим признаком и количеством катионов магния в зрелом зерне пшеницы [6]. В настоящей статье мы попытаемся проанализировать эту проблему на основе экспериментальных данных, полученных при исследовании пшеницы.

Материалы и методы

Исследования проводили на проростках и зерне ряда сортов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum L.*). Методы оценки количества РНК, про-

* Краснодарский НИИ сельского хозяйства имени П.П. Лукьяненко.

ращивания семян, выделения высокополимерной РНК в присутствии катионов магния и с переосаждением этиловым спиртом без добавления ацетата калия описаны ранее [2,6]. Актиномицин Д использовали в количестве 1 мг/30 мл бидистиллированной воды на ванночку (10 см x 20 см). Содержание катионов магния (Mg^{++}) в РНК и в золе зрелого зерна пшеницы определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии (Perkin Elmer, USA) по стандартной методике в присутствии катионов стронция.

Результаты и их обсуждение

Влияние ингибитора синтеза РНК — актиномицина Д — на содержание катионов магния (Mg^{++}) в рибосомной РНК из проростков пшеницы. Самым старым, но до сих пор широко применяющимся методом для оценки стабильности РНК в живой клетке (*in vivo*) является фармакологическая блокада активности генов (синтеза РНК) с последующим наблюдением скорости распада РНК. Чаще всего для этой цели используется антибиотик актиномицин Д, способный интеркалировать в пару оснований ДНК (между гуанином и цитозином) и тем самым прекращать деятельность ферментов ДНК-зависимых РНК-полимераз. Корректное применение актиномицина Д для остановки транскрипции возможно только в отсутствие света из-за наличия фотодинамического эффекта. Этот подход

мы применили для выяснения вопроса о соотношении содержания катионов магния (Mg^{++}) в рРНК и её стабильности.

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что оставшаяся после частичного распада рРНК четырехсуточных этиолированных проростков пшеницы имеет относительно высокое содержание катионов магния. Следовательно, чем выше содержание катионов магния в рРНК, тем она стабильнее (больше время жизни). Это вполне согласуется с литературными данными, свидетельствующими о том, что чем больше содержится магния в рРНК, тем активнее синтезируют белок (полифенилаланин) рибосомы из зародышей пшеницы в бесклеточной системе синтеза белка (*in vitro*) на искусственной матрице (поли-У) [8].

Интересно отметить, что в сравнении с трёхсуточными проростками РНК четырёхсуточных проростков у высокоморозостойкого сорта Зимородок содержала больше катионов магния, а у слабоморозостойкого сорта Русса — меньше. По-видимому, у первого сорта рост проростков сопровождается стабилизацией рРНК, а у второго — дестабилизацией. То есть степень стабильности рибосомной РНК клетки является важным компонентом молекулярной системы, определяющей морозостойкость сорта.

В настоящее время рибосому принято рассматривать как рибозим. Все имеющиеся экспериментальные дан-

Таблица 1

Влияние актиномицина Д на содержание катионов магния (Mg^{++}) в высокополимерной РНК этиолированных проростков озимой мягкой пшеницы, %

Сорт	Вариант	Номер эксперимента		
		1	2	3
Зимородок	3-суточные проростки	100	100	100
	4-суточные проростки	260	163	200
	4-суточные проростки, актиномицин Д	280	214	200
Русса	3-суточные проростки	100	100	100
	4-суточные проростки	67	56	38
	4-суточные проростки, актиномицин Д	89	82	50

ные свидетельствуют о том, что синтез полипептидной цепи белка в рибосоме катализируется рибосомной РНК, а не рибосомными белками. Идентифицирован каталитический участок большой рибосомной РНК, ответственный за катализ реакции трансэпептизации, посредством которой осуществляется наращивание полипептидной цепи в процессе трансляции [6].

Роль катионов магния (Mg^{++}) в определении стабильности РНК и морозостойкости озимой мягкой пшеницы. В проростках озимой мягкой пшеницы под влиянием закалывающей температуры ($4^{\circ}C$) стабилизируется поли-А-содержащая мРНК (чем выше морозостойкость сорта, тем длиннее поли-А-хвост и время жизни мРНК), но сортоспецифически дестабилизируется рРНК [4, 6]. Низкая положительная температура затрудняет поступление катионов магния в проростки по сравнению с контрольными, находившимися при $20^{\circ}C$ [5]. Следовательно, снижение содержания катионов магния коррелировало со стабилизацией мРНК, но с дестабилизацией рРНК. Подобная обратная зависимость была отмечена нами и при воздействии на созревающее зерно пшеницы биологически активного вещества (адаптогена) фуранол: стабилизация и дестабилизация мРНК и рРНК колебались в противоположных направлениях [3]. Эти факты требуют дополнительных фундаментальных исследований, так как являются принципиально важными для понимания биологического смысла оперативной связи во взаимоотношениях мРНК и рРНК. Возможно, стабилизация мРНК вызывает ускорение обмена рРНК, что необходимо для эффективного функционирования рибосом.

Важно отметить, что в ходе выделения РНК в присутствии катионов магния, но с осаждением РНК концентрированной солью ($LiCl$), происходит потеря 90% катионов магния РНК [5]. Предположительно, в РНК остаются только так называемые сайт-специфи-

ческие катионы магния, относительно прочно связанные молекулой РНК, в отличие от диффузных катионов магния, легко теряемых при выделении. Поэтому принципиально важными представляются данные о содержании катионов магния в золе проростков или зерна, отражающие общее содержание катионов магния, которые в значительной мере связаны с РНК.

По нашим данным сорта озимой мягкой пшеницы селекции Краснодарского НИИСХ, различающиеся морозостойкостью, закономерно и однонаправленно различаются по содержанию катионов магния как в РНК проростков, так и в золе проростков; как в РНК зрелого зерна, так и в самом зерне: чем выше содержание катионов магния, тем ниже морозостойкость сорта [6]. Это значительно упрощает методику оценки морозостойкости озимой мягкой пшеницы, сводя её только к определению содержания катионов магния в золе зрелого зерна.

В табл. 2 представлены данные о содержании катионов магния в зрелом зерне у сортов озимой мягкой пшеницы с различной морозостойкостью, выведенных в селекцентрах различных климатических зон. Оценка количества долгоживущей РНК в шроте зрелых семян нескольких десятков сортов озимой мягкой пшеницы модифицированным методом Шмидта и Тангаузера показала, что повышение морозостойкости сорта сопряжено с увеличением количества РНК в зрелом зерне. Наши данные позволяют предполагать, что стабильность мРНК и стабильность рРНК под влиянием катионов магния изменяется в противоположных направлениях: увеличение количества Mg^{++} приводит к стабилизации рРНК, но дестабилизирует мРНК. Таким образом, морозостойкость сортов озимой мягкой пшеницы прямо пропорциональна содержанию РНК в зрелом зерне и обратно пропорциональна содержанию катионов магния. Слабоморозостойкие сорта также могут иметь высокое содержание РНК в зрелом зер-

Содержание катионов магния (Mg^{**}) и РНК в зрелом зерне различных сортов озимой мягкой пшеницы, ранжированных по морозостойкости

Группы сортов, ранжированных по морозостойкости		Среднее значение Mg в золе, %	Среднее значение содержания РНК, мкг/г
<i>Высокая морозостойкость:</i>			
Зимородок	ПалПич	15,2±0,2	3,7±0,2
Московская 39	Девиз		
Станичная	Арфа		
Одесская 200	Зарница		
Крыжинка			
<i>Морозостойкость средняя и выше средней</i>			
Безостая 1	Русса	15,9±0,3	3,5±0,2
Buck Pafenque	Крошка		
Краснодарская 99	Дельта		
	Красота		
<i>Морозостойкость слабая и ниже средней</i>			
Петровчанка	Степнячка	17,8±0,3	3,6±0,3
Немчиновская 24	SG — RU 8069		
<i>Суперслабая морозостойкость</i>			
КК 185/91-2	Пегас	20,3±0,2	3,9±0,4
КК 737/92-2	7591-2		
SG-S 1787-01	Антониус		

не, но это наблюдается на фоне высокого содержания катионов магния. Выявленные особенности центральных элементов белоксинтезирующей системы являются основой для понимания молекулярных механизмов формирования морозостойкости озимой мягкой пшеницы и создания методов эффективной диагностики морозостойкости её сортов на основе дальнейших исследований количественного и качественного состава долгоживущей рРНК зрелого зерна.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилов Н.И. Генетика на службе социалистического земледелия // Избранные сочинения. М.: Колос, 1966. С. 41-42. —
2. Насонов А.И., Сметанин Д.В., Плотников В.К. Генетико-физиологическая предопределенность щелочного гидролиза РНК из проростков пшеницы / Сб. науч. тр. КНИИСХ. Краснодар, 2002. С. 122-128. —
3. Насонов А.И., Гаража В.В., Кузубаева Н.А., Ненько Н.И., Плотников В.К. Взаимоотношение стабильности матричной и

рибосомной РНК в созревающем зерне пшеницы под влиянием фуrolана // Тезисы научных докладов 10-й международной Пушкинской школы-конференции молодых ученых. Пушкино, 2006. — 4. Плотников В.К. Генетико-физиологическая детерминация распада мРНК злаков in vitro // Успехи современной биологии, 2003. Т. 123. Вып. 1. С. 98—109. — 5. Плотников В.К., Насонов А.И., Ладатко А.Г. Вариабельность содержания катионов магния (Mg^{++}) в РНК проростков озимой мягкой пшеницы // В сб.: Аминокислотное питание животных и проблема белковых ресурсов. Краснодар, 2005. С. 349—352. — 6. Плотников В.К., Насонов А.И., Кузубаева Н.А., Букреева Г.И., Каленич В.И., Беспалова Л.А. Особенности молекулярной физиологии озимой мягкой пшеницы сорта Безостая 1 // В сб.: Безостая 1 — 50 лет триумфа. Краснодар, 2005. С. 212-220. — 7. Спириг А.С. Биосинтез белков, мир РНК и происхождение жизни // Вестник Российской академии наук, 2001. Т. 71. № 4. С. 320-328. — 8. Sperrazza J.M., Spremulli L.L. // Nucleic Acids Research, 1983. V.II. N 9. P. 2665-2679.