

GLY-934 ОБЕСПЕЧИВАЕТ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РИКТОРА С SIN1.

(¹ Лаборатория молекулярной генетики НИИ проблем биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, ² The department of molecular and cellular oncology, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX)

mTOR (mammalian target of rapamycin) - важная киназа, находящаяся на пересечении сигнальных путей ростовых факторов и питательных веществ. Существовая в составе двух мультипротеиновых комплексов - mTORC1 и mTORC2 (mTOR complex 1/2) - данная киназа регулирует процессы клеточного роста и пролиферации. Нами установлено, что остаток Gly-934 одного из компонентов mTORC2 - риктора - играет ключевую роль в обеспечении его взаимодействия с белком Sin1.

mTOR - это центральная киназа консервированного у всех эукариот сигнального пути. В клетках mTOR обнаруживается в виде двух комплексов - mTORC1 и mTORC2 [1, 2]. mTOR комплекс 1 (mTORC1), состоящий из mTOR, раптора и mLST8 передает сигналы, полученные от ростовых факторов и питательных веществ, на модуляторы белкового синтеза S6K и 4EBP1.

Второй комплекс (mTORC2), помимо mTOR и mLST8, включает белки Sin1 и риктор. Комплекс mTORC2 предпочтительно фосфорилирует протеин киназы семейства AGC по сайтам гидрофобных мотивов, расположенных на С-конце [3]. Указанные особенности свойственны всем субстратам mTORC2, таким как Akt и PKC, а также SGK.

Известно, что комплекс mTORC2 образуется путем независимого объединения гетеродимеров риктор/Sin1 и mTOR/mLST8. Формирование тетрамера риктор/Sin1/mTOR/ mLST8 является необходимым минимальным «ядром», определяющим киназные свойства mTORC2 [4].

Две работы, вышедшие в 2009 году, сообщают об идентичных фенотипах нематод *C. elegans* с мутированным риктором [5, 6]. В генетических скринингах, нацеленных на идентификацию мутантов с измененным запасом липидов, обе группы обнаружили ряд мутаций в единственном у *C. elegans* гомологе гена риктора *riect-1*, приводящих к увеличению жировой массы, уменьшению размеров тела и укорачиванию продолжительности жизни.

В скрине, выполненном Soukas et al. [6], аллельные формы *mg450* и *mg451* гена *riect-1* содержали нонсенс мутации. Мутанты, изолированные Jones et al. [5], содержали ранний преждевременный стоп кодона в аллеле *ft7* и замену одной аминокислоты в аллеле *mg360*. Наблюдаемые фенотипы были реверсируемы трансгенной оверэкспрессией *riect-1* дикого типа и фенотипировались РНК-интерференцией *riect-1* и *lst-8*.

Эти данные указывают на то, что перечисленные фенотипические отклонения с большей вероятностью относятся к нарушению работы mTORC2, чем к mTOR-независимым функциям риктора.

Необходимо отметить, что нарушение функции mTORC2 в результате замены единственной аминокислоты в аллеле *mg360* является любопытным фактом и требует дальнейшего исследования. На данный момент известно, что мутация, приводящая к фенотипическим отклонениям у *C. elegans*, связана с заменой Gly-1120 на глутаминовую кислоту [5]. Отдельный интерес представляет выявление консервативных аминокислот риктора в участке мутации, связанной с фенотипическими отклонениями у нематод.

Материалы и методы

Сайт-направленный мутагенез риктора. Все нуклеотидные замены проводились на фрагменте 400-1400 риктора посредством ПЦР с использованием соответствующих праймеров.

По завершении амплификации наличие продуктов ПЦР требуемой длины проверялось методом агарозного гель-электрофореза. Наличие и отсутствие мутаций подтверждали секвенированием всей вставки. Все мутированные фрагменты субклонировали в полноразмерный риктор по сайтам рестрикции *PacI/AgeI*.

Культура клеток млекопитающих. Клетки HEK293T культивировали в среде DMEM с 10% ФБС, пенициллин/стрептомицином и 20 мМ L-глутамином в 37°C с 5% содержанием CO₂ в атмосфере. Плотность клеток позволяла свободное деление на протяжении всего эксперимента.

Трансфекция HEK293T. Для трансфекции 1×10⁶ клеток HEK293T высаживали на 6 см чашки в 3 мл среды DMEM с 10% ФБС за день до трансфекции. Трансфекцию клеток осуществляли методом кальциево-фосфатной преципитации: смешивали 1 мкг pRK5-тус-риктор и 400 нг pRK5-Sin1-V5 в dH₂O до конечного объема 175 мкл; к этому объему добавляли 200 мкл 2xHBSS (280 мМ NaCl, 10 мМ KCl, 1.5 мМ Na₂HPO₄, 12 мМ декстрозы, 50 мМ HEPES, pH 7.1) и тщательно перемешивали. К полученной смеси медленно, по каплям, добавляли 25 мкл 2М CaCl₂, перемешивая содержимое

пробирки носиком после каждой капли. Далее инкубировали смесь 30 мин при комнатной температуре для формирования преципитатов фосфата кальция и ДНК. После добавления полученного раствора ДНК и солей к НЕК293Т полученные преципитаты осаждались на монослой и поглощались клетками путем эндоцитоза. Питательную смесь меняли на следующий день. Лизис клеток проводили через 48 часов после трансфекции.

Лизис клеток и иммунопреципитация. Все чашки помещали на лед, удаляли среду, промывали клетки холодным PBS и добавляли холодный буфер для лизиса (40 mM HEPES (pH 7.5), 120 mM NaCl, 1 mM EDTA, 10 mM Na-пирофосфата, 10 mM Na-глицерофосфата, 50 mM NaF, 1% Triton X-100), содержащий набор ингибиторов протеаз (Roche). Объем буфера зависел от плотности клеточного слоя и диаметра чашки.

Клетки соскабливали с поверхности чашки продольными движениями пластмассового шпателя, ресуспендировали клетки пипетированием и переносили суспензию в пробирки. Для повышения эффективности лизиса собранный лизат инкубировали 20 мин при 4°C на ротаторе. Растворимые фракции клеточных лизатов изолировали центрифугированием при 16,000 × g в течение 15 мин при 4°C.

Для иммунопреципитации в очищенные лизаты, содержащие 1 мг тотального белка, вносили 4 мкг анти-мус антител с последующей инкубацией с ротацией в течение 90 мин при 4°C. Иммуноосаждение осуществляли 45 мкл 25% протеин G-агарозы (Pierce) (50% смолу смешивали с охлажденным PBS из расчета 1:1) в течение 1 ч при 4°C. По завершении инкубации осаждали смолу центрифугированием и удаляли супернатант. Смолу промывали четыре раза лизисным буфером. Остаточный объем буфера удаляли вакуумным отсосом через 25G иглу. К смоле добавляли 20 мкл 2X буфера Лэммли для образцов и кипятили 5 мин при 95°C. Полученные образцы белков разделялись SDS-PAAGE, переносились на PVDF мембраны и анализировались методом Вестерн блоттинга.

Сборка димера риктор/Sin1. 1×10⁶ клеток НЕК293Т высаживали на 6 см чашки. На следующий день клетки 50-60% конфлюентности трансфецировали 1 мкг плазмиды pRK5-мус-риктор и 400 нг pRK5-Sin1-V5 методом осаждения ДНК фосфатом кальция. Через 24 ч инкубации меняли среду на свежую. Лизис клеток и иммунопреципитацию димеров осуществляли на второй день.

Результаты и обсуждение

Для выявления консервативных участков в аминокислотных последовательностях риктора нами было проведено множественное выравнивание полипептидов риктора человека, мышей, дрожжей и нематод. На рисунке 1 представлен участок полипептидной цепи риктора с высокой степенью эволюционной гомологии, окружающий сайт замены G1120E. Как видно из рисунка, мутированный у *C. elegans* глицин в положении 1120 (Gly-1120), является эволюционно консервированным остатком, соответствующим глицину в положении 934 (Gly-934) у человека и мышей.

Rictor orthologs:		Gly-934	
I. <i>H. sapiens</i>	VRTPDLDKWEEIKKLLKASLWALGNIGSSNWGLNLLQEENVIPDI		952
II. <i>M. musculus</i>	VRTPDLDKWEDIKLLKASLWALGNIGSSNWGLNLLQEENVIPDI		952
III. <i>S. cerevisiae</i>	NNMATVENAKEIIDLKALWCVGFIGSTELGIGLLDNYSLVEDI		1178
IV. <i>C. elegans</i>	CKTGKC-----FEEIKASLLAVSSIGSTDGGFEILPAD-AVPVV		1137
		Gly-1120	

Рисунок 1 - Выравнивание ортологов риктора. Остаток Gly-1120 (Gly-934 у мышей и человека) консервирован среди эукариот (обведен красным пунктиром). I. *C. elegans* (F29C12.3), II. *H. sapiens* (AAS79796.1), III. *M. musculus* (NP_084444.3), IV. *S. cerevisiae* (DAA07754.1).

Роль мутации G934E в составе риктора в функционировании сигнальной системы mTORC2 до настоящего момента не изучена. Не анализировано влияние мутации G934E на сборку, а также киназную активность mTORC2.

В связи с этим для изучения роли мутации G934E в функционировании mTORC2 указанная аминокислотная замена была интродуцирована в кДНК риктора человека методом сайт-направленного мутагенеза. Также с целью изучения влияния типа аминокислот в положении 934 на работу комплекса mTORC2 была произведена замена Gly-934 на ряд других аминокислот (аспарагиновую кислоту, лизин, лейцин, глутамин), отличающихся своими электростатическими свойствами.

Как описано выше, для определения способности G934E-мутанта риктора связываться с Sin1 были созданы рекомбинантные конструкции с генами риктора и Sin1, клонированными в плазмидный вектор pRK5 в рамку считывания эпитопов мус и V5 соответственно (pRK5-myc-riCTOR и pRK5-Sin1-V5). Для изучения взаимодействия мутантного риктора с белком Sin1 указанные рекомбинантные конструкции ко-трансфецировались в клетки HEK293T.

Ко-трансфецированные рекомбинантами конструктами pRK5-myc-riCTOR и pRK5-Sin1-V5 клетки HEK293T инкубировали в среде DMEM с 10% ФБС течение 48 часов. По истечении срока инкубации клетки лизировались и уровень экспрессии генов риктора и Sin1 определялся с помощью иммуноблоттинга белковых экстрактов с применением моноклональных антител к эпитопам мус и V5. В качестве отрицательного контроля использовали лизаты нетрансфецированных клеток. Результаты этих экспериментов показаны на рисунке 2. Из рисунка видно, что при использовании для трансфекции равного количества кДНК (1x) риктора дикого и мутантного типов наблюдался низкий уровень экспрессии мутантной формы по сравнению с диким типом. В связи с этим в целях оптимизации экспрессии мутантного риктора количество его кДНК, использованной для трансфекции, было увеличено в два (2x), четыре (4x) и пять раз (5x). По мере увеличения количества кДНК мутантной формы риктора наблюдается усиление ее экспрессии. Эквивалентная дикому типу экспрессия G934E-риктора в HEK293T наблюдалась при использовании пятикратного (5x) количества кДНК.

Известно, что связанные риктор и Sin1 обуславливают взаимную стабильность [7]. Из рисунка 2 видно, что при низком уровне экспрессии мутантного риктора наблюдается одновременное понижение сигнала от Sin1. В связи с этим для приведения содержания Sin1 в клетках, трансфецированных мутантной формой риктора, к уровню Sin1 в клетках, трансфецированных риктором дикого типа, в отношении кДНК Sin1 были предприняты соответствующие оптимизационные меры.

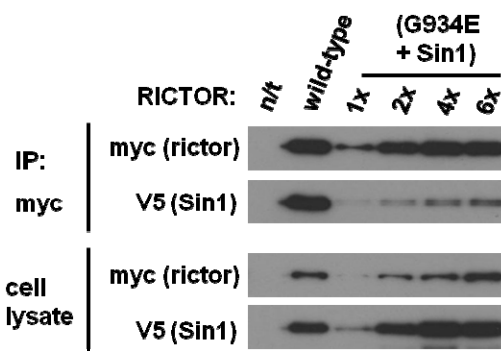


Рисунок 2 - Влияние мутации G934E на взаимодействие риктора с Sin1. 1x-5x – количество кДНК риктора и Sin1, использованное для трансфекции.

Количество кДНК Sin1 для трансфекции было увеличено в два (2x), четыре (4x), пять (5x) раз. Уже при 2x увеличении был достигнут уровень экспрессии положительного контроля, а при 4x наступало насыщение, то есть при дальнейшем увеличении количества кДНК Sin1 существенного повышения экспрессии не происходило.

Таким образом, с помощью увеличения количества кДНК мутантного риктора и Sin1, использованного для ко-трансфекции HEK293T, нами была оптимизирована их экспрессия до уровня положительного контроля.

Далее мы приступили непосредственно к изучению влияния глутаминовой кислоты в положении 934 в составе риктора человека на димеризацию последнего с белком Sin1.

Для исследования роли Gly-934 во взаимодействии риктора и Sin1 мы проводили иммунопреципитацию G934E-формы риктора из лизатов HEK293T, ко-экспрессирующих мутантный риктор и Sin1, при помощи моноклональных антител к эпитопу тэга мус. Как видно из рисунка мутантная форма риктора ко-осаждается со значительно меньшим количеством Sin1 по сравнению с контролем.

Полученные результаты указывают на то, что замена глицинового остатка в позиции 934 на глутаминовую кислоту в рикторе человека негативно влияет на способность последнего связываться с Sin1.

В результате множественного выравнивания кроме участка Gly-934 было обнаружено несколько других эволюционно консервированных аминокислот, в частности Leu-923 и Leu-943, для изучения

влияния на mTORC2 которых мы внедрили замены L923E и L934E в кДНК риктора человека (рисунок 1).

Какова роль этих остатков в формировании димера между риктором и Sin1? Для поиска ответа на данный вопрос консервированные остатки Leu-923 и Leu-943, отстоящие примерно на 10 аминокислот от Gly-934 в сторону N- и C-конца соответственно (см. рисунок 1), были заменены на отрицательно заряженные глутаминовые кислоты. Полученные мутантные формы кДНК-гена риктора были экспрессированы совместно с кДНК Sin1 в культуре НЕК293Т.

Иммуноблоттинг тотальных белковых экстрактов из клеток, трансфицированных кДНК мутантного риктора показал, что оба мутанта, равно как и мутант G934E, проявили низкий уровень экспрессии в НЕК293Т. Для выравнивания уровней экспрессии всех компонентов была произведена оптимизация экспрессии мутантов путем увеличения количества ДНК, используемого для трансфекции, в пять раз, что отражено на рисунке 3.

Результаты иммунопреципитации L923E- и L943E-форм риктора показали, что они, в отличие от мутанта G934E, оказались способны образовывать комплекс с Sin1. Было обнаружено лишь небольшое понижение качества формирования гетеродимера по сравнению с риктором дикого типа.

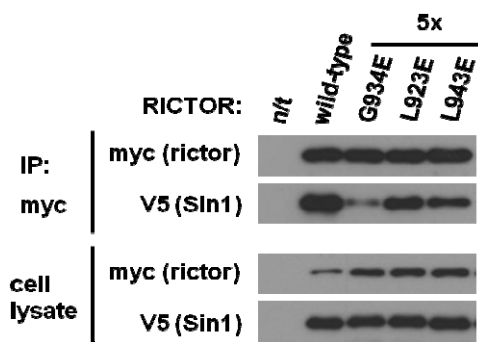


Рисунок 3 - Влияние замен L923E и L943E на взаимодействие риктора с Sin1. 5x – количество кДНК риктора и Sin1, использованное для трансфекции.

Три изученных до настоящего момента мутанта риктора (G934E, L923E, L943E) проявляли низкий уровень экспрессии. Известно, что точечные аминокислотные замены могут нарушать правильный фолдинг белков, дестабилизируя их и направляя по пути протеосомальной и/или лизосомальной деградации. Например, в случае мутантных рецепторов ЛПНП было показано, что замена единственной аминокислоты Cys-358 на тирозин приводит к нарушению пост-трансляционного созревания полипептидной цепи, усиливает лизосомальную деградацию рецептора и, в итоге, интерферирует с функциями поглощения ЛПНП клетками, приводя к гиперхолестеринемии. [8].

Результаты иммунопреципитации L923E- и L943E-форм риктора показали, что они, в отличие от мутанта G934E, оказались способны образовывать комплекс с Sin1. Было обнаружено лишь небольшое понижение качества формирования гетеродимера по сравнению с риктором дикого типа.

Таким образом, три нами изученных мутанта риктора (G934E, L923E, L943E) проявляли низкий уровень экспрессии. Показано, что замена незаряженного остатка Gly-934 на отрицательно заряженную глутаминовую кислоту препятствует связыванию риктора с Sin1, тогда как такая же замена в случае Leu-923 и Leu-943 не влияет на взаимодействие этих белков. Данные результаты указывают на то, что аминокислотный остаток Gly-934 играет исключительно важную роль в формировании комплекса риктор-Sin1.

Для дальнейшего исследования того, как мутация Gly-934 влияет на связывание риктора с Sin1, данный остаток был заменен на заряженные, полярные незаряженные (гидрофильные) и неполярные (гидрофобные) аминокислоты. В данном случае нас интересовало влияние аминокислот, отличающихся своими электростатическими свойствами, на формирование димера риктор/Sin1.

В качестве отрицательно заряженной аминокислоты нами была выбрана аспарагиновая кислота. В качестве положительно заряженной - лизин. Для полярной незаряженной - глутамин. Для неполярной - лейцин.

Электростатически мутация G934D представляет собой то же, что и G934E. Поэтому гипотетически данная замена будет обладать таким же эффектом на сборку риктор/Sin1. Лейцин, будучи неполярным, как и глицин, в положении 934 скорее всего будет повторять фенотип дикого

типа. Наибольший интерес представляют собой аминокислоты лизин и глутамин, влияние которых на димеризацию риктора с Sin1 с учетом имеющихся данных непредсказуемо.

При анализе иммуноблотов тотальных экстрактов клеток, трансфицированных кДНК риктора дикого типа и его мутантными формами, было обнаружено, что замена Gly-934 на кислотную аспарагиновую кислоту или основной лизин фенокопирует мутацию G934E в том плане, что уровень их экспрессии снижен, а для ее оптимизации мы в пять (5x) раз увеличили количество кДНК G934D- и G934K-мутантов риктора и Sin1 (рис. 4).

Иммунопреципитаты G934D- и G934K-мутантов риктора показали, что их взаимодействие с Sin1 ослаблено по сравнению с положительным контролем. Подобный эффект мутантов G934D и G934K говорит о том, что замена Gly-934 на заряженные аминокислоты препятствует связыванию риктора с Sin1. Следует отметить, что положительность и отрицательность заряда не играет в данном случае принципиального значения.

Замена Gly-934 на неполярный лейцин, как и было предположено выше, не влияла ни на экспрессию риктора, ни на формирование им гетеродимера с Sin1.

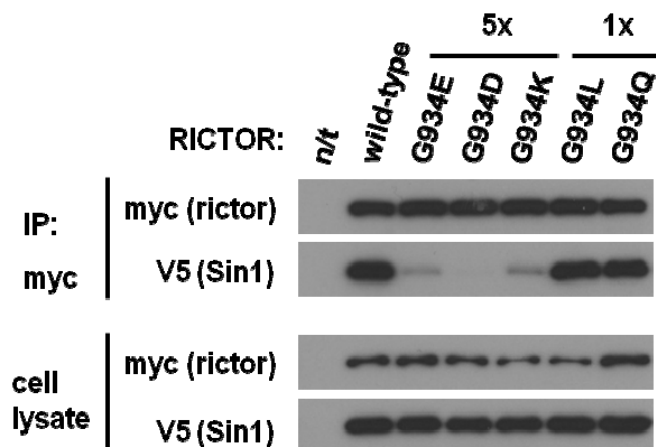


Рисунок 4 - Влияние типов аминокислот на взаимодействие риктор-Sin1. 1x, 5x – количество кДНК риктора и Sin1, использованное для трансфекции.

В случае же полярного незаряженного глутамина было показано, что мутация G934Q проявляется как фенотип дикого типа. Иммуноблоттинг экстрактов из G934Q-трансфицированных клеток показал экспрессию, эквивалентную положительному контролю. Иммунопреципитаты данной мутантной формы риктора со-осадили такое же количество Sin1, что и дикий тип.

Таким образом, приведенные данные показывают, что замена остатка Gly-934 на положительно или отрицательно заряженные, но не на незаряженные аминокислоты обладает значительным влиянием на риктор, нарушая его способность связываться с Sin1.

1. Loewith R., Jacinto E., Wullschleger S., Lorberg A., Crespo J.L., Bonenfant D., Oppliger W., Jenoe P., Hall M.N. Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control // *Mol Cell*. - 2002. - Vol.10. - P.457–468.

2. Chen C.-H., Shaikenov T., Aimbetov R., Peterson T.R., Bissenbaev A.K., Lee S.-W., Wu J., Lin H.-K., Sarbassov D.D. ER stress inhibits mTORC2 and Akt signaling through GSK-3 β -mediated phosphorylation of rictor // *Science Signaling*. - 2011. - Vol.4(161). - P.ra10.

3. Kannan N., Haste N., Taylor S.S., Neuwald A.F. The hallmark of AGC kinase functional divergence is its C-terminal tail, a cis-acting regulatory module // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 2007. - Vol.104(4). - P.1272-7.

4. Sarbassov D.D., Guertin D.A., Ali S.M., Sabatini D.M. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex // *Science*. - 2005. - Vol.307. - P.1098–1101.

5. Jones K.T., Greer E.R., Pearce D., Ashrafi K. Rictor/TORC2 regulates *Caenorhabditis elegans* fat storage, body size, and development through *sgk-1* // *PLoS Biol*. - 2009. - Vol.7. - P.0604-0615.

6. Soukas A.A., Kane E.A., Carr C.E., Melo J.A., Ruvkun G. Rictor/TORC2 regulates fat metabolism, feeding, growth, and life span in *Caenorhabditis elegans* // *Genes Dev*. - 2009. - Vol.23. - P.496-511.

7. Sarbassov D.D., Ali S.M., Kim D.H., Guertin D.A., Latek R.R., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Sabatini D.M. Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton // *Curr Biol*. - 2004. - Vol.14. - P.1296–1302.

8. Martín de Llano J.J., Fuertes G., Andreu E.J., Puig O., Chaves F.J., Soutar A.K., Armengod M.E., Knecht E. A single point mutation in the low-density lipoprotein receptor switches the degradation of its mature protein from the proteasome to the lysosome // *Int J Biochem Cell Biol*. - 2006. - Vol.38(8). - P.1340-51.

mTOR (mammalian target of rapamycin) is an important hub kinase of growth factor and nutrient signaling. Functioning as a part of two distinct multiprotein complexes - mTORC1 and mTORC2 (mTOR complexes 1 and 2) – it regulates cell growth and proliferation. We have established that Gly-934 residue of mTORC2's rictor plays a key role in maintaining rictor-Sin1 interaction.

mTOR өсу факторлары мен қоректік заттардың сигналдық жүйесінің тоғысында орналасқан және mTORC1 және mTORC2 мультипротеиндік кешендерінің құрамына кіретін негізгі киназа болып табылады. Осы жұмыста mTORC2 кешеніндегі риктордың Gly-934 қалдығы риктор-Sin1 әсерлесуінде басты рөл ойнайтындығын көрсеттік.

С.Ш. Асрандина, С.С.Кенжебаева, С.Д. Атабаева
ҚҰРАМЫНДА КҮКІРТІ БАР ӨСУДІ РЕТТЕГІШ СИНТЕТИКАЛЫҚ РЕГУЛЯТОРЛАРДЫҢ
БИДАЙДЫҢ ТҰЗДЫ ОРТАҒА ТӨЗІМДІЛІК ҚАСИЕТІНЕ ТИГІЗЕТІН ӘСЕРІ
(Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті)

Мақалада жаздық бидай «Жеңіс» сортының тұзды ортаға төзімділік қасиетіне құрамында күкірті бар өсуді реттегіш синтетикалық регуляторлардың (T-10, T-10', T-10'') тигізетін әсері көрсетілген.

Агроөндірістік кешеннің дамуы еліміздегі азық-түлік қауіпсіздікті қамтамасыз етіп, экспорттық потенциалды дамытады. Осыған орай, республикамыздың аграрлық саласының бетпердесін анықтайтын бидай өндірісінің маңызы ерекше. Соңғы жылдары Қазақстанда төменгі сапалы астық мөлшерінің жоғарылауы байқалады. Оның басты себептеріне дәнді дақылдардың өсіру технологияларын дұрыс сақтамауы, ауыспалы егістіктің бұзылуы, қараусыз қалған егістік жерлерде қауіпті зиянкестердің көбеюі және карантинді арам шөптердің таралуы болып табылады. Сондай-ақ, республикамыздың бүгінгі таңдағы экологиялық, яғни қолайсыз климаттық жағдайларының (қуаңшылық, құрқакшылық, нөсер жауын, жел, боран т.б.) күннен күнге өршуі де астық сапасына теріс әсерін тигізуде. Осыған байланысты ғалымдар мен мамандардың алдында ауылшаруашылық дақылдардың қолайсыз факторларға толерантты түрлерін іздестіру; биологиялық төзімді түрлерінің физиологиялық, генетикалық және эпигенетикалық қасиеттерін терең зерттеу; молекулярлық және гендік инженерия жетістіктерін қолданып, белгілі бір факторға төзімді бидайдың жаңа сорттарын алу міндеттері қойылған.

Бүгінгі таңда ауылшаруашылық практикасында өсімдіктердің өсіп дамуына әсер ететін физиологиялық ырықты заттардың, яғни өсу регуляторлардың маңызды роль атқаратындығы айқындалған. Бұл өсу регуляторлардың өсімдіктердің өсіп-даму процестеріне қолайлы әсер ететіндігімен түсіндіріледі. Кәзіргі таңдағы ауылшаруашылық ғылым саласында табиғаты фитогормондарға жатпайтын өсу регуляторлардың жаппай ашылуы орын алуда. Оның айғағы ретінде соңғы жылдары үлкен масштабта жүргізілген зерттеу жұмыстарының нәтижесінде химиялық жолмен синтезделіп алынған, өсімдікке көп жақты әсер ететін, табиғаты әр түрлі биологиялық ырықты өсу регуляторлары (эпин, крезацин, кавказ, эмистим т.б.) синтезделіп алынды. Бірқатар ТМД және шетел ғалымдары мен мамандардың жүргізіп отырған ізденістері нәтижесінде өсімдік шаруашылығында әр түрлі культуралардың өнімділігін жоғарылату және сыртқы ортаның қолайсыз (абиотикалық, биотикалық) факторларына төзімділігін арттыру мақсатында өсу регуляторларды қолдану мүмкіндігі мен олардың тиімділігі жан-жақты көрсетілген [1-5]. Әйтсе де, бүгінгі таңда өсу регуляторлардың өсімдікке тигізетін физиологиялық әсерлердің механизмдері мен заңдылықтары толық зерттелмеген әрі бұл проблема төңірегінде әлі де болса терең зерттеулерді талап етеді.

Біздің зерттеу жұмысымыздың мақсаты бидай «Жеңіс» сортының тұзды ортаға төзімділік қасиетіне құрамында күкірті бар өсуді реттегіш синтетикалық регуляторлардың (T-10, T-10', T-10'') тигізетін әсерін зерттеу болып табылды.

Зерттеу әдістері мен материалдар

Зерттеу нысаны ретінде жаздық бидай «Жеңіс» сорты алынды. Бидайдың өну белсенділігін анықтау үшін тұқымдар Петри табақшаларында, температурасы 20-22⁰С қараңғы термостатта 3-5 күн бойы өсірілді. Өскіндер арнайы кюветаларға көшіріліп, температурасы 23-25⁰С жарық бөлмеде өсірілді.

Зерттеу жұмысында бақылау варианты ретінде 0,1 μM CaSO₄ ерітіндісі алынды. Бидайдың тұзға төзімділігіне синтетикалық өсу регуляторлардың (T-10, T-10', T-10'') тигізетін әсерін анықтау мақсатында олардың төмендегідей концентрациялары алынды: 0,001%; 0,0001%; 0,00001%. Тұзды ортаны тудыру үшін NaCl 0,6%; 1,0% және 1,2 % ерітінділері қолданылды. Бидайдың өсу белсенділігін анықтау үшін 12 күндік өскіндер алынды.

Зерттеу нәтижелері.

Зерттеу нәтижесінде бидайдың өну қарқыны құрамында күкірті бар өсуді реттегіш синтетикалық регуляторлардың (T-10, T-10', T-10'') табиғаты мен концентрацияларынан тәуелді болды. Бақылау вариантына қарағанда 0,0001% T-10 және 0,00001% T-10'' өсуді реттегіш синтетикалық регуляторлар бидайдың өну қарқынын біршама (6,6 -13,3%) арттыратыны айқындалды. Өсуді реттегіш синтетикалық