

III Международный симпозиум

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ
РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМА РАСТЕНИЙ**

Школа молодых учёных

**РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА
В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ**

Екатеринбург, 22–28 августа 2021



The III International Symposium

**MOLECULAR ASPECTS
OF PLANT REDOX METABOLISM**

The School for Young Scientists

**THE ROLE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES
IN PLANT LIFE**

Ekaterinburg, 22–28 August 2021

Организаторы



ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»
620002 Екатеринбург, Мира, 19
contact@urfu.ru urfu.ru



Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН
420111 Казань, Лобачевского, 2/31
kibmail@kibb.knc.ru
kibb.knc.ru

Спонсоры Симпозиума

Золотой спонсор:



ООО «Компания Хеликон»
121374 Москва, Кутузовский проспект, 88
mail@helicon.ru
helicon.ru

Бронзовый спонсор:



ООО «Диаэм»
129345 Москва, Магаданская, 7/3
info@dia-m.ru
dia-m.ru

Отделение биологических наук РАН
Общество физиологов растений России
ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет
имени первого Президента России Б. Н. Ельцина»
Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН

**III Международный симпозиум
«Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений»**

**Школа молодых учёных
«Роль активных форм кислорода в жизни растений»**

(22–28 августа 2021 года, Екатеринбург, Россия)

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

Екатеринбург
ИЗДАТЕЛЬСТВО АМБ
2021

УДК 581.1
ББК 28.57

III Международный симпозиум «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений». Школа молодых учёных «Роль активных форм кислорода в жизни растений»: материалы докладов (22–28 августа 2021 г., Екатеринбург, Россия) / Под ред. М. Г. Малевой. – Екатеринбург : ИЗДАТЕЛЬСТВО АМБ, 2021. – 164 с.

ISBN 978-5-6046900-2-4

Материалы докладов III Международного симпозиума «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и Школы молодых учёных «Роль активных форм кислорода в жизни растений» (22–28 августа 2021 г., Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия) включают доклады, представленные в смешанном формате *online* и *offline* учеными из более чем 30 городов Российской Федерации, а также из Беларуси, Польши, Южной Африки и Индии. Рассмотрены современные тенденции и достижения в области редокс-метаболизма растений, функционирования отдельных редокс-систем, их взаимодействие с сигнальными системами клеток в норме и при стрессе, в том числе, вызванном техногенной деятельностью человека. Сборник будет интересен специалистам-биологам, биохимикам, биотехнологам, а также студентам вузов биологических, химических, сельскохозяйственных направлений.

Публикации изложены в авторской редакции с минимальными техническими исправлениями.

Издание выпущено при финансовой поддержке спонсоров симпозиума – ООО «Компания Хеликон» и ООО «Диаэм».

УДК 581.1
ББК 28.57

ISBN 978-5-6046900-2-4

Russian Academy of Sciences, Department of Biological Sciences
Russian Society of Plant Physiologists
Ural Federal University named after the First President of Russia B. N. Yeltsin
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC KazSC of RAS

The III International Symposium
“Molecular Aspects of Plant Redox Metabolism”
The School for Young Scientists
“The Role of Reactive Oxygen Species in Plant Life”
(August 22–28, 2021, Ekaterinburg, Russia)

PROCEEDINGS

Ekaterinburg
AMB Publishing
2021

УДК 581.1
ББК 28.57

The III International Symposium “Molecular Aspects of Plant Redox Metabolism”. The School for Young Scientists “The Role of Reactive Oxygen Species in Plant Life”: Proceedings (August 22–28, 2021, Ekaterinburg, Russia) / Ed. by M. G. Maleva. – Ekaterinburg : AMB Publishing, 2021. – 164 p.

ISBN 978-5-6046900-2-4

Proceedings of the III International Symposium “Molecular Aspects of Plant Redox Metabolism” and the School for Young Scientists “The Role of Reactive Oxygen Species in Plant Life” (August 22–28, 2021, Ekaterinburg, Russia), include reports presented in the mixed *online* and *offline* format by scientists from more than 30 cities of the Russian Federation, as well as from Belarus, Poland, South Africa and India. The functioning of individual redox systems, their interactions with the signaling systems of cells in health and under stress, in particular caused by anthropogenic activity, are considered. The Proceedings will be of interest to biologists, biochemists, and biotechnologists, as well as students of biological, chemical and agricultural specialties.

The publications are presented in the author's edition with minimal technical corrections.

Published at the financial support of the symposium sponsors – Helicon Company LLC and Dia-m Company LLC.

УДК 581.1
ББК 28.57

ISBN 978-5-6046900-2-4

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие.....	12
Introduction	12
Пленарные лекторы.....	13
Материалы докладов.....	17
Beckett R. P., Mkhize K. W. G., Minibayeva F. V.	
Photoprotection and signalling in lichens.....	18
Bilova T., Kim A., Popova V., Lukasheva E., Dorn M., Mamontova T., Tsarev A., Mavropulo-Stolyarenko G., Chekina A., Romanovskaya E., Osmolovskaya N., Demchenko K., Frolova N., Ihling C., Tsyganov V., Matamoros M., Sinz A., Wessjohann L. A., Zhukov V., Frolov A.	
Analysis of age-related changes in legume root nodule proteome: an integrated multi-omics approach	20
Bruno L. B., Tripti, Kumar A., Rajkumar M.	
Effect of plant growth-promoting bacteria on <i>Zea mays</i> growth, photosynthetic and antioxidant response in chromium contaminated soils under drought stress	22
Bureiko K., Bilova T., Gorbach D., Tsarev A., Chasov A., Lukasheva E., Dorn M., Balcke G. U., Frolov A., Minibayeva F.	
Integrated metabolomics and proteomics approach for analysis of desiccation tolerance in moss (<i>Dicranum scoparium</i>)	24
Cherevatskaya M. A., Kusnetzova A. V., Gorbach D. P., Kysel E. V., Frolova N. V., Bilova T. E., Frolov A. A., Medvedev S. S., Smolikova G. N.	
Biochemical aspects of redox metabolism in germinating <i>Pisum sativum</i> L. seeds related to the loss of desiccation tolerance	26
Danko K. V., Lukasheva E. M., Zgoda V. G., Frolov A. A.	
Comparison of the effectiveness of different strategies of limited proteolysis for redox proteome investigation	28
Darkazanli M., Kiseleva I. S., Sinenko O. C.	
Endophytic bacteria (<i>Bacillus subtilis</i> and <i>Methylobacterium</i> sp.) and their possible role in barley	30
Demidchik V. V., Makavitskaya M. A., Gorbach D. P., Hryvusevich P. V., Navaselsky I. Y., Talkachova Y. V., Lazerka N. V., Charnysh M. A., Lukasheva E. V., Yu M., Mackievic V. S., Viatoshkin A. A., Samokhina V. V., Smolich I. I., Frolov F. A., Pshybytko N. L., Sokolik A. I.	
Exogenous ascorbate as signalling and regulatory agent in higher plants.....	32
Ermoshin A. A., Kiseleva I. S.	
Antioxidant characteristics of licorice extracts.....	34
Frolova N., Soboleva A., Nguyen V. D., Kim A., Ihling Ch., Eisenschmidt-Bönn D., Mamontova T., Herfurth U. M., Wessjohann L. A., Andrea Sinz A., Birkemeyer C., Frolov A.	
Study of the glycation potential of sugars in an <i>in vitro</i> model system.....	36

Garipova S. R., Markova O. V., Lastochkina O. V., Shayakhmetova A. S., Garshina D. Yu., Iksanova M. A., Fedorova K. A., Dedova M. A., Pusenкова L. I.	
Proline and MDA in inoculated bean plants as markers of the efficiency of symbiosis with endophytic bacteria.....	38
Gorbach D. P., Lazerka N. V., Frolova N. V., Vaitsiakhovich M. A., Charnysh M. A., Lukasheva E. V., Mackievic V. S., Viatoshkin A. A., Samokhina V. V., Min Yu, Frolov A. A., Demidchik V. V.	
Proteome changes accompanying oxidative stress induced by hydrogen peroxide and hydroxyl radicals in <i>Arabidopsis thaliana</i>	40
Gorina S. S., Mukhtarova L. S., Toporkova Y. Y., Grechkin A. N.	
Cytochromes CYP74 and catalases involved in the biosynthesis of oxylipins	42
Gruszecki W. I., Zubik-Duda M., Luchowski R., Grudzinski W., Maksim M., Nosalewicz A.	
Photoprotective strategies of a chloroplast	44
Hanaka A., Nowak A., Ozimek E., Dresler S., Plak A., Jaroszuk-Ścisel J., Zagórski P., Reszczyńska E.	
Physiological response and the antioxidant status of <i>Phaseolus coccineus</i> under bacterial strain and exogenous copper	45
Kanwugu O. N., Glukhareva T. V.	
Production of carotenoids in algae and higher plants: an oxidative stress response mechanism	47
Kuznetsova A., Schumilina J., Dynasty E., Vasco Vidal A., Soboleva A., Westermann B., Frolov A.	
The influence of exogenous advanced glycation end products on the primary metabolome of the culture of <i>Rhizobium leguminosarum</i>	49
Kysil E. V., Orlova A. A., Laub A., Francioso A., Povydysh M. N., Mosca L., Wessjohann L. A., Frolov A. A.	
Antioxidant properties of phenolics isolated from green parts of <i>Geum rivale</i>	50
Leonova T., Antonova K., Soboleva A., Tsarev A., Dinastiia E., Glomb M. A., Henning Ch., Smolikova G., Medvedev S., Bilova T., Wessjohann L. A., Frolov A.	
Effects of short-term drought on metabolism and nutritional properties of pea (<i>Pisum sativum</i> L.) seeds.....	52
Lukasheva E. M., Frolova N. V., Danko K. V., Tsarev A. A., Lemesheva V. S., Bilova T. E., Ihling C., Sinz A., Tarakhovskaya E. R., Frolov A. A.	
Redox proteome of different functional zones of <i>Fucus vesiculosus</i> thalli.....	54
Lutskiy E. O., Mishko A. E., Sundyreva M. A.	
Impact of microorganisms priming on oxidative processes and antioxidant defence system of grapes infected with downy mildew.....	56
Onele A. O., Mazina A. B., Leksin I. Y., Chasov A. V., Minibayeva F. V.	
Class III peroxidase genes in the moss <i>Dicranum scoparium</i> : identification and analysis of expression in response to abiotic stresses.....	58

Osmolovskaya N. G., Vu V. D., Bilova T. E., Kuchaeva L. N., Tarakhovskaya E. R., Shumilina Yu. S., Frolov A. A.	
Redox modifications of organic acid metabolism in plant responses to the stress effect of zinc and cadmium	60
Rakhmatullina D. F., Ponomareva A. A., Mazina A. B., Minibayeva F. V.	
Mdivi-1, an inhibitor of dynamine gtpases, influences the mitochondrial morphology, redox and energy states of wheat roots.....	62
Soboleva A., Frolova N., Bureiko K., Shumilina J., Balcke G. U., Zhukov V. A., Igor A., Tikhonovich I. A., Birkemeyer C., Frolov A.	
Drought-related changes in carbonyl metabolome of pea root nodules	64
Strzalka K.	
Role of plastid-derived prenyl lipids in oxidative stress in plants.....	66
Tripti, Kumar A., Voropaeva O., Maleva M., Panikovskaya K., Borisova G., Bruno L. B., Rajkumar M.	
Redox-reactions of sunflower inoculated with plant growth promoting endophyte <i>Pseudomonas lurida</i> strain EOO26 under copper and nickel stress.....	67
Veselova S. V., Nuzhnaya T. V., Burkhanova G. F., Rummyantsev S. D., Maksimov I. V.	
Necrotrophic effectors SnTox of <i>Stagonospora nodorum</i> (Berk.) manipulate the redox metabolism of the host plant to hijack its defense pathways	69
Yarullina L. G., Tsvetkov V. O., Maksutova V. O., Burkhanova G. F., Cherepanova E. A., Zaikina E. A., Sorokan A. V., Kalatskaya J. N.	
Redox-mediated changes in the proteome of potato leaves upon treatment with bacteria of the genus <i>Bacillus</i> and immunomodulators under stress conditions.....	71
Абдрахимова Й. Р., Абдрахимов Ф. А.	
Палсинг-активность митохондрий зависит от их мобильности.....	73
Авальбаев А. М., Аллагулова Ч. Р., Лубянова А. Р., Безрукова М. В., Масленникова Д. Р., Юлдашев Р. А., Плотников А. А., Федорова К. А., Шакирова Ф. М.	
Защитное действие оксида азота на физиолого-биохимические параметры и целостность мембранных структур растений пшеницы к повреждающему действию засухи.....	75
Андросова В. И., Терехова Е. Н., Солодянкин П. А.	
Активность каталазы и супероксиддисмутазы в талломах цианолишайника <i>Peltigera praetextata</i> на разных стадиях онтогенеза	77
Арисова А. К., Еремченко О. З., Семенова В. А.	
Воздействие NaCl-засоления и щелочности на содержание аскорбиновой кислоты в кресс-салате	79

Батова Ю. В., Казнина Н. М., Репкина Н. С., Титов А. Ф. Влияние недостатка и избытка цинка на экспрессию гена <i>HvCAT2</i> , активность каталазы и окислительные процессы у ячменя.....	81
Безрукова М. В., Лубянова А. Р. Роль регуляции редокс-метаболизма в формировании засухоустойчивости сортов пшеницы с различной чувствительностью к обезвоживанию	83
Богданова Е. С., Кавеленова Л. М., Нестеров В. Н., Кузовенко О. А., Сарварова Р. Р., Табаленкова Г. Н., Розенцвет О. А. Взаимосвязь редокс-метаболизма и структуры растений кальцефитов.....	85
Валитова Ю. Н., Ренкова А. Г., Хабибрахманова В. Р., Мухитова Ф. К., Рахматуллина Д. Ф., Викторова Л. В., Галеева Е. И., Трифонова Т. В., Пономарева А. А., Минибаева Ф. В. Стигмастерин – стрессовый стерин растений.....	87
Викторова Л. В., Галеева Е. И., Минибаева Ф. В. Активность лакказ и тирозиназ в немеланизированных и меланизированных лишайниках.....	89
Вильянен Д. В., Козулева М. А., Найдов И. А., Борисова-Мубаракшина М. М., Иванов Б. Н. Исследование окисления пула пластохинона в условиях образования супероксидного анион-радикала мембранными компонентами фотосистемы I высших растений	91
Гармаш Е. В. Роль альтернативной оксидазы в регуляции энергетического и редокс-баланса растений	93
Гудилина А. С., Тугбаева А. С., Ермошин А. А., Киселева И. С. Активность апопластных и цитозольных пероксидаз в проростках циннии при засолении	95
Гурьянов О. П., Хабибрахманова В. Р., Хайруллина А. Ф., Рассабина А. Е., Шелякин М. А., Минибаева Ф. В. Изменения пигментного состава в лишайнике <i>Lobaria pulmonaria</i> при УФ-воздействии.....	97
Емельянов В. В. Окислительный стресс в растениях при действии дефицита кислорода и последующей реаэрации.....	99
Жигачева И. В., Крикунова Н. И., Генерозова И. П. Функциональное состояние митохондрий проростков гороха в условиях недостаточного увлажнения и обработки тетранитрозильным комплексом железа с тиосульфатными лигандами	101
Зюбанова Т. И., Минаева О. М., Акимова Е. Е., Терещенко Н. Н. Влияние бактеризации семян пшеницы <i>Pseudomonas extremorientalis</i> PhS1 на активность пероксидаз в моделируемых условиях пониженных температур.....	103
Киселева И. С. Урал индустриальный: как выживают растения	105

Козулева М. А.

Генерация супероксидного радикала в хлоропластах: фотосистема I, пул пластохинона, цитохромный комплекс? 107

Королёв К. П.

Межсортные различия по содержанию хлорофилла в листьях растений *Linum usitatissimum* L. при действии стресс-фактора 109

Кузнецова В. А., Блинова А. А., Иваченко Л. Е.

Способность проантоцианидинов повышать устойчивость растений сои к биотическому стрессу 111

Лексин И. Ю., Шелякин М. А., Минибаева Ф. В.

УФ-индуцированный синтез меланина в лишайнике *Lobaria pulmonaria*: идентификация ключевых генов и транскриптомный анализ 113

Любушкина И. В., Федяева А. В., Степанов А. В., Грабельных О. И.

Высокие температуры вызывают образование АФК и нарушение дыхания в клетках суспензионной культуры *Saccharum officinarum* 115

Мазина А. Б., Дмитриева С. А., Пономарева А. А., Рахматуллина Д. Ф., Минибаева Ф. В.

Спермин-индуцированная аутофагия в корнях *Triticum aestivum* 117

Максимов И. В.

Активные формы кислорода в защите растений от биотического стресса 119

Малева М. Г., Чукина Н. В., Борисова Г. Г., Филимонова Е. И., Новиков П. Е.,**Елькина А. В., Климова В. Н.**

Содержание фенольных соединений в листьях *Platanthera bifolia* из естественной и трансформированных экосистем на разных стадиях развития орхидеи 121

Минибаева Ф. В., Бекетт Р. П.

Меланины: темная сторона редокс-метаболизма 123

Миронов К. С., Федурев П. В., Лось Д. А.

Редокс регуляция экспрессии генов у цианобактерий 125

Мшенская Н. С., Синицына Ю. В., Кальясова Е. А.

Влияние электромагнитных полей шумановского диапазона на компоненты редокс-метаболизма растений пшеницы и гороха 127

Новикова Г. В., Мошков И. Е.

Этилен: маленькая молекула – большие вопросы 129

Пшибытко Н. Л., Крук Ю., Стржалка К., Демидчик В. В.

Редокс-состояние переносчиков электронов в хлоропластах при тепловом стрессе 130

Рассабина А. Е., Хабибрахманова В. Р., Бекетт Р. П., Минибаева Ф. В. Физико-химические свойства и биологическая активность меланина лишайника <i>Leptogium furfuraceum</i>	132
Ренкова А. Г., Хабибрахманова В. Р., Мухитова Ф. К., Валитова Ю. Н., Минибаева Ф. В. Стериновый профиль мха <i>Hylocomium splendens</i> : идентификация, изменения в стрессовых условиях и антиоксидантный потенциал	134
Романюк Д. А., Пузанский Р. К., Емельянов В. В., Шишова М. Ф. Окисление ауксина при нарушении рецепции	136
Силина Е. В., Головки Т. К. Влияние условий обитания на активность ферментов и содержание метаболитов аскорбат- глутатионового цикла в листьях <i>Plantago media</i>	138
Скрышник Л. Н., Масленников П. В., Федурев П. В., Пунгин А. В., Белов Н. С. Редокс-изменения в коре различных видов деревьев при поражении омелой белой (<i>Viscum album</i> L.)	140
Сорокань А. В., Бурханова Г. Ф., Благова Д. К., Максимов И. В. Активные формы кислорода во взаимодействии растений картофеля с эндофитными бактериями рода <i>Bacillus</i>	142
Тугбаева А. С., Ермошин А. А., Киселева И. С., Вируянган Х. Активность пероксидаз III класса в условиях последствия ионов меди в растениях <i>Nicotiana tabacum</i>	144
Федурев П. В., Пунгин А. В., Рябова А. В., Токупова Э. В., Скрышник Л. Н., Масленников П. В. Субстратное стимулирование PAL как подход к интенсификации накопления фенольных антиоксидантов в растениях <i>Triticum aestivum</i>	146
Федяев В. В., Хаматдинова Г. И., Сигова К. М., Гарипова М. И., Фархутдинов Р. Г. Влияние высоких концентраций соединений кобальта на редокс-метаболизм пшеницы	148
Хабибрахманова В. Р., Гурьянов О. П., Ренкова А. Г., Валитова Ю. Н., Минибаева Ф. В. Сравнительная оценка антиоксидантного потенциала вторичных метаболитов мхов	150
Холопцева Е. С., Игнатенко А. А., Таланова В. В. Участие фотодыхания в адаптации проростков пшеницы к низкой температуре	152
Чукина Н. В., Климова В. Н., Елькина А. В. Прооксидантные и антиоксидантные реакции <i>Pinus sylvestris</i> L. на зольных субстратах	154
Шелякин М. А., Силина Е. В., Головки Т. К. Влияние УФ-В радиации на компоненты антиоксидантной системы лишайников <i>Peltigera aphthosa</i> и <i>Peltigera rufescens</i>	156

Шималина Н. С., Орехова Н. А., Позолотина В. Н.

Сравнительная оценка про- и антиоксидантного статуса семенного потомства *Plantago major* L. из зон радиоактивного и химического загрязнения 158

Ширяев Г. И., Борисова Г. Г., Щукина Д. А., Чукина Н. В., Собенин А. В., Малева М. Г.

Редокс-реакции *Hydrocharis morsus-ranae* L. в условиях техногенной нагрузки 160

**Шумилина Ю. С., Дидио А. В., Билова Т. Е., Кирпичникова А. А., Вессйохан Л. А.,
Шишова М. Ф., Фролов А. А.**

Посттрансляционные модификации белков плазматической мембраны продуктами перекисного окисления липидов как эффект влияния засухи на *Brassica napus*..... 162

ПРЕДИСЛОВИЕ

Одним из парадоксов жизни на нашей планете является то, что кислород – молекула, поддерживающая аэробную жизнь и служащая основой для энергетического метаболизма, вовлечена во многие дегенеративные процессы и болезни. Высокая окислительная способность кислорода, необходимая для его функционирования в дыхательной системе, способствует образованию токсичных кислородных радикалов, или активных форм кислорода (АФК). Вместе с тем, АФК являются ключевыми сигнальными молекулами, вовлеченными в регуляцию метаболических процессов и защитных реакций живых клеток. Знание о молекулярных механизмах и физиологических последствиях окислительно-восстановительных превращений высокомолекулярных соединений растительной клетки является фундаментальной основой для направленного изменения процессов роста и иммунитета растений. В настоящем сборнике представлены материалы III Международного симпозиума «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и Школы молодых учёных «Роль активных форм кислорода в жизни растений», проходящих 22–28 августа 2021 в Уральском федеральном университете, Екатеринбург, Россия. В симпозиуме приняли участие в смешанном формате *online* и *offline* ученые из более чем 30 городов Российской Федерации, а также из Беларуси, Польши, Южной Африки, Индии. Сборник будет интересен специалистам-биологам, химикам, биотехнологам, студентам вузов биологических, химических, сельскохозяйственных направлений.

От имени Программного комитета,

Сопредседатели симпозиума
И. С. Киселева, к.б.н., доцент
Ф. В. Минибаева, д.б.н.

INTRODUCTION

One of the paradoxes of life on our planet is the fact that oxygen, the molecule, which supports aerobic life and serves as a basis of energy metabolism, is involved in various degenerative processes and diseases. The high oxidative capacity of oxygen needed for its functioning in respiration can facilitate the formation of toxic oxygen radicals, or reactive oxygen species (ROS). On the other hand, ROS can serve as key signalling molecules involved in the regulation of metabolic processes. Knowledge about molecular mechanisms and physiological consequences of the redox transformations of high molecular weight compounds of plant cells is a fundamental basis for the directed changes of plant growth and immune system. This special issue presents the materials of the III International Symposium on “Molecular Aspects of Plant Redox Metabolism” and the School for Young Scientists “The Role of Reactive Oxygen Species in Plant Life” (22–28 August 2021, Ekaterinburg, Russia). The researches from more than 30 scientific centres of Russian Federation as well as from Belarus, Poland, South Africa, and India participated in this symposium in a mixt *online* and *offline* format. This issue is of interest for researchers and students specializing in biology, chemistry, biotechnology.

On behalf of the Program Committee,

Symposium Co-Chairs
Dr. Irina Kiseleva
Prof. Farida Minibayeva

ПЛЕНАРНЫЕ ЛЕКТОРЫ

PLENARY SPEAKERS



Минибаева Фарида Вилевна, д.б.н.

Заведующий лабораторией окислительно-восстановительного метаболизма Казанского института биохимии и биофизики – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Научные интересы: физиология и биохимия стресса, активные формы кислорода и азота, растения-экстремофилы

Название доклада: Меланины – темная сторона редокс-метаболизма



Киселёва Ирина Сергеевна, к.б.н., доцент

Заведующий кафедрой экспериментальной биологии и биотехнологий Института естественных наук и математики Уральского федерального университета им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

Научные интересы: стресс-физиология растений, фотосинтез и продукционный процесс

Название доклада: Урал индустриальный: как выживают растения

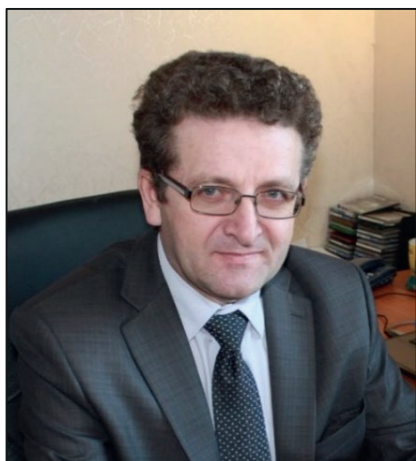


Beckett Richard Peter, PhD, Professor

Professor of School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa

Scientific interests: plant stress physiology, desiccation tolerance, light stress, lichens, bryophytes, antioxidants

Presentation title: Photoprotection and signalling in lichens



Максимов Игорь Владимирович, д.б.н., профессор

Заведующий лабораторией биохимии иммунитета растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения УФЦ РАН, Уфа, Россия

Научные интересы: физиология растений, защита растений, фитоиммунитет

Название доклада: Активные формы кислорода в защите растений от биотического стресса



Strzałka Kazimierz Jan, PhD, Dr. hab., Professor

Professor of biochemistry Malopolska Centre of Biotechnology and Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland, member of Polish Academy of Sciences, Polish Academy of Arts and Sciences, foreign member of Chilean Academy of Sciences

Scientific interest: formation and development of the photosynthetic apparatus, membrane molecular dynamics, photoprotective mechanisms in plants, abiotic stresses and research on extremophiles

Presentation title: Role of plastid-derived prenyl lipids in oxidative stress in plants



Gruszecki Wiesław Ignacy, PhD, Dr. hab., Professor

Head of Department of Biophysics and Vice-Rector for Science and International Cooperation Maria Curie-Skłodowska University, Lublin, Poland

Scientific interest: Photophysics of photosynthesis

Presentation title: Photoprotective strategies of a chloroplast



Демидчик Вадим Викторович, д.б.н.

Декан биологического факультета Белорусского государственного университета, профессор кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Республика Беларусь

Научные интересы: клеточная сигнализация и редокс-биология растений, ионный транспорт, физиология стресса у растений

Название доклада: L-аскорбиновая кислота как сигнальный и регуляторный агент у высших растений



Мошков Игорь Евгеньевич, д.б.н., в.н.с.

Руководитель отдела физико-химических методов исследований, Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

Научные интересы: механизмы действия фитогормонов и клеточная сигнализация

ация, стрессовая физиология, наночастицы золота, их эффекты и механизмы действия в растениях

Название доклада: Этилен: маленькая молекула – большие вопросы



Емельянов Владислав Владимирович, к.б.н., доцент

Доцент кафедры генетики и биотехнологии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия

Научные интересы: физиология стресса растений, адаптация растений к недостатку кислорода, АФК, антиоксидантные системы

Название доклада: Окислительный стресс в растениях при действии дефицита кислорода и последующей реэрации



Фролов Андрей Александрович, к.х.н., доцент

Доцент кафедры биохимии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия

Научные интересы: гликоокислительные модификации белков – механизмы образования и биологическая роль, протеомика и метаболомика стресс-ответа растений, модуляция ответа растений на действие засухи, вторичный метаболизм растений, физиологические эффекты вторичных метаболитов растений в животных тест-системах

Название доклада: Гликоокислительные модификации растительных белков: новая глава в белковой редокс-химии растений – механизмы и возможные физиологические эффекты

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

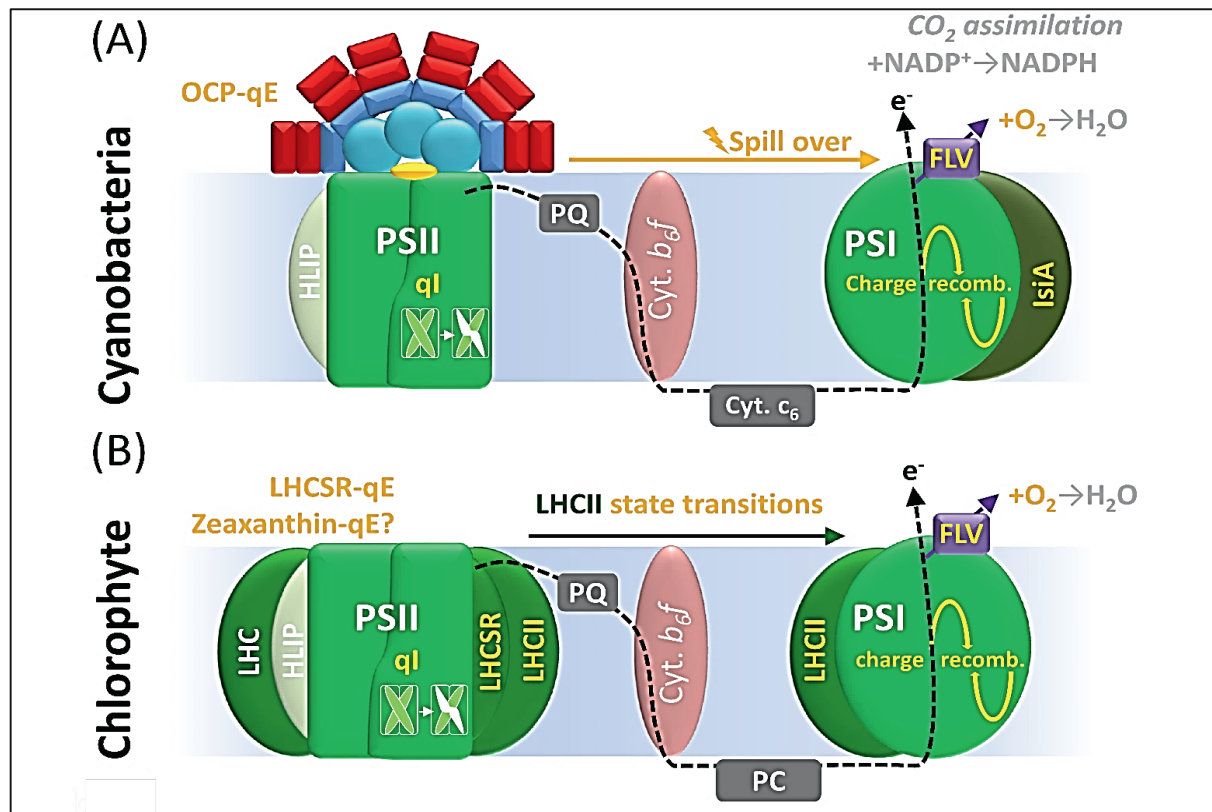
PROCEEDINGS

УДК 581.1

PHOTOPROTECTION AND SIGNALLING IN LICHENS

Beckett R.P.^{1*}, Mkhize K.W.G.¹, Minibayeva F.V.²¹University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa²Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
FRC Kazan Scientific Center of the RAS, Kazan, Russia**E-mail: rpbeckett@gmail.com***Keywords:** chlorophyll fluorescence, photoprotection, sun and shade, sunfleck, xanthophyll cycle.

Lichens are symbiotic organisms, comprising a fungus (the mycobiont) and either an alga or a cyanobacterium (the photobiont). They range in size from tiny crusts less than 1 mm² to pendulous forms that hang more than 2 m from tree branches. Lichenization is one of the most successful ways that fungi use to fulfill their need for carbohydrates, and about 20% of all fungi are lichenized. There are 13,500 species of lichens in the world, but lichenization is almost completely restricted to the Ascomycota. Lichens often grow in places where they are subjected to severe abiotic stresses such as desiccation, temperature extremes and high light intensities. What really makes lichens special, and what separates them from most other eukaryotic organisms, is their ability to tolerate desiccation. However, in addition to desiccation stress, in their natural habitats the light intensities experienced by lichens frequently exceed those that their photobionts can use to generate ATP and NADPH. The excess energy absorbed unavoidably leads to the production of reactive oxygen species (ROS). As a first line of defence, lichen photobionts dissipate excess energy as heat. This dissipation occurs in various ways, collectively referred to as non-photochemical quenching or NPQ. If excess light overwhelms thermal dissipation, the ROS produced can be scavenged using enzymatic or non-enzymatic antioxidants. Furthermore, the “PSII repair cycle” can be used to repair the D1 protein, a key but sensitive component of photosystem II. In addition, lichen mycobionts respond to high light by synthesizing cortical sun-screening secondary metabolites. The first aim of this lecture will be to review how these various mechanisms work together to ensure that lichens can display remarkable tolerance to high light stress. However, in addition to growing in exposed bright habitats, some lichens are rather “shade” species, for example those that grow on tree trunks. Shade lichens are often exposed to rapidly changing light levels, depending on diurnal variations in the angle of sunlight, tree architecture and movements of the branches of the trees. Lichens in such habitats experience rapidly changing levels of irradiance; the relatively brief periods that lichens are exposed to high light levels are known as “sunflecks”. A second aim of this lecture is to review our recent work on how lichens respond to such light environments by modulating NPQ. While NPQ reduces photoinhibition when light intensities are high, excessive NPQ can greatly reduce the quantum yield of photosynthesis at lower light levels. Our results show that the main difference between sun and shade species is that shade species display a much faster drop or “relaxation” in NPQ at the end of a period of illumination. We suggest that this enables their photobionts to use efficiently the lower light levels that occur once a sunfleck has passed. Even one species can display significant variation, with shade populations displaying faster relaxation than those sampled from more open habitats. Recent studies with crop plants have suggested that fast relaxation of NPQ can increase yields; we suggest that comparative studies of sun and shade lichens may facilitate the bioengineering of other organisms to display accelerated responses to natural shading events.



УДК 581.1

ANALYSIS OF AGE-RELATED CHANGES IN LEGUME ROOT NODULE PROTEOME:
AN INTEGRATED MULTI-OMICS APPROACH

Bilova T.^{1*}, Kim A.², Popova V.¹, Lukasheva E.¹, Dorn M.², Mamontova T.^{1,2}, Tsarev A.^{1,2},
Mavropulo-Stolyarenko G.¹, Chekina A.¹, Romanovskaya E.¹, Osmolovskaya N.¹, Demchenko K.³,
Frolova N.¹, Ihling C.⁴, Tsyganov V.⁵, Matamoros M.⁶, Sinz A.⁴,
Wessjohann L.A.², Zhukov V.⁵, Frolov A.^{1,2}

¹St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

²Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, Halle/Saale, Germany

³Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

⁴Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Institute of Pharmacy, Halle/Saale, Germany

⁵The All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Russia

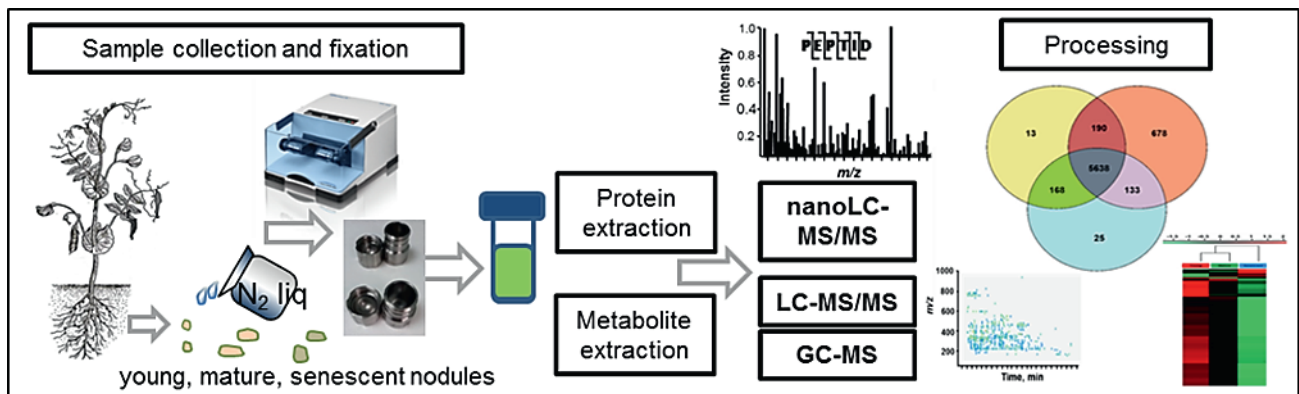
⁶Estación Experimental de Aula Dei, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC),
Zaragoza, Spain

*E-mail: bilova.tatiana@gmail.com

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Rhizobium leguminosarum*, nodule senescence, proteomics.

Sustaining high yields and quality of agricultural production is critical for the national economy. In this context, it is of a key importance to obtain leguminous plants characterized by high protein content in seeds. To ensure the high productivity of legumes, it is necessary to extend the period of active functional state (i.e. to preserve a high level of nitrogenase activity) of nitrogen-fixing root nodules, which gradually decreases with nodule ageing during fruit formation. To solve this problem, an array of proteomics and metabolomics methods was applied to characterize the molecular mechanisms underlying senescence relative changes in determinate and non-determinate nodules of agriculturally valuable plants such as bean (*Phaseolus vulgaris*) and pea (*Pisum sativum*), respectively. The nodules were collected from the plants at juvenile, flowering and seed filling phases. These phases corresponded to the stages of functionally active (mature), early and late senescent nodules. The nodule proteins were isolated by phenolic extraction and subjected to limited proteolysis with trypsin. The resulted peptides were analyzed with high resolution nanoLC-ESI-Q- and LIT-Orbitrap-MS. Comprehensive analysis of the nodule metabolism was accomplished by gas chromatography-electron ionization-quadrupole-mass spectrometry (GC-EI-Q-MS), ion-pair-reversed phase-ultra high performance liquid chromatography - electrospray ionization – triple quadrupole MS/MS (IP-RP-UHPLC-ESI-QqQ-MS) and RP-UHPLC-ESI-quadrupole-time of flight (QqTOF)-MS (positive and negative ion modes), respectively. Proteomes of both plant and symbiotic bacteria *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* and *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* were characterized in bean and pea nodules, respectively. In spite of formation of different (determinate and non-determinate) morpho-physiological types of nodules by these plants, similar metabolic processes were revealed in tissues of the senescent nodules. The most important event characterized for the plant part of nodule senescent proteome is a dramatic decrease in contents of the polypeptides involved in protein metabolism (proteins of ribosomal 40S and 60S subunits, ubiquitin-dependent protein degradation, chaperones and histones). On the other hand, in proteomes of two rhizobial strains the proteins of energy metabolism and those involved in transport of different metabolites are up-regulated. Remarkably, the expression of several proteins of nitrogenase complex was increased in *R. leguminosarum* bv. *viciae* proteome of pea nodules, but decreased in *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* of bean nodules.

This work is supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with agreement № 075-15-2020-922 date 16.11.2020 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal budget of Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of a World-class Scientific Center “Agrotechnologies for the Future.



УДК 579.64(579.222.3)+58.02

EFFECT OF PLANT GROWTH-PROMOTING BACTERIA ON *ZEAMAYS* GROWTH, PHOTOSYNTHETIC AND ANTIOXIDANT RESPONSE IN CHROMIUM CONTAMINATED SOILS UNDER DROUGHT STRESS

Bruno L.B.¹, Tripti², Kumar A.², Rajkumar M.^{1*}¹Bharathiar University, Coimbatore, India²Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia

*E-mail: mraaj13@yahoo.com

Keywords: Cr reduction, drought stress, heavy metal, plant growth-promoting bacteria (PGPB).

Soil pollution along with climatic stress (drought) is considered as one of the severe factor that causes negative effects on plant growth and yield. For instance the combined stress including heavy metals and drought affects the physiological mechanisms by inducing oxidative stress, water use efficiency and other biochemical processes, which consequently reduce plant growth and survival [1, 2]. In order to ameliorate the negative effects of combined stress, various plant growth-promoting bacteria (PGPB) have been frequently used because of their potential in altering plant nutrient uptake, hormone levels, osmolytes, antioxidants accumulation, and stress and growth-related genes in plants [3, 4].

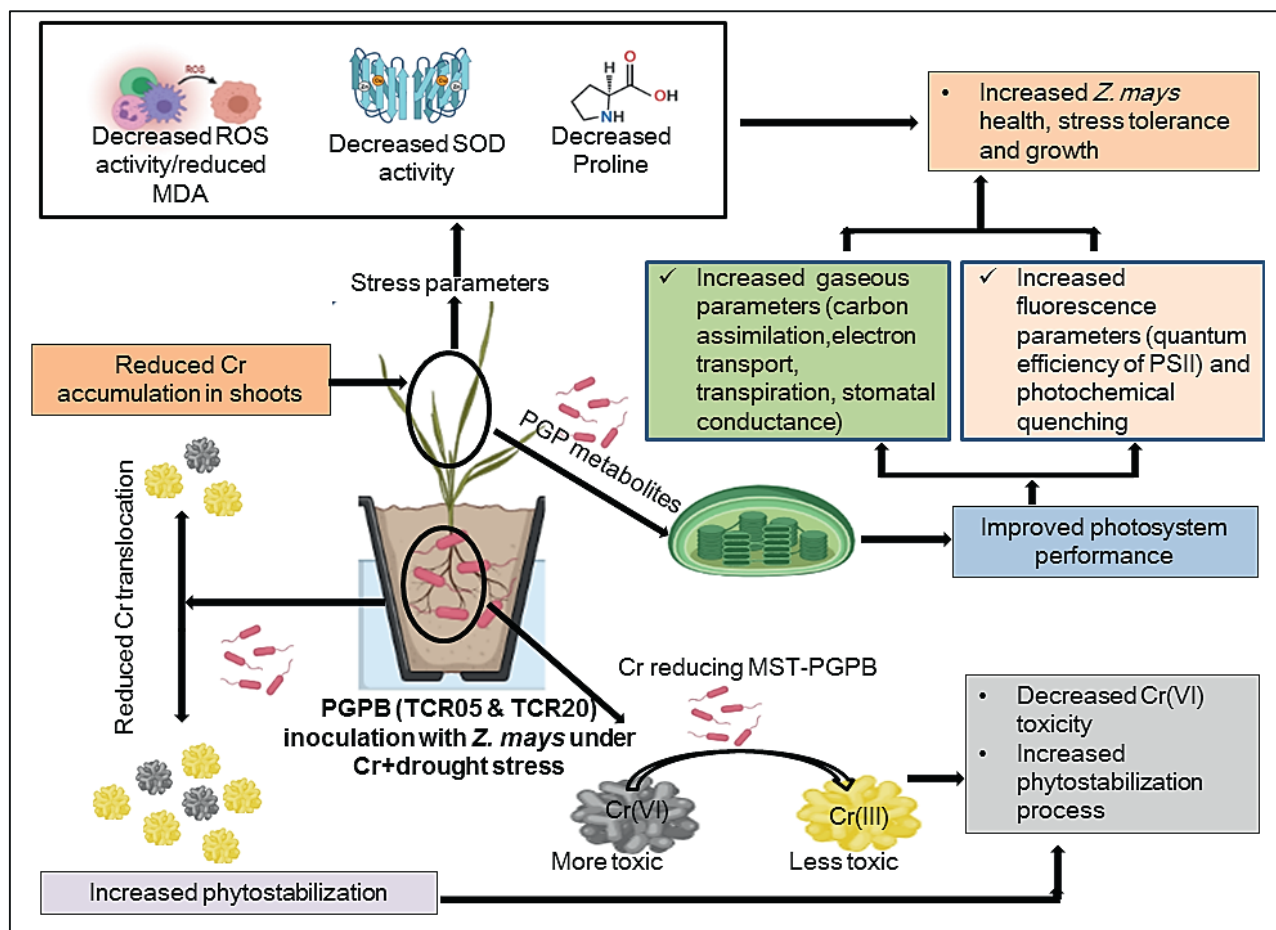
The present study was aimed to evaluate the efficiency of PGPB on growth, stress tolerance, photosynthetic performance and metal accumulation of *Zea mays* grown under chromium (Cr), drought, or Cr+drought condition. Cr reducing multi stress resistant-PGPB (CRMST-PGPB) TCR05 and TCR20 were isolated and identified as *Providencia* sp. strain TCR05 and *Proteus mirabilis* strain TCR20, respectively.

Inoculation of *Z. mays* with CRMST-PGPB decreased the reactive oxygen species (ROS) mediated oxidative stress (lipid peroxidation) through reducing the toxicity of Cr(VI) and secreting other plant growth promoting metabolites, which eventually declined plant proline content and superoxide dismutase (SOD) activity under combined stress condition. Further, inoculation of CRMST-PGPB increased the pigment content, relative water content (RWC), and non enzymatical antioxidant status of the plant under stress condition. The photosynthetic performance of *Z. mays* inoculated with CRMST-PGPB increased significantly, where it improved the CO₂ fixation rate (*A*), stomatal conductance to water vapor (*g_s*), transpiration rate (*E*), maximum quantum efficiency of PSII (*F_v/F_m*), actual quantum efficiency of PSII (Φ_{PSII}), electron transport rate (ETR), and photochemical quenching (*q_p*) under combined stress condition. Besides, inoculation of CRMST-PGPB decreased the Cr translocation to the aerial parts. Therefore, the bioaugmentation of CRMST-PGPB has the potential to reinforce stress tolerance as well as improve the photosystem performance resulting in improved growth and physiology under Cr contaminated sites even under water-limited conditions.

L.B.B thankful to the Science and Engineering Research Board (SERB), India for providing National Post-Doctoral Fellowship (Grant No.PDF/2017/001074). T., A.K and M.R. are grateful for the Department of Science and Technology (DST), India (Project No.INT/RUS/RFBR/363) and Russian Foundation for Basic Research, Russia (Project No. 19-516-45006) bilateral research grant.

References

1. Vareda J., Valente A.J.M., Duraes L. // J. Environ. Manag. 2019. 246, 101–118.
2. Wu Y., Ma L., Liu Q., *et al.* // Sci. Tot. Environ. 2020. 726, 138554.
3. Rajkumar M., Bruno L.B., Banu R. // Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 2017. 47, 372–407.
4. Manoj S.R., Karthik C., Kadirvelu K., *et al.* // J. Environ. Manage. 2020. 254, 109779.



УДК 577.121

INTEGRATED METABOLOMICS AND PROTEOMICS APPROACH FOR ANALYSIS OF DESICCATION TOLERANCE IN MOSS (*DICRANUM SCOPARIUM*)

Bureiko K.^{1,2,3*}, Bilova T.^{1,2}, Gorbach D.¹, Tsarev A.¹, Chasov A.⁴,
Lukasheva E.¹, Dorn M.², Balcke G.U.², Frolov A.^{1,2}, Minibayeva F.⁴

¹St. Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

²Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle, Germany

³University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

⁴Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Centre,
Russian Academy of Science, Kazan, Russia

*E-mail: ksenya.bu@gmail.com

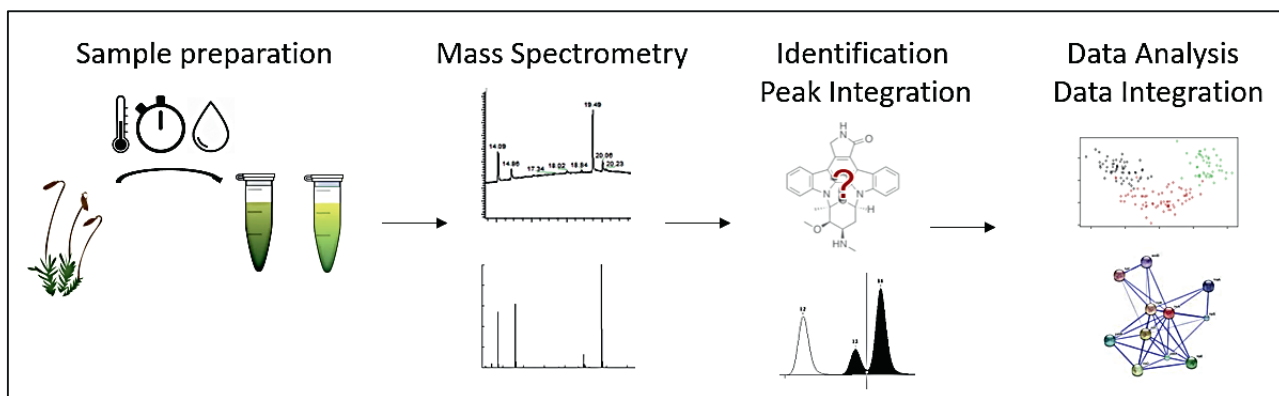
Keywords: *Dicranum scoparium*, dehydration, desiccation tolerance, metabolomics, mass spectrometry, proteomics, rehydration.

Drought is one of the most common causes of crop loss in modern agriculture. Therefore, drought tolerance of crop plants needs to be improved. It may be done in different ways, for example, by using genetic material derived from desiccation-tolerant species. Mosses have the distinctive capacity to endure extended water shortages. A profound reorganization of metabolism, characterized, first and foremost, by the accumulation of low molecular weight osmoprotectors, plays a unique role at the core of this moss ability. However, before this feature can be implemented in agriculture, the molecular processes behind moss desiccation tolerance must be studied in more detail.

In previous work, we addressed the metabolic changes in *Dicranum scoparium* thalli in response to dehydration (24 hours at room temperature) and sub-sequent rehydration (24 hours at 5 °C). To address the natural compounds of various chemical nature, a comprehensive analysis of primary and secondary metabolites was accomplished with a broad array of analytical techniques. The analyses revealed that the moss metabolic response to desiccation and subsequent rehydration was accompanied by a significant accumulation of sugars as well as changes in lipid and terpene metabolism, manifested by changes in the patterns of phosphatidylcholines and biosynthesis of pentacyclic triterpenes, respectively. Interestingly, the relative abundance of proline, the major biochemical marker of drought in flowering plants, did not show any desiccation- or rehydration-related alterations.

Analysis of the moss proteome relied on nanoLC-LIT-Orbitrap-MS and label-free relative quantification. Data interpretation and post-processing revealed six clusters characterized by different patterns of protein dynamics across the period of dehydration and subsequent rehydration. Thereby, most proteins are characterized by an increased abundance during dehydration, while the amount during rehydration remains unchanged. That cluster mainly included photosynthetic proteins, as well as components of the ribosomal machinery. Interestingly, the second major cluster was characterized by an inverse expression pattern, though it mostly contained proteins involved in translation and transcription. Overall, we detected significant changes in the abundance of proteins involved in photosynthesis, protein and DNA metabolism, and cellular transport.

In light of these concerns, the goal of this work is to combine our prior metabolomics insights with the information gained from proteomics analysis to provide a more comprehensive picture of the changes that occur during desiccation and rehydration. For that, a novel pipeline was created since there are no established procedures for integrating metabolomics and proteomics data. Pathway enrichment analysis was utilized to evaluate differentially expressed metabolites, and pathway impact value was used to estimate significance of individual players within a particular metabolic pathway. Groups of proteins from the ten most responsive metabolic pathways to drought and rehydration were chosen for further protein-protein interaction network analysis to acquire the shared pathways and common interactions between differentially expressed proteins and metabolites.



УДК 581.1

**BIOCHEMICAL ASPECTS OF REDOX METABOLISM IN GERMINATING
PISUM SATIVUM L. SEEDS RELATED
TO THE LOSS OF DESICCATION TOLERANCE**

**Cherevatskaya M.A.^{1*}, Kusnetzova A.V.², Gorbach D.P.², Kysel E.V.³, Frolova N.V.¹,
Bilova T.E.¹, Frolov A.A.^{2,3}, Medvedev S.S.¹, Smolikova G.N.¹**

¹St. Petersburg State University, Department of Plant Physiology and Biochemistry, St. Petersburg, Russia

²St. Petersburg State University, Department of Biochemistry, St. Petersburg, Russia

³Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle/Saale, Germany

*E-mail: maria.cherevatskaya@gmail.com

Keywords: *Pisum sativum*, germination, metabolomics, seeds.

During the maturation phase, the moisture content of orthodox seeds is progressively decreased (up to its level of 5–10%), and this causes activation of drought tolerance molecular mechanisms allowing the seeds to sustain extreme environmental conditions such as high and low temperatures, frost, drought [1, 2]. Interesting, seeds also maintain the ability to tolerate desiccation during first two phases of germination, which are characterized by rapid water uptake, initiation of respiration, repair of accumulated damages, immobilization of reserve nutrients and activation of synthetic processes [1, 3]. These seeds were able to germinate after drying and rehydration. However, the transition to phase III, associated with the initiation of rapid expansion growth of radicle (radicle protrusion), is a critical stage and is also called as a “point of no return” after which the seeds can no longer survive dehydration [1].

The aim of the study was to evaluate physiological and biochemical changes related to desiccation tolerance loss during the seed to seedling transition. The objects were *Pisum sativum* L. seeds variety Prima from the collection of the N.I. Vavilov Institute of the Plant Genetic Resources. In preliminary experiments radicle growth initiation, accompanied by visible protrusion was observed after 72 hours of germination onset. Therefore, two groups of seeds of this age (72 hours of germination onset) before and after radicle protrusion were collected. Embryonic axes which included embryonic radicle, stem and plumule were isolated from the seeds and used in comparative stress marker analyses (hydrogen peroxide, thiobarbiturate (TBA)-reactive products of lipid oxidation, and ascorbic acid as a marker of activation of antioxidant systems). The embryonic axes were extracted with water-methanolic, acidic water-ethanolic, and dichloromethane to obtain fractions of (i) thermally stabile primary metabolites, (ii) thermally unstable primary metabolites, and (iii) secondary semi-polar metabolites, respectively. The obtained extracts were analyzed with gas chromatography-electron ionization-quadrupole-mass spectrometry (GC-EI-Q-MS), ion-pair-reversed phase-ultra high performance liquid chromatography - electrospray ionization – triple quadrupole MS/MS (IP-RP-UHPLC-ESI-QqQ-MS) and RP-UHPLC-ESI-quadrupole-time of flight (QqTOF)-MS (positive and negative ion modes), respectively.

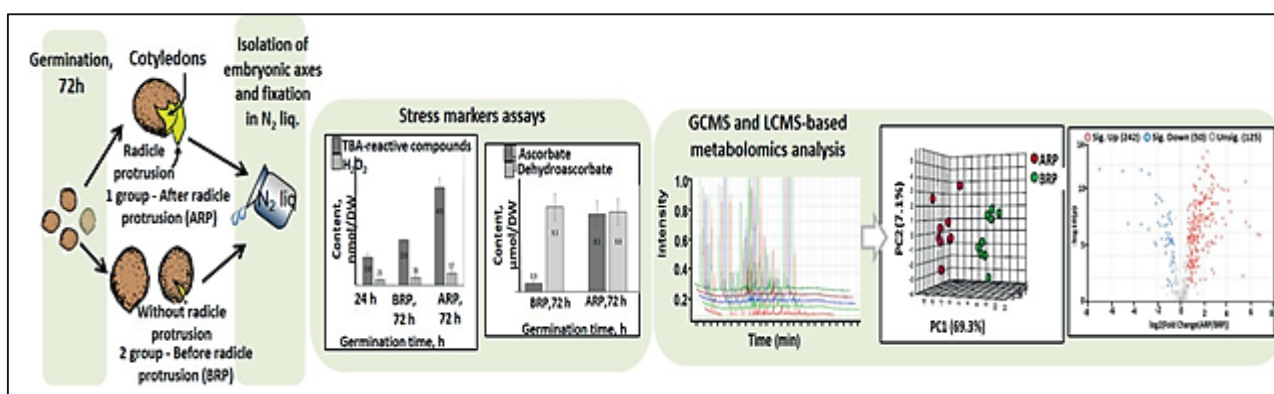
The axes isolated from the seed groups “before radicle protrusion” and “after radicle protrusion” differed significantly in moisture content (72% and 87%, respectively), therefore the contents (or relative contents) of analyzed substances were calculated on a dry matter basis. The radicle growth initiation was accompanied by 1.5- and 2-fold increase in the levels of H₂O₂ and TBA-reactive products of lipid peroxidation, respectively, together with a sharp 8-fold increase in ascorbate content. Interestingly, there was no change in the level of another key antioxidant, glutathione, both its reduced and oxidized forms. In general, metabolomic analysis revealed 292 primary metabolites, the levels of which significantly ($FC \geq 1.5$ at $p \leq 0.05$) changed in the embryonic axes with a visible protrusion of radicle tip compared to that of not visible emerged. Of this number, the levels of more than 80% of metabolites increased upon radicle growth. Moreover, relative contents of several metabolites such as homoserine, tryptamine, 3-deoxytetrone acid, galacturonic

acid oligomer, monosaccharides increased more than 10-fold in “after radicle protrusion” group as compared with those in “before radicle protrusion” group. On the other hand, levels of other substances, such as ribose-1-phosphate, galactinol, tyrosine, decreased more than 10-fold upon radicle growth. The results obtained indicate significant biochemical rearrangements in amino acid and sugar metabolisms during the seed-to-seedling transition accompanied with the desiccation tolerance loss. Additionally, there was a significant increase in products of lipid peroxidation, hydrogen peroxide and ascorbic acid indicating a changing in the redox status of axes cells.

The research was supported by the Russian Science Foundation (project 20-16-00086) with using the equipment of Research Park of Saint Petersburg State University.

References

1. Smolikova G., Leonova T., Vashurina N., *et al.* // Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 101.
2. Oliver M.J., Farrant J.M., Hilhorst H.W.M., *et al.* // Annu. Rev. Plant Biol. 2020, 71, 435–460.
3. Obroucheva N.V.; Sinkevich I.A., Lityagina S.V., Novikova G.V. // Russ. J. Plant Physiol. 2017, 64, 625–633.



УДК 577.112

COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF DIFFERENT STRATEGIES OF LIMITED PROTEOLYSIS FOR REDOX PROTEOME INVESTIGATION**Danko K.V.^{1*}, Lukasheva E.M.¹, Zgoda V.G.², Frolov A.A.^{1,3}**¹Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia²Orehovich Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia³Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle/Saale, Germany

*E-mail: danko_katerina@mail.ru

Keywords: bioinformatics, detergent, LC-MS/MS, mass-spectrometry, proteomics.

Biotic and abiotic stress conditions lead to production of reactive oxygen species (ROS) which readily oxidize DNA, proteins, lipids and resulting in development of oxidative stress damage. Redox proteomics aims characterization of oxidative post-translational modifications of proteins, i.e. assignment of alterations in their structure, functional activities and specific roles in regulatory and/or signaling pathways after interaction with ROS. Typically, redox proteomics relies on the bottom-up shotgun LC-MS-based approach as the main technology platform. However, it needs to be taken into account that the success of this technique is strongly dependent from the completeness of enzymatic digestion at the step of sample preparation. This is, however, a challenging task, as, from one hand, detergents and chaotropic agents are necessary for efficient digestion, from another – their supplementation dramatically affects separation and detection of peptides. Therefore, multiple solutions, like the usage of degradable detergents or their post-sample preparation removal can be applied to overcome this limitation [1]. However, despite the large number of protocols and commercialized products, their comparative efficiency for a broad range of biological matrices is mostly unknown. Thus, in this study we provide a comprehensive comparison of diverse sample preparation protocols in terms of their efficiency for different sample types and applicability for the study of post-translational modifications.

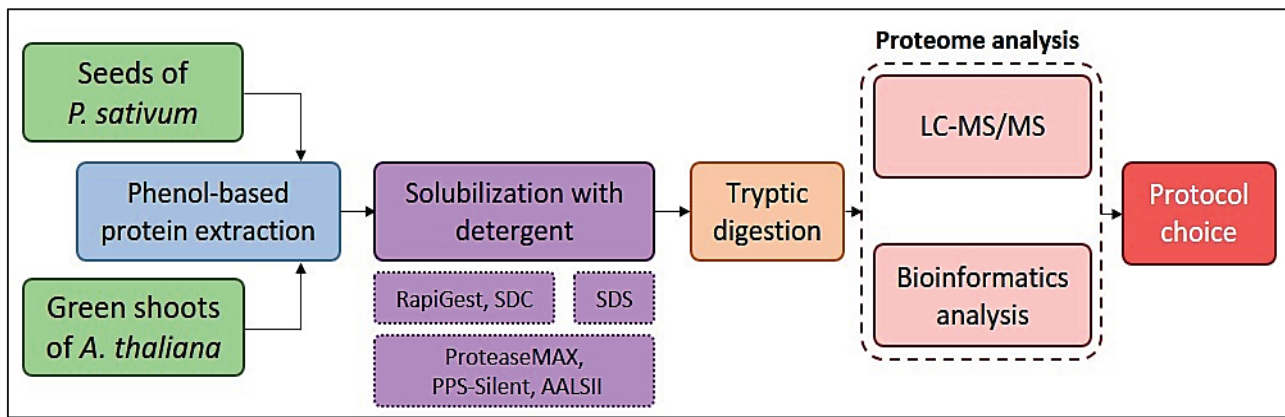
For this, two plant objects were chosen for the research including green shoots of *Arabidopsis thaliana* and seeds of *Pisum sativum*. Our choice was explained by the several reasons: 1) proteomes of these plants are well characterized; 2) RuBisCo (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase) and storage proteins (legumin, vicilin and convicilin) are two prevalent protein fractions in *A. thaliana* and *P. sativum*, respectively. Thus, the effectiveness of the protocol of limited proteolysis may be estimated by the number of identified minor protein fractions. These plant derived matrices were compared with animal objects including HEK 293 (Human Embryonic Kidney 293) cell line, human blood plasma and brain tissues of *Danio rerio*.

For this, we compare altogether six protocols covering several sample preparation strategies. The first group was represented with FASP (filter aided sample preparation) protocol in which SDS (sodium dodecyl sulfate) detergent is replaced by urea that is compatible with mass-spectrometry. The second approach assumed the usage of acid-labile surfactants, which degrade at low pH (PPS-Silent, Protease-MAX, AALSII). Finally, the third strategy relied on the detergents yielding insoluble precipitates under low pH values (sodium deoxycholate and RapiGest). Supplementation of urea was used as a reference protocol. The proteolytic peptides were analyzed by nanoLC-MS/MS (Liquid chromatography–mass spectrometry) using Orbitrap Q-exactive. Based on the results of bioinformatics analysis of the LC-MS data, the most efficient (in the sense of sequence coverage and PTM recovery) proteomics sample preparation protocol will be chosen for the future works on plant redox proteome.

This work is supported by the Russian Foundation for Basic Research 20-54-00044.

References

1. Smolikova G., Gorbach D., Lukasheva E., *et al.* // Int J Mol Sci. 2020. 21(23), 9162.



УДК 579.67+581.1

**ENDOPHYTIC BACTERIA (*BACILLUS SUBTILIS*
AND *METHYLOBACTERIUM* SP.) AND THEIR POSSIBLE ROLE IN BARLEY****Darkazanli M.* , Kiseleva I.S., Sinenko O.C.**

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

*E-mail: mdarkazanli@urfu.ru

Keywords: Endophytic bacteria, heavy metals, oxidative stress, photosynthesis.

Food Security means that people, all the time, have access to safe, sufficient, and nutritious food that meets their dietary needs for a good life. There is a relationship between food security and seed security, because good seed quality can increase agricultural productivity and food production. There are many techniques which can improve seed security but one of the best technique is by inoculating seeds with plant growth-promoting bacteria [1].

There is a misconception that barley (*Hordeum vulgare*) production does not contribute to food security. The importance of barley production as part of a crop rotation system should not be overlooked. The overall importance of barley as human food is still minor but there is much potential for new uses. [2].

The term endophyte is an endosymbiont that lives within a plant for at least part or whole of its life cycle without causing any disease, often a bacteria or fungus [3]. Generally, endophytes have been found in all species of plants, but until now the relationships between the endophytes and plants are still not well understood. Primarily, endophytes can help the host plant to survive with different issues such as pathogens and disease, heat stress, water stress, nutrient availability, poor soil quality, and salinity [4].

One of the serious problems which happening now in the world is the contamination of soil due to heavy metals (HM). Various techniques have been used to understand the mechanisms and provide tools to enhance plant tolerance under environmental stresses, and inoculation the plants with endophytic bacteria is the must develop sustainable agricultural practices to ensure long-term food production. In this context, endophytic bacteria like *Methylobacterium* sp. could play a very important role in understanding the HM uptake mechanism by the plants and their resistance to HM [5].

The main objectives of our study are inoculating *Bacillus subtilis* and *Methylobacterium* sp. in sterilized barley seeds and check its ability to promote plant growth and reduce heavy-metal toxicity. Plants seeds were provided by Ural Federal University, Institute of Natural Sciences and Mathematics, Russia. Plants were germinated and grown on sterilized soil and at 25 °C and irrigated with sterile water.

In this work, we sterilized barley seeds by using 70% ethanol for 1 min, 2% sodium hypochlorite for 3 min, and 0.2% mercuric chloride for time 30 sec. The sterilized seeds plant were inoculated with two standard solutions of *B. subtilis* and *Methylobacterium* sp. which prepared at $7.23 \log \text{ cfu/ml}$ under sterile laboratory conditions. Seeds were germinated for 7 days on filter paper then transferred to sterilized soil. The second true leaf of barley was used for the evaluation of leaf photosynthesis (CO_2 assimilation rate was recorded by LiCor 6400XT, 23 °C, PAR $1500 \mu\text{M/m}^2 \times \text{s}$). Chlorophyll content was determined spectrophotometrically in 80% acetone extracts. Also to determination of the level of LPO under control conditions and under stress from heavy metals, we prepared a stress solution by adding 0.05 M CuSO_4 . Then we applied the stress solution to the plant leaves for two hours. After that, the level of lipid peroxidation was measured by the accumulation of TBA-reacting products.

The results showed that the level of CO_2 assimilation rate was higher in inoculated plants compared to those grown from control (sterile seeds). Also, it was found that the level of CO_2 assimilation rate was higher in plants that were inoculated by *B. subtilis* than plants that were

inoculated by *Methylobacterium* sp. The amount of chlorophyll was the highest in barley inoculated with *B. subtilis* (1.1 mg/g fw), and the lowest values were (0.92 mg/g fw) in control plants.

The level of LPO was increased under heavy metal stress in all barley plants, both of which inoculated by bacteria and which grown from sterile seeds, compared to normal conditions, but in control plants were stressed higher than plants which inoculated by the bacteria, and the LPO level under heavy metal stress was lower in plants which were inoculated by *Methylobacterium* sp. than by *B. subtilis*. Nevertheless, a positive effect of inoculation was observed in all cases, which allows us to formulate a proposal on the use of useful endophytic bacteria as potential natural resources for enhancing phytoremediation of metal-contaminated soils and for studying the diversity and structure of bacterial communities living in conditions of HM pollution [6].

In our work, we used two different endophytic bacteria with barley, and from our previous work, we approved that bacteria can transfer from soil to leaves plant [7]. The photosynthesis rate was higher in barley which inoculated by *Bacillus subtilis* and *Methylobacterium* sp. than in the control plants. This is due to the high total chlorophyll values. Endophytic bacteria such as *Bacillus* sp. produce phytohormones such as cytokinins, indoleacetic acid, indolebutyric acid, gibberellins, can control of opening and closing of stomata, photosynthetic efficiency, and the supply of essential vitamins, are examples of benefits related to the association between endophytes and plants [8].

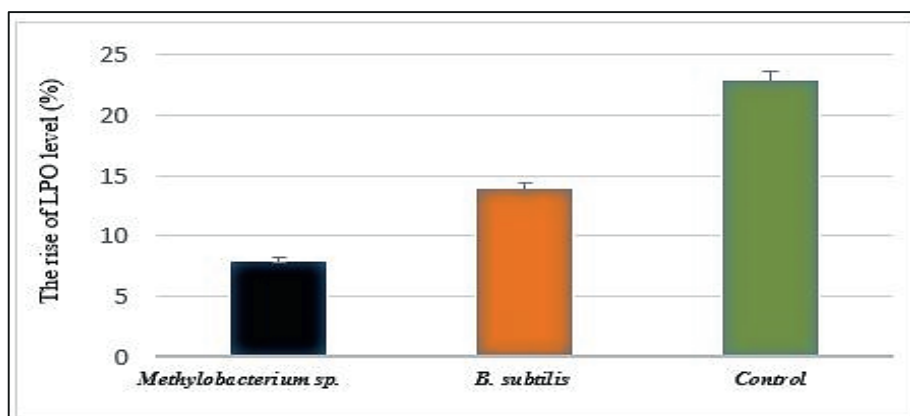
Bacterial endophytes can promote the growth of plants and protect them from environmental stresses and harmful microorganisms. Also, some endophytic bacteria can enhance the resistance of host plants to abiotic stresses, such as HM. One experiment which agree with our result demonstrated that the presence of *Achromobacter xylosoxidans* reduced ethylene levels in *Catharanthus roseus* and increased the content of antioxidant enzymes such as ascorbate peroxidase, catalase, and superoxide dismutase. Moreover, endophytic bacteria stimulated the growth of plants through increasing the nutrient absorption capacity of rhizosphere and enhancing photosynthesis [9].

The future perspective to deepen the study of endophytes in terms of both application and basic science is considered.

The work was funded by RFBR and DST according to the research project № 19-516-45006. The authors also acknowledge financial support by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement № 02.A03.21.0006).

References

1. Callaghan M. // Appl Microbiol Biotechnol. 2016. 100, 5729–5746.
2. Newton A., Johnson S., Gregory P. // Euphytica. 2011. 179, 3–18.
3. Farahat M. // Plant Archives. 2020. 20(1), 417–429.
4. Saunders M., Glenn A., Kohn L. // Evolutionary Applications. 2020, 3(5–6), 525–537.
5. Grossi C., Fantino E., Serral F. // Plant Sci. 2020. 11, 71.
6. Darkazanli M., Kiseleva I. // AIP Conference Proceedings. 2019. 2063, 030004.
7. Santos M., Berlitz D., Wiest S. // Brazilian Archives of Biology and Technology. 2018. 61.
8. Afzala M., Khana Q., Sessitschb A. // Chemosphere. 2014. 117, 232–242.
9. Wei W., Wenhua C., Shiyu L., *et al.* // Front. Plant Sci. 2021. 16.



УДК 581.14

EXOGENOUS ASCORBATE AS SIGNALLING AND REGULATORY AGENT IN HIGHER PLANTS

Demidchik V.V.^{1,2*}, Makavitskaya M.A.¹, Gorbach D.P.², Hryvusevich P.V.¹, Navaselsky I.Y.¹,
Talkachova Y.V.¹, Lazerka N.V.¹, Charnysh M.A.¹, Lukasheva E.V.³, Yu M.², Mackievic V.S.¹,
Viatoshkin A.A.¹, Samokhina V.V.¹, Smolich I.I.¹, Frolov F.A.^{3,4}, Pshybytko N.L.¹, Sokolik A.I.¹

¹Belarusian State University, Minsk, Belarus

²Foshan University, Foshan, China

³St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

⁴Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle, Germany

*E-mail: vадzim.dzemidchyk@gmail.com

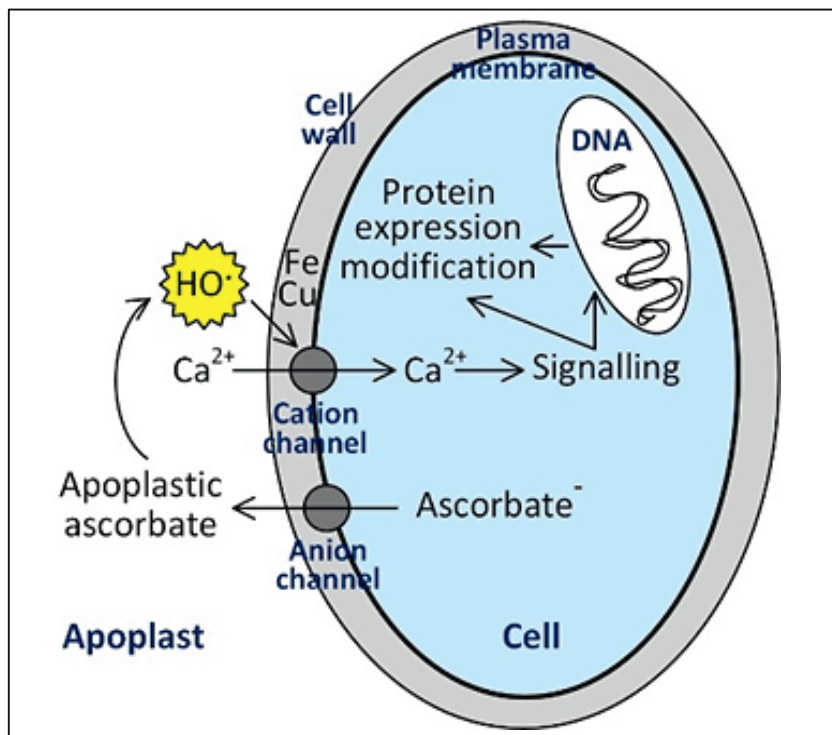
Keywords: *Arabidopsis thaliana*, L-ascorbic acid, oxidative stress, proteome, reactive oxygen species.

L-ascorbic acid (ascorbate) is a major antioxidant in higher plants [1]. The ascorbate is not often considered as a signalling molecule or important metabolic regulatory agent. Nevertheless, the distribution of ascorbate across the plasma membrane (very high activity inside the cell and very low outside) is typical for signalling substances [2]. We have hypothesised that exogenous ascorbate can play the role of redox signalling molecule triggering Ca^{2+} signalling and proteome changes in plant cells. We have demonstrated that, in model plants (*Arabidopsis thaliana*), an exogenous L-ascorbic acid triggered a transient increase of the cytosolic free calcium activity ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt.}}$) that is central to plant signalling [3]. Exogenous 'Fenton' catalysts, copper and iron, stimulated the ascorbate-induced $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt.}}$ elevation, while cation channel blockers, free radical scavengers, low extracellular $[\text{Ca}^{2+}]$, transition metal chelators, and removal of the cell wall inhibited this reaction. Thus, the apoplastic redox-active transition metals were involved in the ascorbate-induced $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt.}}$ elevation. Exogenous ascorbate also induced a moderate increase in programmed cell death symptoms in intact roots, but it did not activate Ca^{2+} influx currents in patch-clamped root protoplasts. Intriguingly, the replacement of gluconate with ascorbate in the patch-clamp pipette caused a large ascorbate efflux current, which showed a sensitivity to the anion channel blocker, anthracene-9-carboxylic acid (A9C), indicative of the ascorbate release via anion channels. Physiological and genetics analyses of transmembrane ascorbate currents revealed the ion channel system (including exact genes) involved in the ascorbate efflux. EPR spectroscopy measurements demonstrated that salinity (NaCl) triggers the accumulation of root apoplastic ascorbyl radicals in an A9C-dependent manner, confirming that L-ascorbate leaks through anion channels under depolarization. This mechanism may underlie ascorbate release, signalling phenomena, apoplastic redox reactions, iron acquisition, and control the ionic and electrical equilibrium (together with K^{+} efflux via GORK channels). To support the hypothesis that exogenous ascorbate can regulate plant functions, we have carried out the proteomic analyses of ascorbate-induced modifications in the total proteome of *Arabidopsis thaliana* roots. We have found that, in response to the presence of the exogenous L-ascorbate, H_2O_2 or ascorbate-containing mixtures generating hydroxyl radicals, the expression of about 400 proteins changed in the root proteome. The changes in the proteome under the influence of high levels of L-ascorbate, H_2O_2 and mixtures that generate hydroxyl radicals were qualitatively similar, showing that exogenous ascorbate could be an important redox regulatory substance. Ascorbate-induced proteome changes involved the decreased expression of systems involved in the metabolism of cytoplasmic proteins and the increased expression of proteins responsible for the synthesis, folding and transport of mitochondrial proteins. The characteristic regulatory proteomic modifications in response to low levels of L-ascorbate included an increase in the expression of hormonal signalling, immunity and stress response systems. This indicates the complex nature of proteome changes, leading to regulatory changes in physiological processes aimed at the formation of new signalling and metabolic networks in the roots of higher plants.

This study was also supported by Belarusian and Russian Funds for Fundamental Research (Joint Belarus-Russia Grant to V.D. and A.F.: B20R-317) and State Program of Belarus “Innovative technologies and techniques”.

References

1. Smirnov N. // Free Radic. Biol. Med. 2018. 122(7), 116–129.
2. Sharova E.I., Medvedev S.S., Demidchik V.V. // Rus. J. Plant Physiol. 2020. 67(2), 207–220.
3. Makavitskaya M., Svistunenko D., Navaselsky I., *et al.* // J. Exp. Bot. 2018. 69(14), 3477–3489.



УДК 581.1

ANTIOXIDANT CHARACTERISTICS OF LICORICE EXTRACTS

Ermoshin A.A.^{*}, Kiseleva I.S.

Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

^{*}E-mail: Alexander.Ermoshin@urfu.ru**Keywords:** ABTS-test, antioxidants, callus, licorice, phenols.

One of the popular plant sources of biologically active compounds is licorice (*Glicirrhiza glabra* L.). Its roots and rhizomes are used widely as an expectorant due to the presence of saponins, flavonoids, polysaccharides, and other substances [1].

Active collecting of licorice for the needs of medicine has led to the decrease of natural reserves and genetic diversity of this plant. So the introduction of licorice into a cell and tissue cultures could be promising and perform an important task for plant biotechnology. Roots and rhizomes are the traditional material for the medical purposes. The leaves of licorice plants have not been studied enough and usually are not used. But it is known that the variety of flavonoids that reveal anti-cancer, antiviral and a number of other biological activities is greater in leaves than in roots [2]. Flavonoids and phenols are known as antioxidants. They are involved in quenching reactive oxygen and NO radicals. So leaves could be considered as a new raw material for getting licorice biologically active compounds.

In our study original licorice plants were taken from the collection of the Botanical garden (Ural Branch of RAS, Yekaterinburg). Leaf explants of licorice were used for the callus culture. The plant material was sterilized with ethanol and sodium hypochlorite according to standard methods, and calluses were induced on MS medium (3% sucrose, pH 5.8, 1 mg/L BAP and 10 mg/L NAA).

The extraction of biologically active compounds from callus culture, leaves and rhizomes of licorice was done by 95% ethanol. The rhizome extract was used as a comparison sample, as it is traditionally used in medicine. The phenols and flavonoids were determined with the Folin-Chicolteu reagent and aluminum chloride, respectively. The total antioxidant activity (in ABTS-test) and the suppression of nitric oxide formation, as well as the total reduction potential [3] were measured spectrophotometrically.

The highest concentration of phenols was found in leaf extracts. Extracts from calluses, obtained from leaves, contained lower amount of these compound; however, it was comparable to the rhizome extracts that are the traditional raw material for medical usage. The ratio of the total phenols to flavonoids in leaves was 2.95 that were much higher than in the roots and rhizomes (0.24) and in calluses (0.63). The content of flavonoids was higher in roots and rhizomes (14.5 mg/g) than in the leaves (10.0 mg/g) and calluses (7.1 mg/g). Thus, in terms of the content of phenols and the ratio of phenols to flavonoids, extracts from licorice calluses were more similar to root and rhizome ones.

Phenols and flavonoids are known to be powerful antioxidants, so it was interesting to compare the antioxidant activity of the extracts obtained from different plant material. A study of antioxidant activity has shown that leaf extracts (1160 c.u.) were twice active then callus (585 c.u.) and root + rhizomes (550 c.u.) extracts in total reducing capacity. However, the content of reducing agents does not always correlate with the ability to inhibit the formation of radicals. In the ABTS-test the ability to inhibit the formation of the ABTS-radical the extracts from callus (92%) did not differ from the rhizome extract (93%) and were slightly higher than the leaf (84%) extract. At the same time, callus extract revealed less inhibition of nitric oxide formation (17%) compared to leaves (38%) and rhizomes (37%). The results obtained, clearly evidenced that callus extracts are largely comparable in their antioxidant properties with the extract of intact rhizomes.

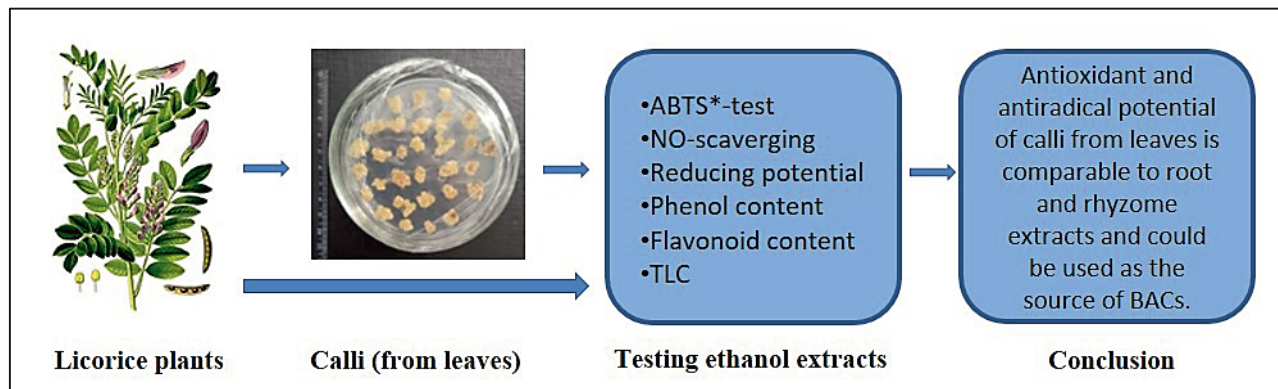
The thin liquid chromatography has shown that in all extracts the same type of flavonoid was found. One was specific for the roots and rhizomes. The highest diversity of phenols was found in

leaves, and in calluses and rhizomes the spectrum of phenols was the same. Also extracts differed in the diversity of sugars and did not differ in aminoacids.

Thus, the callus culture of licorice, obtained from leaves, can be a promising new raw material for the synthesis of metabolites, in particular flavonoids with a high antioxidant potential. The use of callus culture will reduce the collecting of plants in nature and restore the natural licorice population size.

References

1. Pastorino G., Cornara L., *et al.* // *Phytochem. Pharmacol. Rev.* 2018. 2(12), 2323–2339.
2. Yang R., Wang L.Q., *et al.* // *Planta Med.*, 2015. 81(18), 1654–1669.
3. Umamaheswari M., Chatterjee T.K. // *Afr. J. Trad. CAM.* 2008. 5(1), 61–73.



УДК 577.12

STUDY OF THE GLYCATION POTENTIAL OF SUGARS IN AN *IN VITRO* MODEL SYSTEM

Frolova N.^{1,2*}, Soboleva A.^{2,3}, Nguyen V.D.^{1,3}, Kim A.³,
Ihling Ch.⁴, Eisenschmidt-Bönn D.³, Mamontova T.^{2,3}, Herfurth U.M.⁵,
Wessjohann L.A.³, Andrea Sinz A.⁴, Birkemeyer C.¹, Frolov A.^{2,3}

¹University of Leipzig, Leipzig, Germany

²St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany

⁴Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Germany

⁵German Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Germany

*E-mail: n.v.frolova@spbu.ru

Keywords: advanced glycation end products (AGEs), α -dicarbonyl compounds, glycation, Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS), Liquid Chromatography – Mass Spectrometry (LC-MS).

Glycation, or the Maillard reaction, is commonly referred to as the interaction of protein amino- and guanidine groups with reducing sugars and their carbonyl degradation products, α -dicarbonyls [1, 2]. One of the key factors influencing the complexity of the Maillard reaction both *in vivo* and *in vitro* is the huge range of possible glycation agents, which differ greatly in their glycation potential and specific mechanisms of advanced glycation end products (AGE) formation [3, 4]. Although the differences in the glycation potential of monosaccharides are well studied, the mechanisms underlying them, especially in plants, are poorly understood. *In vitro* analysis of plant-specific glycation reactions clearly indicates that plant tissues rich in highly reactive carbohydrates (fructose, ribose and arabinose, sugar phosphates, and triosephosphates) may have higher glycation potential [4]. Obviously, high concentrations of sugars in the presence of transition metal ions provide a high rate of monosaccharide auto-oxidation, production of reactive oxygen species (ROS) and AGE accumulation [4].

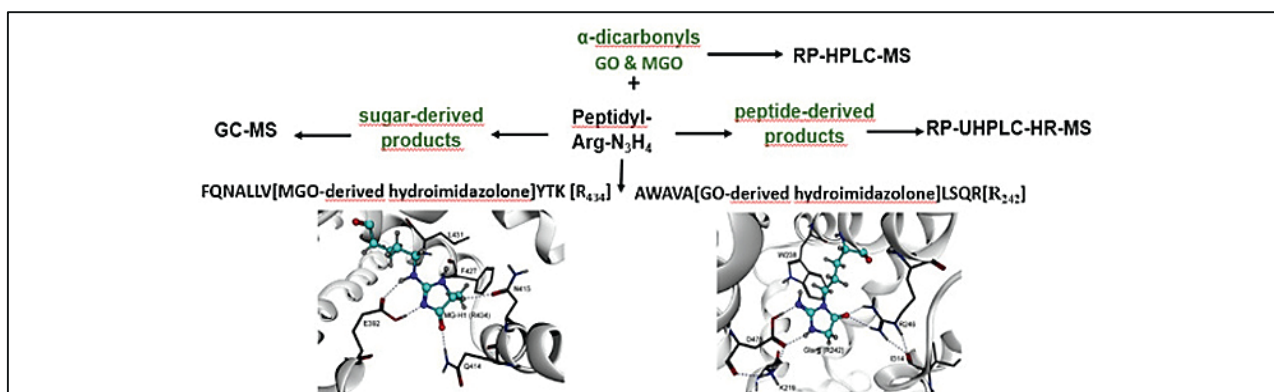
Previously, a comprehensive study of the plant AGE proteome showed that most AGEs are formed via the autooxidative pathway [4]. Obviously, the glycation potential of individual sugars and α -dicarbonyls, their ability to form AGEs, must be combined with analysis of glycated adducts bound to proteins.

This study proposed to employ a platform combining three analytical methods: a proteomic approach that considers site specificity in the formation and stability of glycation products, carbohydrate analysis and α -dicarbonyl analysis [3]. To study the glycation potential of sugars and their derivatives, D-glucose, D-fructose, and L-ascorbic acid were incubated with human serum albumin (HSA) *in vitro* [3]. Sugars and their α -dicarbonyl intermediates were analysed in parallel with protein glycation models (exemplified by hydroimidazolone modifications of arginine residues) using bottom-up proteomics (LC-IT-MS, GC-EI-MS) and computational chemistry (MOE, 2019.0, GNU Image Manipulation Program Version 2.8.16) [3]. The presence of protein (HSA) in the incubation mixtures had different effects on the kinetics of carbohydrate degradation. The time curves of glucose and ascorbic acid were not affected, whereas fructose was degraded much faster in the presence of HSA. The dicarbonyl content derived from glucose and ascorbate gradually decreased during the experiment due to the formation of Amadori compounds formed from glucose, oxidative degradation of ascorbic acid and the reaction of glyoxal (GO) and methylglyoxal (MGO) formed with protein side chains. In contrast, α -dicarbonyls formed from fructose showed a higher relative abundance throughout the experiment. This suggestion is supported by similarities with GO and MGO kinetics in the presence of unmodified HSA. Glycation of HSA with sugars revealed 9 glyoxal- and 14 methylglyoxal-derived modification sites, respectively. Their dynamics were specific for sugars and depended on the concentration of α -dicarbonyls, the kinetics of their formation and the presence of stabilizing residues near the glycation sites [3].

Financial support from the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, project # FR3117/2-3) and from the Russian Foundation for Basic Research (RFBR, projects #20-316-80052 and #18-34-00927) is gratefully acknowledged.

References

1. Thornalley P.J., Battah S., Ahmed N., *et al.* // Biochem. J. 2003. 375(3), 581–592.
2. Milkovska-Stamenova S., Schmidt R., Frolov A., Birkemeyer C. // J. Agric. Food Chem. 2015. 63(25), 5911–5919.
3. Frolova N., Soboleva. A., Nguyen V.D., *et al.* // Food Chem. 2021. 347, 128951.
4. Bilova T., Lukasheva E., Brauch D., *et al.* // J. Biol. Chem. 2016. 291(14), 7621–7636.



УДК 58.071+581.14

**PROLINE AND MDA IN INOCULATED BEAN PLANTS
AS MARKERS OF THE EFFICIENCY OF SYMBIOSIS
WITH ENDOPHYTIC BACTERIA**

**Garipova S.R.^{1,2*}, Markova O.V.¹, Lastochkina O.V.³, Shayakhmetova A.S.^{1,2}, Garshina D.Yu.²,
Iksanova M.A.¹, Fedorova K.A.^{2,3}, Dedova M.A.², Pusenkova L.I.²**

¹Bashkir State University, Ufa, Russia

²Bashkir Research Institute of Agriculture UFRC RAS, Ufa, Russia

³Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa, Russia

*E-mail: Garipovasvetlana@gmail.com

Keywords: *Bacillus subtilis*, bean productivity, biochemical markers, plant-microbial relationships.

Endophytic bacteria (EB), the inhabitants of the internal tissues of all plant species, are capable to produce the physiologically active substances that modulate the hormonal status of the plant and induce the immune responses causing systemic resistance to pathogens and stresses. EB of the genus *Bacillus* are the basis of biologicals with biofungicidal and growth-stimulating action, they contribute the formation of a high yield of inoculated plants. However, the instability of the positive effect of bacterial drugs is often associated with the peculiarities of variety-strain interactions, as well as with stress factors of environment that affect the nature of symbiotic relationships. To predict the effective symbiosis of certain strains of EB with the host plant, the markers are needed that indicate the degree of stress in the plant in response to inoculation at early stages of development and that correlate with the final field yield of plants. As such indicators were chosen: the content of proline (Pro) in plant tissues – an antistress metabolite and a signaling factor for the regulation of cellular processes [1], and malondialdehyde (MDA) – an indicator of lipid peroxidation and oxidative stress.

The aim of this study was to assess the content of these compounds in the tissues of bean seedlings under normal conditions and under NaCl salinity, as well as to compare the early plant responses in the model with the field yield of inoculated plants under normal conditions and under stress.

The objects of the study were common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties: Ufimskaya and Zolotistaya, differing in adaptive potential, productivity [2] and characteristics of interaction with EB [3, 4]. *B. subtilis* 10-4 is a promising new strain, 26D is the basis of Phytosporin. Bean seeds were sterilized with diacide, washed with sterile water, and inoculated with an aqueous suspension of a two-day old culture of EB. A specific dose of EB in the suspension made using a turbidity standard and multiple dilutions. The seeds were put on wet filters in Petri dishes and germinated for six days in the dark and a day in the light. For seedlings, stress was created by immersing the 6-day plants in a 2% NaCl solution for a day. To analyze 28-day plants, 6-day seedlings were planted in glasses with sand and germinated in the light for 3 weeks; stress was modulated by the addition of a 2% NaCl solution for 24 h. The concentration of MDA and Pro in plants were determined by the generally accepted methods described in [5]. Field experiments were carried out on plots with an area of 1.8 m² according to the generally accepted technique in triplicate [3, 4]. In an experiment on gray forest soil in Salavat district of the Republic of Bashkortostan (RB) under the conditions of the northeastern forest-steppe in 2018, extremely cold temperatures with frosts were observed both at the beginning and at the end of the growing season, the yield was formed under stress conditions [3]. The 2020 field experiment was carried out on leached chernozem in Ilishevsky district of the RB under optimal hydrothermal conditions [4]. Statistical processing included the determination of average values, standard errors and comparison of the significance of differences by the t-test ($p < 0.05$).

Colonizing a plant, EB exchange molecular signals with the plant, which allows them to occupy this ecological niche without eliciting a violent phytoimmune response. According to the MDA content, treated with EB plants do not experience stress: the MDA concentration in the

inoculated variants both in young seedlings and in the roots of four-week-old plants does not exceed the control level without inoculation, and in some variants is significantly lower than the control (see graphic abstract, Fig. 1). Varietal differences in the MDA content were found: the MDA level in the seedlings of the Ufimskaya variety was higher than in the seedlings of the Zolotistaya variety. According to MDA data, variety-strain features of the interaction of bacteria with different plant genotypes are manifested in a similar way both in six-day-old seedlings and in the roots of four-week-old plants. Both strains significantly reduce the level of MDA in plants of Zolotistaya variety, and under the influence of strain 10-4 the concentration of MDA remains at the control level in plants of Ufimskaya variety. To assess the response of six-day-old seedlings to inoculation with endophytic bacteria in terms of Pro content, 2 doses of each strain were analyzed – 10^5 and 10^7 CFU/mL under normal and stressful conditions (see graphic abstract, Fig. 2). It was found that, under normal conditions, the Pro content in plant tissues of the Ufimskaya variety was higher than that of the Zolotistaya variety. Under stressful conditions, the level of Pro in plants of both varieties doubled, which is natural. At the same time, strains 10-4 and 26D had different effects on the change in the amino acid content in tissues, and the dose of EB in the inoculum was also important. It is noteworthy that in the absence of stress, strains 10-4 and 26D in a low dose contributed to a twofold and threefold increase in the Pro content in plants of the Zolotistaya and Ufimskaya varieties, respectively. However, under stress conditions in all inoculated variants, the Pro concentration in both cultivars was lower than in the stress-induced control. This indicates, on the one hand, the protective effect of EB, which create a physiological situation in the plant that does not require significant efforts from the plant to eliminate oxidative stress caused by sodium chloride. This aspect was discussed in [5]. On the other hand, the spike in Pro levels in response to inoculation with certain strains under normal conditions makes one pay close attention to this phenomenon as a marker of symbiont compatibility, understanding this compatibility as a balance between growth responses, productivity, and systemic defense associated with growth inhibition. Analyzing the data on the yield of inoculated plants (see graphic abstract, Fig. 3) and realizing that a large number of factors contribute to the integral characteristics of productivity, nevertheless, we note that under stress conditions an increase of 20 и 40 % of seed productivity was given by the variants Ufimskaya + 10-4 and Zolotistaya + 26D, that is, those variants, in the early interactions of which high peaks of Pro were not observed as a signaling factor indicating the degree of plant stress. Under normal conditions, this tendency in the responsiveness of different varieties to inoculation with these strains is also traced, but not as clearly as under critical conditions.

References

1. Kolupaev Yu.E., Vayner A.A., Yastreb T.O. // Bull. Kharkiv National Univ. Biology. 2014. 32(2), 6–22.
2. Markova O.V., Garipova S.R. // Problem. Agrochem. Ecol. 2020. 4, 40–43.
3. Garipova S.R., Shayakhmetova A.S., Lastochkina O.V., *et al.* // Agrochemical Bulletin. 2020. 6, 48–53.
4. Iksanova M.A., Garipova S.R. // Reports of the Bashkir Univ. 2021. 6(3), 152–157.
5. Lastochkina O., Aliniaiefard S., Garshina D., *et al.* // J. Plant Physiol. 2021. 263, 153462.

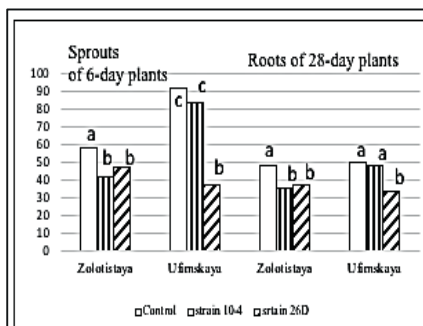


Fig. 1. MDA (nmol / g⁻¹ FW) in 6-day seedlings and roots of 28-day bean plants under inoculation with *B. subtilis* strains

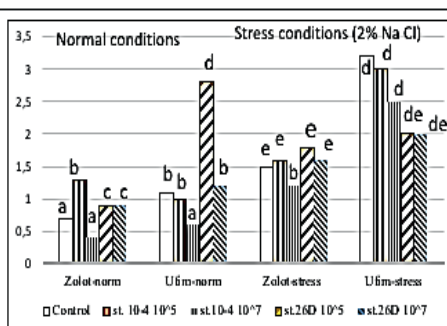


Fig. 2. Proline (μM g⁻¹ FW) in 6-day seedlings of common bean under inoculation with *B. subtilis* strains in different doses

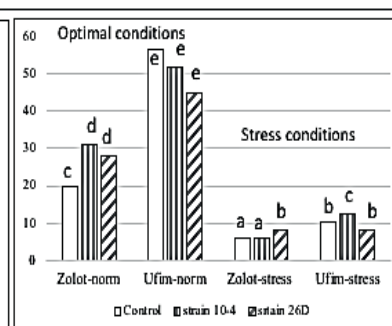


Fig. 3. Harvest, c ga⁻¹

УДК 57.033

PROTEOME CHANGES ACCOMPANYING OXIDATIVE STRESS INDUCED BY HYDROGEN PEROXIDE AND HYDROXYL RADICALS IN *ARABIDOPSIS THALIANA*

**Gorbach D.P.^{1*}, Lazerka N.V.², Frolova N.V.¹, Vaitsiakhovich M.A.², Charnysh M.A.²,
Lukasheva E.V.¹, Mackievic V.S.², Viatoshkin A.A.², Samokhina V.V.²,
Min Yu³, Frolov A.A.^{1,4}, Demidchik V.V.^{2,3**}**

¹St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

²Belarusian State University, Minsk, Belarus

³Foshan University, Foshan, China

⁴Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle, Germany

*E-mail: daria.gorba4@yandex.ru,

**E-mail: vadzim.dzemidchik@gmail.com

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, mass spectrometry, oxidative stress, plant stress biology, proteomics, reactive oxygen species.

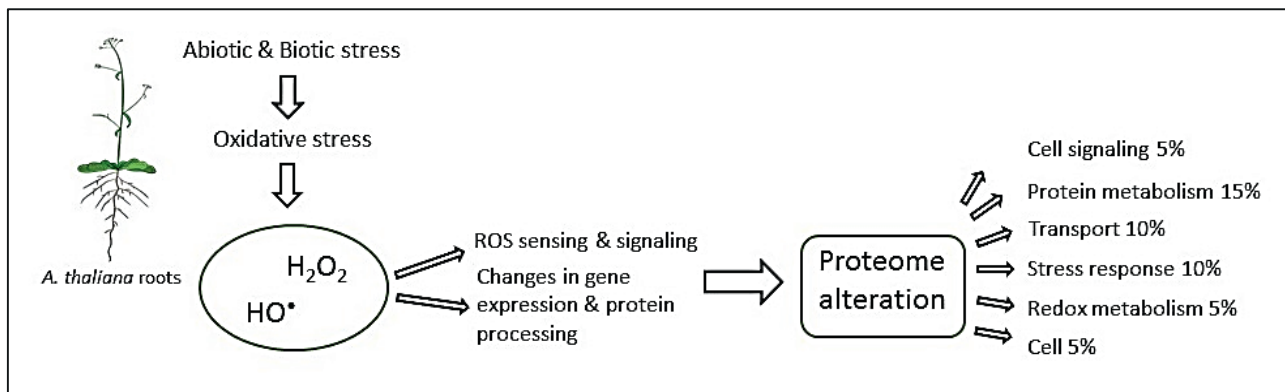
Environmental and biotic stresses, such as salinity, dehydration or pathogen attack, ultimately triggers overproduction of reactive oxygen species (ROS) that results in oxidative stress [1, 2]. It is known, that depending on their local concentrations in specific cellular compartments and/or organs, ROS can act either as signal molecules or as damaging factors. Although the problem of pathological and regulatory ROS-induced effects in plants is well developed, it is still very little data on exact protein pattern modification in response to specific ROS. Among the ROS, hydroxyl radicals and, hydrogen peroxide, as well as their precursor superoxide, are critical for induction of oxidative stress.

Here, we report the specific modifications in the protein expression patterns of *Arabidopsis thaliana* roots associated with the treatment with hydroxyl radicals and hydrogen peroxide. Intact roots were treated by sub-millimolar and millimolar levels of H₂O₂ and hydroxyl radical-generating mixtures (CuCl₂, L-ascorbic acid, H₂O₂). Data analysis relied on protein identification and label-free quantification (LFQ) with appropriate statistic post-processing. Bioinformatics analysis of differentially expressed proteins, including functional annotation, intracellular localization, involvement in metabolic and regulatory pathways, was accomplished to interpret the stress-related responses. We have found that ROS induced a significant decrease in the number of proteins involved in protein metabolism and stress response, together with the increased abundance of proteins involved in redox metabolism. The hydroxyl radicals triggered a sharp decline in systems involved in protein metabolism (60S ribosomal proteins) and stress response (such as glutathione-S-transferases). On the other hand, H₂O₂ demonstrated slightly different pattern of induced proteomic changes, including changes in the redox metabolism (down-regulation of class III peroxidase proteins and up-regulation of glutathione-S-transferases) and heat shock protein abundance. We have also noticed a decrease in abundance of several cytoskeleton proteins, such as tubulin beta-chain proteins, under the H₂O₂ treatment. Overall, this study sheds the light onto unknown aspects of redox proteome in higher plants including previously unknown hydroxyl radical- and H₂O₂-specific protein expression modifications.

This work is supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with agreement № 075-15-2020-922 date 16.11.2020 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal budget of Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of a World-class Scientific Center “Agrotechnologies for the Future.”

References

1. Demidchik V. // Environ. Exp. Bot. 2015. 109, 212–228.
2. Pitzschke A., Forzani C., Hirtet H. // Antioxid. Redox Signal. 2006. 8(9–10), 1757–1764.



УДК 577.15

CYTOCHROMES CYP74 AND CATALASES INVOLVED
IN THE BIOSYNTHESIS OF OXYLIPINSGorina S.S.^{*}, Mukhtarova L.S., Toporkova Y.Y., Grechkin A.N.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

^{*}E-mail: gsvetlana87@gmail.com**Keywords:** catalases, cytochromes CYP74, oxylipins, polyunsaturated fatty acids.

Oxidized derivatives of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), oxylipins, are an important class of bioactive molecules that are widely present in aerobic organisms (animals, plants, bacteria, algae, etc.) [1, 2]. In plants, they participate in the regulation of growth, cell differentiation, morphogenesis, organogenesis, and play an important role in responses to biotic/abiotic stresses [3]. The significant amount of oxylipins is formed via the lipoxygenase pathway. Oxylipins formed during this pathway include the well-known jasmonates and their derivatives, as well as many other compounds such as hydroperoxy-, hydroxy, oxo- and epoxy derivatives of fatty acids, divinyl ethers, volatile aldehydes, etc. The first step in biosynthesis is catalyzed by the lipoxygenase producing either 9- or 13-hydroperoxide from PUFAs such as linoleic and alpha-linolenic acids. These derivatives serve as substrates for enzymes of the CYP74 family (P450 superfamily): allene oxide synthases (AOSs), hydroperoxide lyases (HPLs), divinyl ether synthases (DESs), and epoxyalcohol synthases (EASs).

We have identified novel oxylipins and unusual enzymes of their biosynthesis in different plants. Among them there are the first 13-specific DESs (RaDES (*Ranunculus acris*), SmDES1, SmDES2 (*Selaginella moellendorffii*)); the first 9-AOS member of the CYP74B subfamily (CYP74B33, *Daucus carota*), whereas all other members of this subfamily are 13-HPL, responsible for the formation of “green note” C6-aldehydes and C12-aldoacids; the first identified DES (AoDES, *Asparagus officinalis*) biosynthesizing the (11Z)-etheroleic acid and related isomers of divinyl ethers in flowering plant etc. Recombinant proteins were purified by immobilized metal-affinity chromatography. Products (oxylipins) purified by HPLC were identified by GC-MS and NMR data.

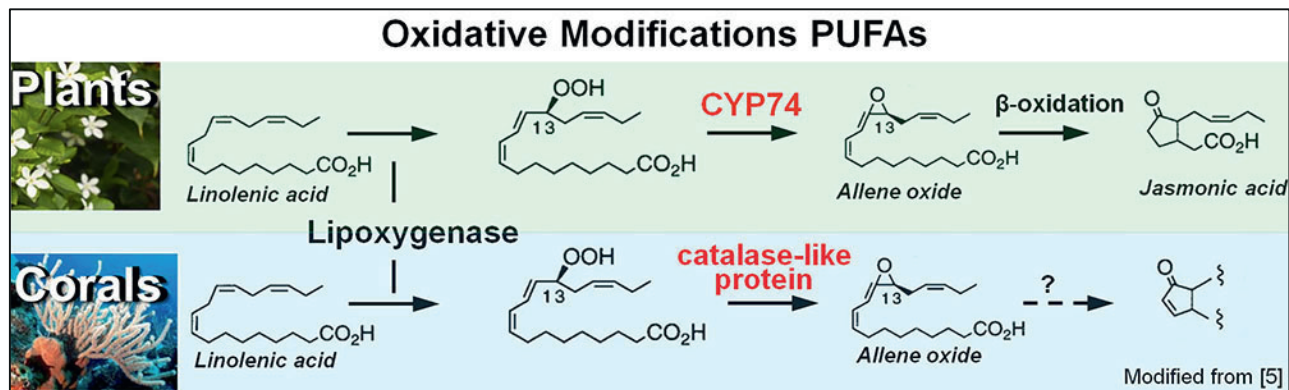
In invertebrates, such as coral polyps, it has been shown that catalases, rather than cytochromes P450, are responsible for the biosynthesis of a number of oxylipins. Although the most catalases are proteins involved in the metabolism of hydrogen peroxide, catalases of corals are involved in the metabolism of fatty acid hydroperoxides producing compounds similar to the AOS products; therefore, these enzymes were designated as catalase-like AOSs (cAOSs) [4]. We have identified novel catalase-like proteins in coral *Dendronephthya gigantea* and fungi *Fusarium proliferatum*. Enzyme from *D. gigantea* efficiently converts 9- and 13-hydroperoxide linoleic and alpha-linolenic acids into AOS and EAS products. The preferred substrates for the *F. proliferatum* enzyme are 9- hydroperoxides, which are converted into HPL and EAS products. The above-described enzymes (cytochromes CYP74 and catalases) are an example of the convergent evolution of metabolic pathways, when the final products are the main; and the enzymes of their biosynthesis in various organisms may be different.

Studies of the CYP74 enzyme were carried out with the financial support of the MK-903.2020.4. Studies of the catalytic properties of the catalases were carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (grant 20-04-01069-a). NMR analyses were performed under support of grant 20-14-00338 from Russian Science Foundation. Phylogenetic studies were carried out with financial support from the state assignment of the Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”.

References

1. Gerwick W.H., Proteau P.J., Nagle D.G., et al. // Hydrobiologia. 1993. 260, 653–665.
2. Göbel C., Feussner I. // Phytochemistry. 2009. 70, 1485–1503.

3. Wasternack C., Feussner I. // Annu. Rev. Plant Biol. 2018. 69, 363–386.
4. Boeglin W.E., Brash A.R. // J. Biol. Chem. 2012. 287, 24139–24147.
5. Tijet N., Brash A. // Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2002. 68-69, 423–431.



УДК 576.32/.36

PHOTOPROTECTIVE STRATEGIES OF A CHLOROPLAST

Gruszecki W.I.^{1*}, Zubik-Duda M.¹, Luchowski R.¹,
Grudzinski W.¹, Maksim M.^{1,2}, Nosalewicz A.²

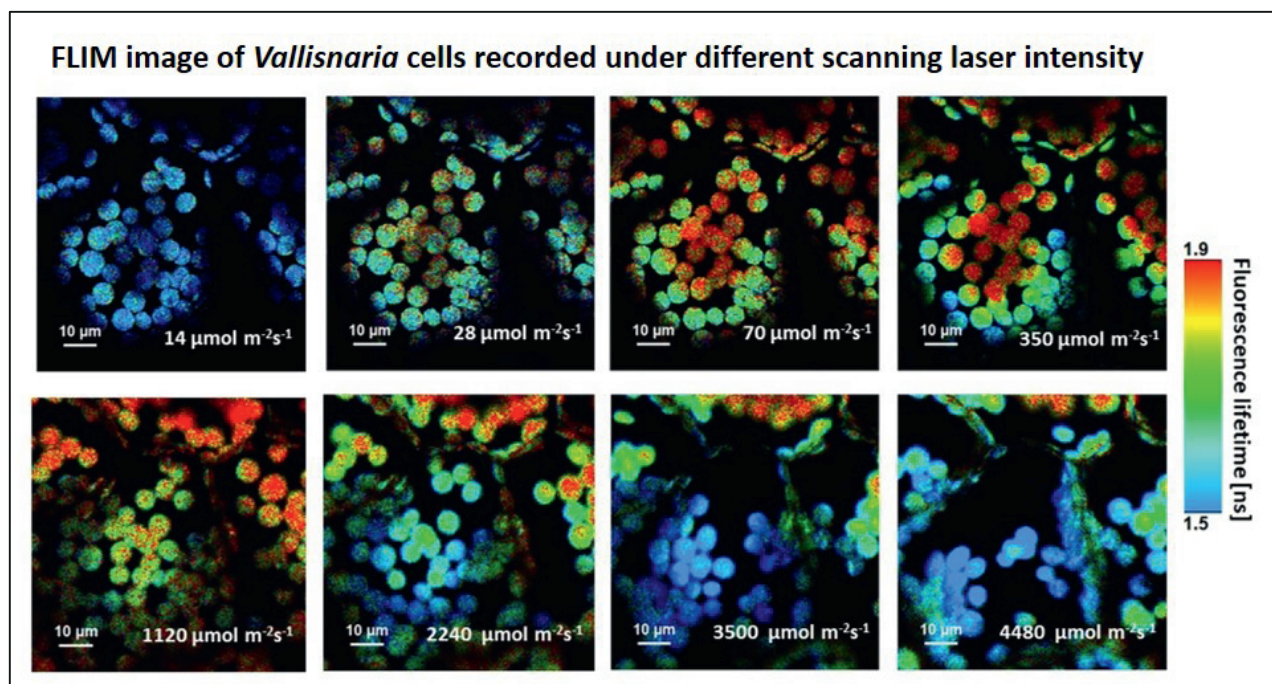
¹Department of Biophysics, Institute of Physics, Maria Curie-Skłodowska University, Lublin, Poland

²Institute of Agrophysics, Polish Academy of Science, Lublin, Poland

*E-mail: wieslaw.gruszecki@umcs.pl

Keywords: Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy, plant photosynthetic apparatus, photodamage.

The fact that plant photosynthesis operates in the extreme range of light intensities requires activity of numerous regulatory mechanisms, in particular those protecting the photosynthetic apparatus against photodamage. One of such regulatory mechanisms is associated with a chloroplast movement in the cell. Quenching of excessive excitations of chlorophylls is recognized to be one of the most important photoprotective mechanisms operating at the molecular level. This process can be followed *in vivo* by monitoring of chlorophyll *a* fluorescence lifetime. The application of Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM) of plant cells enables combined analysis of both chlorophyll excitation quenching and chloroplast movement. The results of our study show that both those regulatory mechanisms operate synchronously to shape the overall photosynthetic response at the cellular and molecular levels.



УДК 581.1:58.01/.07+579.64

PHYSIOLOGICAL RESPONSE AND THE ANTIOXIDANT STATUS OF *PHASEOLUS COCCINEUS* UNDER BACTERIAL STRAIN AND EXOGENOUS COPPER

Hanaka A.^{1*}, Nowak A.¹, Ozimek E.¹, Dresler S.^{1,2}, Plak A.¹,
Jaroszek-Ścisł J.¹, Zagórski P.¹, Reszczyńska E.¹

¹Maria Curie-Skłodowska University, Institute of Biological Sciences,
Department of Plant Physiology and Biophysics, Lublin, Poland

²Maria Curie-Skłodowska University, Institute of Biological Sciences,
Department of Industrial and Environmental Microbiology, Lublin, Poland

³Medical University, Department of Analytical Chemistry, Lublin, Poland

⁴Maria Curie-Skłodowska University, Department of Geology,
Soil Science and Geoinformation, Lublin, Poland

⁵Maria Curie-Skłodowska University,
Department of Geomorphology and Palaeogeography, Lublin, Poland

*E-mail: agnieszka.hanaka@umcs.pl

Keywords: *Phaseolus coccineus*, *Serratia plymuthica*, Cu excess, oxidative stress, secondary metabolites.

The knowledge about the interaction among plant, soil microorganisms and heavy metal is important from applicational point of view. It can help in the regulation of plant physiology in the face of adverse conditions in the environment. The soil bacteria from Spitsbergen seem to have potential for plant growth promotion and elevation of resistance in stress conditions. Then, even though copper (Cu) belongs to the key micronutrients, its elevated level can cause an oxidative stress leading to reactive oxygen species (ROS) production. Despite many studies conducted on each of the mentioned elements separately (plant, bacteria and Cu), it is still lacking knowledge about their interactions.

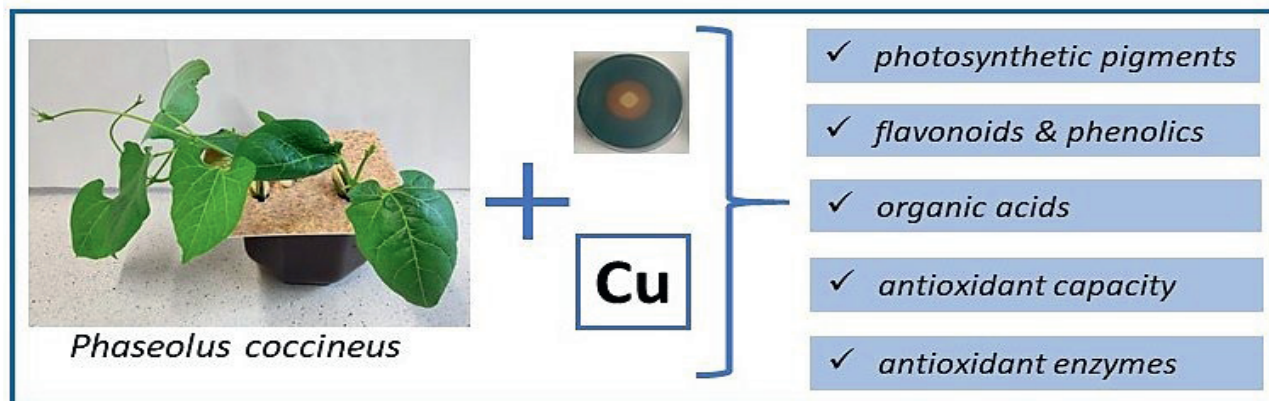
After 3-day germination, the plants of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.) were transferred to the Hoagland's medium in a growth chamber. One day after the transfer, part of the seedlings was cultivated with the addition of bacterial strain (*Serratia plymuthica* from the Spitsbergen soil; 1×10^8 colony forming units) and part was not. Three days after the transfer, Cu ($50 \mu\text{M}$ $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) was applied to some of the pots, and some were Cu-free. Then, the plants were cultivated for 14 days. In the above- and underground plant parts there were measured: biomass; contents of elements, photosynthetic pigments, total flavonoids, total phenolics and low-molecular weight organic acids; level of antioxidant capacity and activity of antioxidant enzymes. Data analysis was performed in Statistica 12.5 using the post-hoc Tukey's test. The aim of the study was to investigate the effects of *S. plymuthica* strain on the *P. coccineus* plants under Cu excess.

Regardless Cu presence in the environment, *S. plymuthica* did not cause any change in plant biomass. After bacteria inoculation in free of Cu treatments, contents of P and Zn in leaves and roots as the contents of N and Mo in leaves increased compared to treatments without bacteria. However, presence of bacteria in Cu excess showed higher content of K in leaves and P in roots of runner bean and lower carotenoid content than in non-inoculated treatments. Moreover, the concentration of total flavonoids and total phenolics were detected to be increased in leaves of plants Cu applied after strain addition compared to lack of bacteria in Cu environment. The decreasing trend in the content of tartrate, malate and succinate in roots of inoculated plants was observed in the absence of Cu in contrary to the treatments with the metal. Reverse dependency was shown for antioxidant enzymes, like superoxide dismutase and catalase in roots; namely in free of Cu environment, bacteria increased activity of the enzymes, but after Cu application bacteria decreased it similarly to the decrease in the level of antioxidant capacity. The achieved effects depended often on the plant part.

The data obtained indicate that although *S. plymuthica* did not modify the plant biomass, it demonstrated the potential to modulate physiological response and antioxidant status. It can mobilize significant elements for *P. coccineus*, which can be used in the nutrient-poor environments for plants. Furthermore, plants with higher contents of flavonoids and phenolics possess higher anti-reactive

oxygen species activity. Higher synthesis of low-molecular weight organic acids can also accelerate Cu detoxification. Increased activity of enzymes indicated intensive use of overproduced reactive oxygen species. The results show that *S. plymuthica* can help to reduce stress in runner bean plants caused by Cu excess.

This work was partially supported by the Polish National Centre (project no. 2017/01/X/NZ8/00859).



УДК 58.01/.07

**PRODUCTION OF CAROTENOIDS IN ALGAE AND HIGHER PLANTS:
AN OXIDATIVE STRESS RESPONSE MECHANISM****Kanwugu O.N.^{*}, Glukhareva T.V.**

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia

E-mail:nabayire@gmail.com*Keywords:** algae, antioxidants, carotenoids, plants, reactive oxygen species.

During autumn, we are easily captivated by the colorful attributes of leaves. However, amidst the picturesque view, in plain sight yet unremarked, is the work of carotenoids. Carotenoids are naturally occurring lipid-soluble terpenoid pigments, consisting of isoprene residues and a polyene chain of conjugated double bonds [1]. These pigments are widely disturbed in many life forms including, but not limited to, plants and algae, and are responsible for the wide variety of yellow-red colors seen in nature [1, 2]. During the past decades, carotenoids have attracted much attention in human nutrition and health mainly as antioxidants to lower the onset of aging and chronic diseases including cancer, cardiovascular diseases as well as age-related macular degeneration [3]. In addition, carotenoids are of high demand in the food and beverage industry as natural colorant. With a current global market estimated to exceed USD 1.5 billion, significant efforts and resources have been committed to understanding carotenoid metabolism in plants and algae, among other carotenoids producers [2].

In plants and algae, carotenoids play diverse roles spanning from their native role as accessory photosynthetic pigments to photomorphogenesis and protection against photo-oxidative damage [3]. Photosynthetic organisms such as plants and algae are constantly exposed to reactive oxygen species (ROS) and free radicals as a result of photorespiration, photoinhibition and the presence of ROS generators. Moreover, abiotic factors such as osmotic and thermal shock, heavy metals, air pollutants, mechanical stress, UV radiation, nutrient deprivation and high irradiance could disrupt the ROS homeostasis leading to oxidative stress [4]. To mitigate the detrimental effects of these highly reactive molecules plants and algae have over the years evolved sophisticated mechanisms to counter these molecules, one of such mechanisms is carotenogenesis. Due to the conjugated double bonds in their structure, carotenoids serve as potent photoprotective and antioxidant agents [4]. In the chloroplast, the principal source of ROS in plants and algae, carotenoids are reported to be the primary line of defense against toxicity, where they serve as quenchers and scavengers of chlorophyll-excited states and singlet oxygen species, dissipators of excess harmful energy [2]. It is, thus, prudent that carotenogenesis is regulated, to some extent, by the redox state of photosynthetic organisms like plants and algae.

In plants, one of the major factors that affect the expression level of carotenogenic genes is light [2]. It is well known that even during normal conditions when leaves (or plants) are exposed to light excitation energy photooxidation occur as a result of the donation of energy or electrons directly to oxygen and exposure of tissues to ultraviolet irradiation which inevitably leads to the generation of ROS. Thus, when plants are exposed excessive light photons more ROS are produced which consequently lead to reduction of electron transport efficiency and photosynthesis [5, 6]. To counter this photo-oxidative damage it has been reported that carotenogenesis is upregulated during conditions of excessive light exposure. For instance, it is reported that under nutrient deprivation high light leads to increased expression of phytoene synthase (PSY) and phytoene desaturase (PDS) genes. Similarly, high mRNA levels of Lycopene β -cyclase (β -LCY) was observed under high light conditions. Also, other environmental stresses i.e. drought, waterlogging, salinity, extreme temperatures, heavy metals and nutrient deprivation have been reported to increase photo-oxidation and ROS generation. Accordingly, these abiotic stresses have been observed to increase carotenogenesis [5]. Furthermore, Othman et al. [7], reported that growing potato minitubers under light resulted in twice as much carotenoids accumulation compared to growing under darkness, while

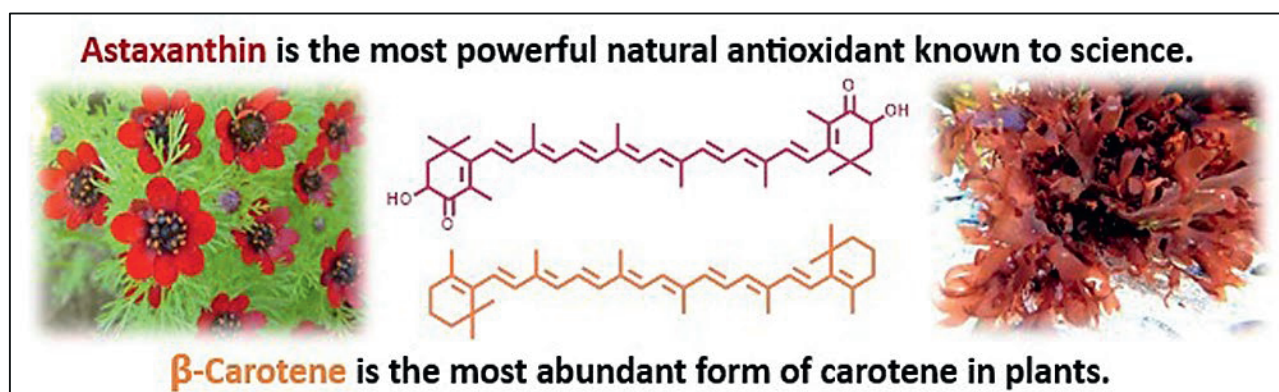
water stress and salt stress resulted in decreased carotenoid levels. Beyond these, treatment of sweet orange mutant with tert-butylhydroperoxide (a ROS generator) resulted in increased lycopene accumulation [8].

Similarly, algae counter elevated ROS production by increasing carotenogenic activity. Increased carotenoid production (up to 6 folds) by *Nannochloropsis oculata* was observed under salt and Cu^{2+} induced oxidative stress. Likewise, heavy metal-induced oxidative stress have been reported to increase carotenoid accumulation in *Spirulina platensis* and *H. pluvialis* [4]. Also, addition of various ROS generators such hydrogen peroxide, peroxyxynitrite, and sodium hypochlorite have been reported to induce increase carotenoid accumulation in several microalgae. In addition, ROS induced by a range of environmental factors including high light, nutritional deficit, osmotic stress and extreme temperature also results in increased accumulation of carotenoids in algae [9].

Thus, although regulation of carotenogenesis is multifaceted and quite complex in plants and algae, it is partly regulated by the redox state of these organisms.

References

1. Vachali P., Bhosale P., Bernstein P.S., Microbial carotenoids. In *Microbial carotenoids from fungi*, ed. by J.-L. Barredo, Berlin: Springer, 2012, 41–59.
2. Sun T., Yuan H., Cao H., *et al.* // Mol. Plant. 2018. 11(1), 58–74.
3. Pizarro L., Stange C. // Ciencia e investigación agraria. 2009. 36(2), 143–162.
4. Abidin A.A.Z., Yusof C.Y., Balia Z.N. // Sains Malaysiana. 2021. 50(2), 327–337.
5. Uarrotta V.G., Stefen D. L.V., Leolato L.S., *et al.* Revisiting carotenoids and their role in plant stress responses: From biosynthesis to plant signaling mechanisms during stress. In *Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants*, ed. by D.K. Gupta, J.M. Palma, F.J. Corpas. Berlin: Springer, 2018, 207–232.
6. Ksas B., Becuwe N., Chevalier A., *et al.* // Scientific Reports. 2015. 5(1), 10919.
7. Othman R., Hassan N.M., Hatta F.A.M., Influence of environmental stress toward carotenogenesis regulatory mechanism through *in vitro* model system. In *Carotenoids*. London: IntechOpen, 2017, 87–104.
8. Pan Z., Liu Q., Yun Z., *et al.* // Proteomics. 2009. 9(24), 5455–5470.
9. Solovchenko A.E. // Rus. J. Plant Physiol. 2013. 60(1), 1–13.



УДК 58.071

THE INFLUENCE OF EXOGENOUS ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS ON THE PRIMARY METABOLOME OF THE CULTURE OF *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM*

Kuznetsova A.^{1*}, Schumilina J.¹, Dynasty E.^{1,2,3}, Vasco Vidal A.²,
Soboleva A.^{1,2}, Westermann B.², Frolov A.^{1,2}

¹Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

²Institute of Plant Biochemistry, Halle, Germany

³Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
Yekaterinburg, Russia

*E-mail: alena_kyy@mail.ru

Keywords: *Rhizobium leguminosarum*, advanced glycation end products (AGEs), methylglyoxal, primary metabolites, rhizobia.

Rhizobial bacteria are nitrogen-fixing soil microorganisms capable of forming symbiotic associations on the roots of legumes. As one of the partners of symbiosis, they significantly affect the yield of legumes. It has been shown that aging and stress in plants are accompanied by the accumulation of advanced glycation end products (AGEs) [1]. However, the question of the influence of exogenous AGEs on rhizobia remains insufficiently explored. Therefore, the goal of this work was to study the effect of exogenous AGEs, in particular *N*^δ-(5-hydroxy-methyl-4-imidazolone-2-yl) ornithine (MG-H1), on the rhizobium metabolome. The culture of *Rhizobium leguminosarum* bv viciae RCAM1026 was incubated with 25 μmol/L of MG-H1 at 20 minutes, 5 and 18 hours. Primary metabolites were isolated from rhizobia by water-methanol extraction. Analysis of primary metabolites was carried out using gas chromatography coupled to electron impact quadrupole mass spectrometry (GC-EI-Q-MS). The search and identification of metabolites was performed using the AMDIS, MSDIAL, Xcalibur 3.0 and MetaboAnalyst software. During the analysis of experimental and control samples of *R. leguminosarum*, 62 primary metabolites were found. On the other hand, the addition of MG-H1 to the culture medium increased the level of metabolites involved in cellular energy processes. The addition of MG-H1 to the nutrient medium caused changes in the primary metabolome of rhizobia, expressed in the intensification of energy metabolism processes. However, the underlying mechanisms remain to be clarified.

This work was supported by the Russian Science Foundation (project 20-16-00086).

References

1. Paudel G., Bilova T., Schmidt R., *et al.* // J. Exp Bot. 2016. 67, 6283–6295.



УДК 577.13

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PHENOLICS ISOLATED FROM GREEN PARTS OF *GEUM RIVALE***Kysil E.V.^{1,2*}, Orlova A.A.³, Laub A.², Francioso A.⁴,
Povydysh M.N.³, Mosca L.⁴, Wessjohann L.A.², Frolov A.A.^{1,2}**¹Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia²Leibniz-Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany³Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia⁴Sapienza University, Rome, Italy

*E-mail: ekysil@ipb-halle.de

Keywords: *Geum rivale*, antioxidants, medicinal plants, plant phenolics.

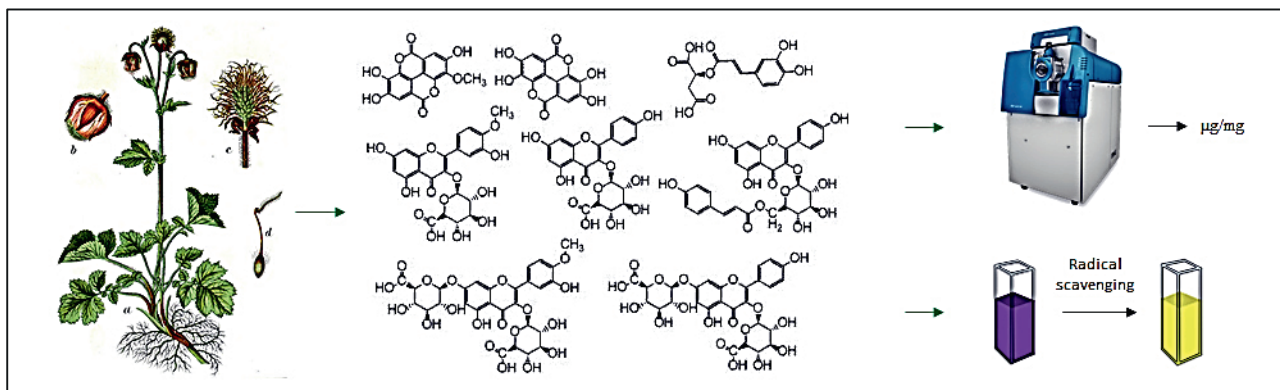
Geum rivale (fam. *Rosaceae*) is a medicinal plant widely used in folk medicine as anti-inflammatory, antiseptic, tonic remedy and for treatment of skin and gastrointestinal disorders. *Geum rivale* aerial and underground parts are rich in essential oils, triterpenes and the most extensively compounds from the group of polyphenols. Many of the plant phenolic compounds are known for their potent antioxidant activity. Since oxidative stress underlies or at least might worsen various pathological conditions (cancer, inflammatory disorders, neurodegenerative diseases, diabetes), research of the plant-derived antioxidants is of the great interest. Nowadays prospective role of increased antioxidants consumption in food and food supplements is not studied sufficiently and needs to receive more attention as one of the ways of the people's health and life quality improvement.

Previously antioxidant activity was shown for extracts and some pure compounds that can be isolated from *Geum rivale* (in literature and our preliminary studies). Therefore, ethyl acetate and water fractions of the *G. rivale* extracts were tested in radical scavenging assays (DPPH radical scavenging, Trolox equivalent antioxidant capacity and scavenging of superoxide radical (NBT assay)). To identify the active agents responsible for observed effects, eight individual compounds were isolated and their absolute quantification in extracts and tests of their radical scavenging activity were performed. The studied compounds included isorhamnetin-3-*O*- β -*D*-glucuronide, kaempferol-3-*O*- β -*D*-glucuronide, isorhamnetin-bis-3,7-*O*- β -*D*-glucuronide, kaempferol-bis-3,7-*O*- β -*D*-glucuronide, 6''-(4-hydroxycinnamoyl)astragalin, caffeoyl malic acid, ellagic acid and 3-*O*-methylellagic acid. Their structural identity and purity was previously confirmed by NMR study [1]. Additional tandem mass spectrometric structural analysis was performed for this study with a hybrid linear ion trap-orbital trap mass spectrometer (ESI-LIT-Orbitrap-MS). Absolute quantification relied on ultra-high-performance liquid chromatography coupled on-line to high-resolution tandem quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-ESI-QqTOF-MS) and a standard addition approach. In general, the ethyl acetate fraction contained higher amounts of the studied individual analytes in comparison to the aqueous one. Two compounds, namely 6''-(4-hydroxycinnamoyl)astragalin and 3-*O*-methylellagic acid, were barely present in water fraction: below quantification limit vs 9.76 ± 1.75 and 0.0043 ± 0.0007 vs 39.23 ± 1.45 $\mu\text{g}/\text{mg}$ of the dry extract). However, the aqueous fraction was approximately 4-5-folds richer with bis-glucuronides of kaempferol and isorhamnetin isolated from *Geum rivale* for the first time (1.22 ± 0.16 vs 0.23 ± 0.03 , and 1.88 ± 0.07 vs 0.48 ± 0.04 $\mu\text{g}/\text{mg}$ of the dry extract respectively).

This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with agreement № 075-15-2020-922 date 16.11.2020 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal budget of Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of a World-class Scientific Center "Agrotechnologies for the Future".

References

1. Orlova A.A., Whaley A.K., Ponkratova A.O., *et al.* // Phytochem. Let. 2021. 42, 41–44.



УДК 58.032.3

**EFFECTS OF SHORT-TERM DROUGHT ON METABOLISM
AND NUTRITIONAL PROPERTIES OF PEA (*PISUM SATIVUM* L.) SEEDS****Leonova T.^{1,2*}, Antonova K.², Soboleva A.^{1,2}, Tsarev A.², Dinastiia E.², Glomb M.A.³,
Henning Ch.³, Smolikova G.², Medvedev S.², Bilova T.², Wessjohann L.A.¹, Frolov A.^{1,2}**¹Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany²St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia³Martin-Luther University Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Germany

*E-mail: tleonova@ipb-halle.de

Keywords: advanced glycation end products (AGEs), drought, glycation, seed metabolism.

Glycation is usually referred to as an array of post-translational modifications of lysyl and arginyl protein residues with carbonyl compounds, predominantly reducing sugars and α -dicarbonyls. Resulting advanced glycation end products (AGEs) represent a highly heterogeneous group of amino acid adducts, only several dozens of which are well-characterized to date [1]. In mammals, elevated contents of AGEs accompany ageing of tissues, as well as pathogenesis of such severe disorders as diabetes mellitus and Alzheimer's disease [2]. Not less important, strong accumulation of AGEs accompanies plant development and ageing, as well as response to environmental stress [3]. Indeed, drought results in dramatic decrease of water potential of plant tissues triggering overproduction of reactive oxygen and nitrogen species [4]. To minimize stress effects plants can change the content of amino acids, polyamines, polyols and sugars [5]. However, the accumulation of reducing sugars may enhance monosaccharide autooxidation and generation of highly reactive α -dicarbonyl precursors of AGEs [6]. Although water deficit stimulates protein glycation in leaves, its effect on seed glycation profiles is still unknown. Therefore, here we address the effects of a short-term drought on the patterns of protein-bound AGEs and metabolome dynamics of pea seeds.

Pea plants were grown at 16 h light/8 h dark regimen at 21°C under 75% relative humidity. After formation of last pods, plants were subjected to two-day drought by replacing the medium with 2.5% (w/v) polyethylene glycol 8000 solution. Afterwards, the plants were grown till the end of seed maturation. After harvesting, seed metabolites were extracted using two different protocols. Three extracts – water-methanolic (primary metabolites), water-ethanolic (metabolites of energy metabolism) and organic (semi-polar secondary metabolites) – were received and analyzed with GC-MS and LC-MS.

The total protein fraction was isolated from pea seeds and subjected to exhaustive enzymatic hydrolysis. Resulted protein hydrolysates were analyzed and used for inflammation studies with human cell line. Quantitative analysis developed for known dietary AGEs was based on LC-MS/MS. Pea seed protein hydrolysates were tested for pro-inflammatory effects in a model of human neuroblastoma cell line SH-SY5Y using Luminex Bead-based Multiplex Assay.

A short-term drought resulted in the significant decrease of decrease of transpiration, water relative content and photosynthesis efficiency. However, biochemical markers demonstrated the minor intensity of stress. Meanwhile, seed germination test did not demonstrate significant changes suggesting that the damage extent to the seeds was minor.

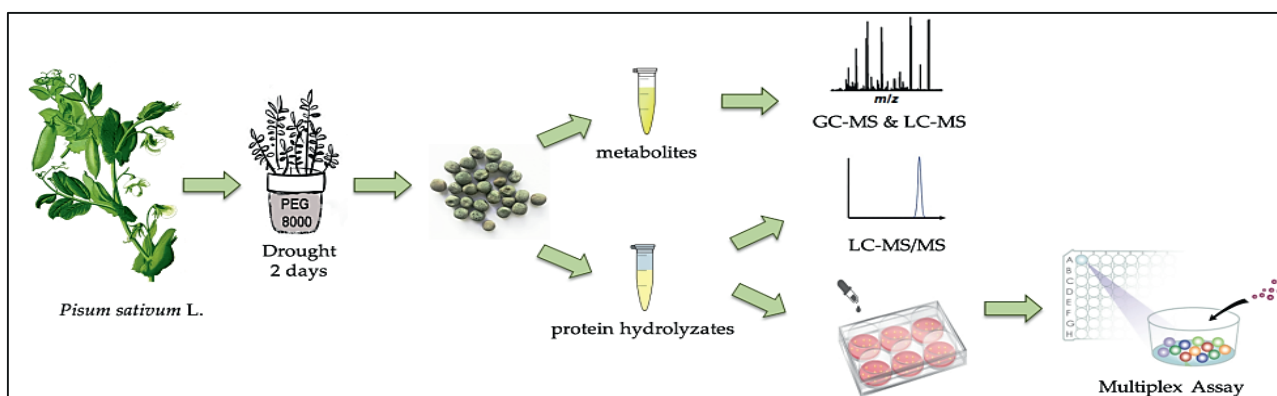
Metabolome analysis revealed the dramatic suppression of primary seed metabolism, although the secondary metabolome was minimally affected. This was accompanied by significant suppression of NF- κ B activation in human SH-SY5Y neuroblastoma cells after the treatment with protein hydrolysates, isolated from the mature seeds of drought-treated plants. However, analysis of known dietary AGEs did not reveal changes in contents of corresponding glycation adducts. Most likely, the prospective anti-inflammatory effect of short-term drought is related to mobilization of the biochemical mechanisms of antioxidant effects, or down-regulation of unknown plant-specific AGEs due to suppression of energy metabolism during seed filling.

The observed changes in the profiles of biological activity can be explained by drought-related alterations in the patterns of primary metabolites. Given the contents of the marker AGEs were not affected by drought, decrease in formation of some unknown glycation products can be proposed.

This work is supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with agreement № 075-15-2020-922 date 16.11.2020 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal budget of Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of a World-class Scientific Center “Agrotechnologies for the Future”.

References

1. Vistoli G., De Maddis D., Cipak A., *et al.* // Free Radic. Res. 2013. 47(S1), 3–27.
2. Uribarri J., Dolores M., Pía M., *et al.* // Adv. Nutr. 2015. 6, 461–473.
3. Bilova T., Greifenhagen U., Paudel G., *et al.* In *Abiotic and Biotic Stress in Plants – Recent Advances and Future Perspectives*. InTech, 2016.
4. Kar R.K. // Plant Signal. Behav. 2011. 6(11), 1741–1745.
5. Singh R., Gupta P., Khan F., *et al.* // Plant Sci. 2018. 272, 42–54.
6. Wolff S.P., Dean R.T. // Biochem. J. 1987. 245(1), 243–250.



УДК 577.11

**REDOX PROTEOME OF DIFFERENT FUNCTIONAL ZONES
OF *FUCUS VESICULOSUS* THALLI****Lukasheva E.M.^{1*}, Frolova N.V.^{1,3}, Danko K.V.¹, Tsarev A.A.¹, Lemesheva V.S.¹,
Bilova T.E.¹, Ihling C.², Sinz A.², Tarakhovskaya E.R.¹, Frolov A.A.^{1,4}**¹Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia²Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Center for Structural Mass Spectrometry,
Halle (Saale), Germany³University of Leipzig, Leipzig, Germany⁴Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany

*E-mail: e.lukasheva@spbu.ru

Keywords: *Fucus vesiculosus*, bottom-up approach, LC-MS/MS, proteomics.

Brown algae of the order Fucales have high demand in the fields of nutrition, technology, medicine and ecology. Traditionally, attention in biochemical studies of these algae was given to the specific polysaccharide compounds i.e. agars and carrageenans. Currently, scientific interest was refocused to low-molecular weight metabolites and proteins [1]. Because of their relatively high protein content (up to 40 % DW), two-dimensional gel electrophoresis (2D-GE) was the most popular method to address algal proteomes. This approach however does not give a comprehensive picture, especially for oxidated and post-translationally modified proteins making algal proteomics and oxidative proteomics a still unexplored area of plant physiology and biochemistry.

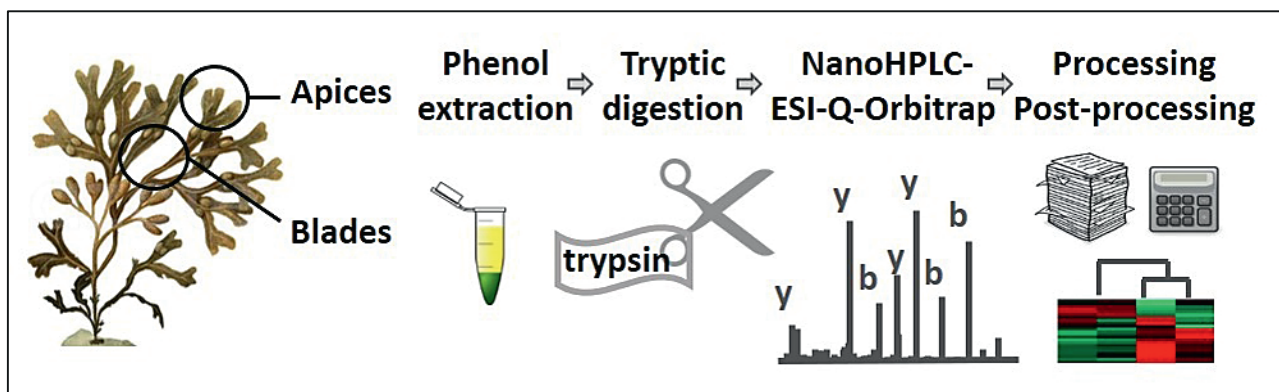
The major focus of this work was to analyze the proteome and redox-proteome of the well-differentiated parenchymatous thallus of brown macrophyte *Fucus vesiculosus* in connection with inter-zone differences. Its different morphological zones (apices and blades) were harvested in the White Sea shore, and a whole-protein fraction was isolated by phenolic extraction. Bottom-up gel-free proteomics approaches were applied as the as the most efficient state of the art technique [2]. After tryptic digestion and purification by solid phase extraction (SPE), the resulted peptides were analyzed by nano-HPLC/nano-ESI-LTQ-OrbitrapXL-MS/MS. Identification of peptides and protein annotation relied on the searches by SEQUEST engine against a combined database, composed of protein sequences of *Fucus sp.*, *Saccharina sp.*, *Laminaria sp.*, *Ascophyllum sp.*, and *Ectocarpus siliculosus*. The mass increments corresponding to oxidated methionine, oxidated tryptophan and tryptophan oxidative derivates such as kynurenine, oxolactone and hydroxykynurenine as well as several advanced glycation end-products (AGEs) were also included in searches settings. Label-free relative quantification (LFQ) of proteins relied on the Progenesis QI software and statistical interpretation in R studio. Functional annotation and prediction of cell localization was postprocessed with KEGG and GO tools.

We show that among 767 annotated non-redundant proteins the majority are involved into protein metabolism, photosynthesis and oxidative phosphorylation. 254 proteins were found to be specific for apices and 63 – for blades. Thus, in apices the most abundant group included ribosomal proteins, translation initiation factors, and tRNA ligases, while blades possessed multiple components of photosystems I and II, such as light harvesting complexes, zeaxanthin epoxidase and ferredoxin-NADP oxidoreductase. Expectedly, oxidized methionine residues were predominant over modified tryptophane residues (301 and 146, respectively) as well as modified arginine over lysine residues (115 and 52, respectively). GO enrichment analysis of oxidatively modified proteins revealed protein clusters to be connected with ATP-ase activity and glycolytic processes. The functional annotation of modified proteins that are differentially expressed in apices and blades will be discussed.

This research was funded by the Russian Foundation for Basic Research (project 20-04-00944).

References

1. Yanshin N., Kushnareva A., Lemesheva V., *et al.* // *Molecules*. 2021. 26(9), 2489
2. Smolikova G., Gorbach D., Lukasheva E., *et al.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. 21(23), 9162.



УДК 634.8:581.1:58.071

IMPACT OF MICROORGANISMS PRIMING ON OXIDATIVE PROCESSES AND ANTIOXIDANT DEFENCE SYSTEM OF GRAPES INFECTED WITH DOWNY MILDEW

Lutskiy E.O., Mishko A.E., Sundyeva M.A.*

Federal State Budget Scientific Institution «North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making», Krasnodar, Russia

*E-mail: mari.sundy@bk.ru

Keywords: *Bacillus subtilis*, *Plasmopara viticola*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Venturia inaequalis*, antioxidant system, compatible interaction.

Priming of plants with natural agents including microorganisms is a promising alternative to chemical methods of protection in growing plants and, particularly, in viticulture. However, the molecular mechanisms of priming phenomenon are still not fully elucidated. The antioxidant system and reactive oxygen species are known to effectively modulate the plant response to various external influences. The study aimed to identify the relationship between the priming of grapes by microorganisms and the functioning of the antioxidant system in a protective response to downy mildew infection. The experiment was carried out on leaf disks of Muscat blanc susceptible to downy mildew infected with *Plasmopara viticola* (Pv) and treated with incompatible microorganisms as well as with the corresponding symbiotic ones.

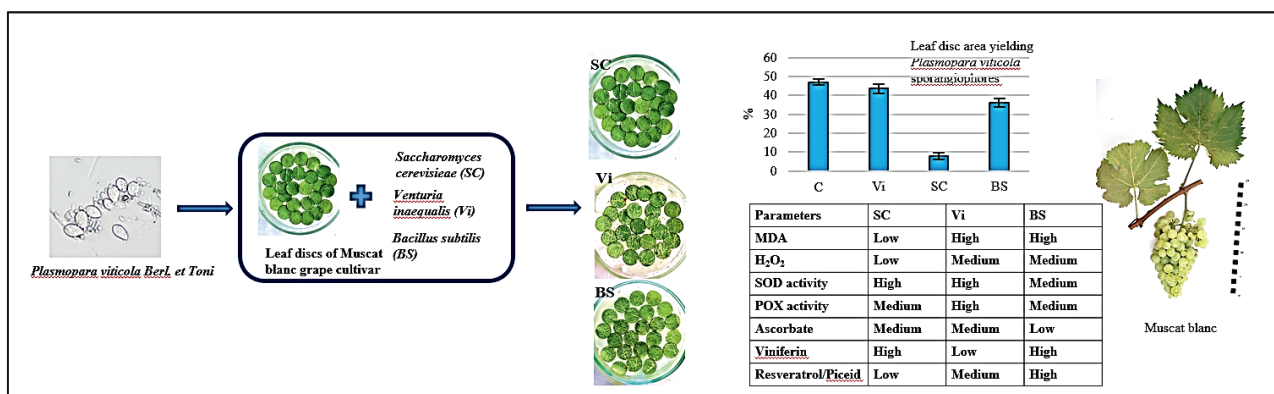
Venturia inaequalis (Vi) treatment appeared to be ineffective in controlling Pv. The production of H₂O₂ decreased relative to the control at 48 hpi. Infection with Pv against the background of Vi restored the content of hydrogen peroxide to the control level at 48 hpi, while it was above the control at 96 hpi. Thus, oxidative processes during Pv infection against the background of Vi seems to be quite pronounced, while SOD activity increased, and POX activity was lower than by Pv infection alone. No changes in the content of ascorbic acid and viniferin were observed, while resveratrol and piceid increased as compared to the control. Supposedly, Vi is able to neutralize some effects resulting from the compatible interaction of grapes with Pv. However, to curb the growth of Pv, it is necessary to “correct the direction” of oxidative processes towards the conversion of phenolic compounds. In addition, a low accumulation of H₂O₂ with its compatible interaction with a biotrophic pathogen may be insufficiently toxic for the pathogen and, therefore, may be unable to inhibit the growth of the pathogen [1]. The content of hydrogen peroxide, TBARS, SOD activity increased in *Bacillus subtilis* (Bs) treatment at 48 hpi, which was more effective in controlling of downy mildew development. Noteworthy, the degradation of ascorbate occurred most intensively in Bs after the Pv infection in the experimental variants. Infection of plants with pathogens leads to lipid peroxidation [2], i.e. the cell membrane gets disrupted and cellular integrity gets destroyed, which leads to further ROS formation. The lack of change in antioxidant capacity may be the cause of lipid peroxidation or oxidative processes in susceptible cultivars. At the same time, these processes could be considered as an attempt of a susceptible cultivar to activate the first line of defense reactions using a burst of ROS [1, 3]. Importantly, Bs significantly increase the formation of viniferin above the control values. Thus, with Bs priming, the effect of compatible interaction between grapes and Pv decreases, while the formation of a toxic oxidized form of resveratrol (viniferin) increases; however, the latter reaction does not suffice for suppressing the development of Pv. The most effective *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) treatment showed similar changes brought to Pv infection in lipid peroxidation rates. The SOD activity was higher than the control, and at 96 hpi it increased significantly in Sc+Pv, which led to an increase in the H₂O₂ content. The POX activity in infected and uninfected Sc leaves did not change. Ascorbate degradation in Sc+Pv, in contrast to Bs+Pv, was less intense. The decrease in piceid and resveratrol content and the corresponding significant increase in the viniferin content during Pv infection against the background of Sc indicates “effective” oxidative processes inducing the formation of viniferin.

The study has revealed that *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae* priming, which reduced the development of *Plasmopara viticola* on grape leaves, ensures a higher level of H_2O_2 and maintains the associated SOD activity, as well as inhibits the growth of peroxidase activity in the susceptible Muscat blanc grape variety, thus preventing the compatible interaction between *P. viticola* and *Vitis vinifera*. The experiment showed that lipid peroxidation did not have a significant effect on the control of downy mildew development. Therefore, a substrate for peroxidases can be assumed to play one of the key roles in the effective suppression of downy mildew development, since by a decreased resveratrol concentration a more pronounced formation of viniferin was observed in the most effective *S. cerevisiae*, while in less effective *B. subtilis* an intensive degradation of ascorbate took place. An additional antagonistic action by priming agents might be needed to secure a more effective containment of downy mildew development on susceptible grape varieties.

The reported study was funded by RFBR according to the research project № 19-016-00210 A.

References

1. Nascimento R., Maia M., Ferreira A.E.N., *et al.* // Plant Physiol. Biochem. 2019. 137, 1–13.
2. Patel T.K., Williamson J.D. // Trends in Plant Sci. 2016. 21(6), 486–497.
3. Mandal S., Das R. K., Mishra S. // Plant Physiol. Biochem. 2011. 49, 117–123.



УДК 582.32

**CLASS III PEROXIDASE GENES IN THE MOSS *DICRANUM SCOPARIUM*:
IDENTIFICATION AND ANALYSIS OF EXPRESSION IN RESPONSE
TO ABIOTIC STRESSES****Onele A.O. *, Mazina A.B., Leksin I.Y., Chasov A.V., Minibayeva F.V.**

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC KazSC RAS, Kazan, Russia

*E-mail: donjay.ao@gmail.com

Keywords: bryophytes, class III peroxidase, gene identification and expression, mosses, reactive oxygen species.

Mosses, liverworts, and hornworts are among the oldest terrestrial plants, having evolved from early diverging embryophyte lines. As a result, bryophytes are in an ideal phylogenetic position for understanding past evolutionary changes in plants during “plant invasion”, one of the most momentous episodes in Earth's history. Mosses are well-known for their resistance to harsh environmental conditions, and they are frequently used by researchers as model organisms to study stress responses. One of the most important processes under stress is the change in redox metabolism. The evolutionary development of aerobic metabolic processes, such as respiration and photosynthesis, inevitably led to the formation of reactive oxygen species (ROS) in mitochondria, chloroplasts, peroxisomes and other important plant organelles. Some ROS are extremely toxic, whereas others are readily detoxified by diverse cellular enzymatic and non-enzymatic systems.

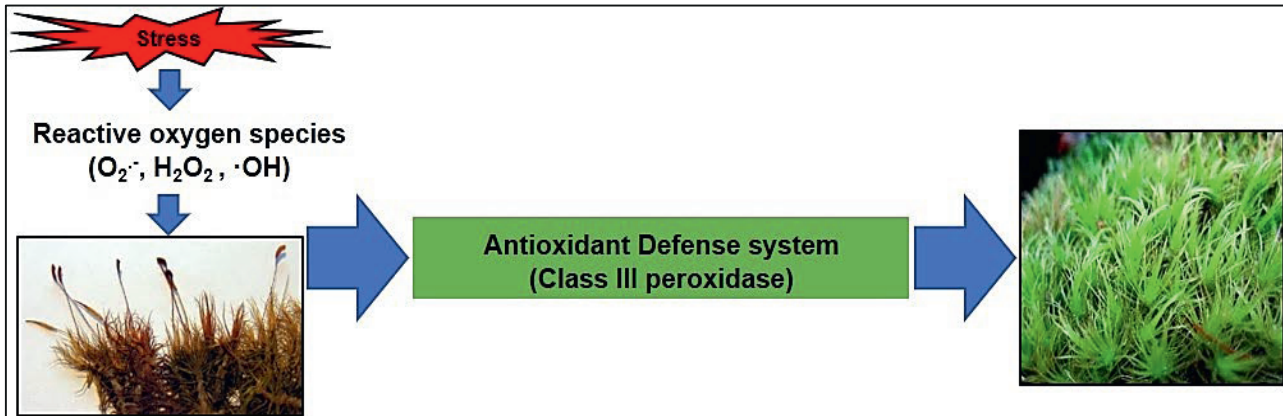
It has been reported that increased class III peroxidase (POD) activity correlates with resistance to adverse conditions in the vascular plants. They catalyze the oxidation of diverse substrates using hydrogen peroxide (H₂O₂). In almost all plant species, class III PODs are characterized by diversity of isoforms and comprise large multigene families. Bryophyte PODs, like vascular plant PODs, are anticipated to play crucial roles in stress response and ROS detoxification, however, only few reports exist on the expression of class III POD genes in mosses in response to abiotic stresses.

In this study, genes encoding class III PODs were identified in the moss *Dicranum scoparium*. Domain analysis using bioinformatic tools showed that all amino acid sequences of the identified genes contain POD domain for class III PODs and were designated as *DsPODs*. Analysis of *DsPOD* proteins revealed that they all possess important sites necessary for enzymatic activity. Prediction of secondary structure indicated that these proteins mainly consist of α -helix and random coils. Phylogenetic analysis demonstrated that *DsPODs* are clustered in different branches of the phylogenetic tree, probably due to the diverse nature of POD isoforms or duplication event in the genome of *D. scoparium*. Expression analyses using RT-qPCR demonstrated that *DsPOD1*, *DsPOD2*, *DsPOD6* and *DsPOD8* genes are induced and stably expressed when *D. scoparium* is exposed to different stress treatments such as CdCl₂, paraquat, unfavorable temperatures, and hydration-desiccation-rehydration stresses.

Our results revealed that CdCl₂ upregulated the expression of *DsPOD1*, *DsPOD2*, *DsPOD6* and *DsPOD8* genes, although only *DsPOD2* was upregulated following long-term exposure to CdCl₂. These four genes were also upregulated by long term exposure of the moss to paraquat. In addition, temperature stress also affected the expression of these four isoforms. *DsPOD1* and *DsPOD2* were induced by exposing moss thalli to a freezing temperature for 1 h. Also, short- and long-term exposure of mosses to +30 °C and –20 °C upregulated *DsPOD6*. Hydration-desiccation-rehydration stress gradually upregulated *DsPOD2* reaching the highest levels of gene expression after 24 h. Similarly, expression of *DsPOD6* also gradually increased after desiccation for 24 h, with highest expression occurring after 0.5 h. *DsPOD8* expression was highly induced after 1 h hydration, just before desiccation.

The changes in the expression of *DsPOD* genes in response to CdCl_2 , paraquat, unfavorable temperature and hydration-desiccation-rehydration stresses strongly suggest that peroxidases may play a protective role against oxidative damages caused by these stresses in the moss *D. scoparium*.

This study was supported by the government assignment of FRC Kazan Scientific Center of RAS, the joint grant of Russian Foundation for Basic Research (RFBR) and Government of Republic of Tatarstan (grant No. 18-44-160031), Russian Foundation for Basic Research (RFBR), Russia (grant No. 20-04-00721).



УДК 581.1

REDOX MODIFICATIONS OF ORGANIC ACID METABOLISM IN PLANT RESPONSES TO THE STRESS EFFECT OF ZINC AND CADMIUM**Osmolovskaya N.G.^{1*}, Vu V.D.¹, Bilova T.E.¹, Kuchaeva L.N.¹,
Tarakhovskaya E.R.¹, Shumilina Yu. S.¹, Frolov A. A.^{1,2}**¹Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia²Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle, Germany

*E-mail: n.osmolovskaya@spbu.ru

Keywords: *Amaranthus caudatus*, heavy metals, organic acids, oxidative stress, TCA cycle.

The primary targets of Cd- and Zn - induced stress damages, as of the non-redox active heavy metals (HM), are binding sites of transport proteins and enzymes which in turn causes ionic disturbance and metabolic and redox imbalance or triggers signaling events that can lead to acclimation [1]. Organic acids metabolism is of fundamental importance in plants and malate, citrate and oxalate considered as key cellular ligands for HM ions chelation in modulating plant tolerance to HM stress [2, 3]. This however is not entirely consistent with the idea of HM induced ROS generation and initiation of oxidative stress, which can cause inhibition of TCA cycle enzymes and a decrease in the synthesis of organic acids. [4]. Currently the mechanism of avoiding HM-invoked redox stress in mitochondria is believed to be in activation of an alternative oxidase (AOX) [2] supposedly through citrate inducing expression of the AOX gene [5].

Earlier we reported that C4 amaranth plants show an increase in oxalate pool in the leaves when exposed to sublethal (1–10 μ M) concentrations of Cd, which is consistent with oxalate involvement in Cd chelation and tolerance [6]. The subject of the present work was the study of modifications in organic acids metabolism in response to Cd and Zn stress in amaranth roots and in young and mature leaves. The study was carried out on 42-day amaranth plants *Amaranthus caudatus* L., exposed in a water culture to 7 days of CdSO₄ or ZnSO₄ in concentrations of 90 μ M or 300 μ M. The thermally stabile metabolites were analyzed by gas chromatography electron ionization-quadrupole mass spectrometry (GC-EI-Q-MS).

Among over 400 detected metabolites, about 100-140 were differently (more than 1.5-fold, $p < 0.05$) abundant in HM stressed as compared to the control plants with 2/3 being up regulated. In the control, oxalate prevailed among the key organic acids with a maximum in mature leaves. When exposed to Cd or Zn stress its content in mature leaves increased up to 1.7 and 1.2 times, in young leaves it remained unchanged, and in the roots it decreased by 1.5 times. Malate and succinate were the most abundant among TCA intermediates and in response to Cd malate increased quite intensively in mature leaves (by 4.3 times compared to 2 times under Zn) while in young leaves and roots the effects of both HM were poorly expressed. Succinate content did not change in case of Cd but decreased in Zn treated plants whereas citrate levels remained stable (as of most other TCA intermediates) or slightly increased.

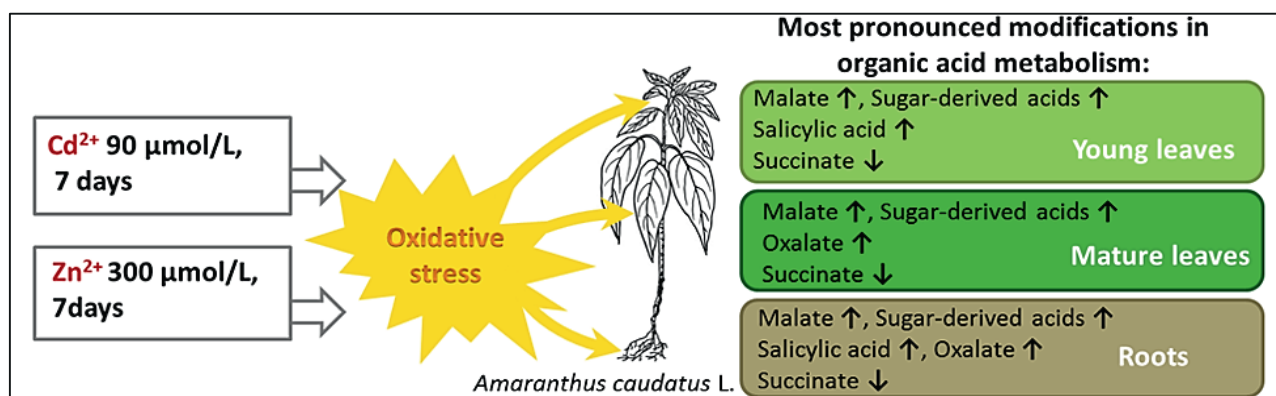
A number of fatty and aromatic acids (shikimic, arachidonic, adipic, cinnamic, caffeic, ferulic, benzoic acids and others) known as antioxidants or precursors in lignin biosynthesis were upregulated in particular in roots and young leaves, which suggests their participation in the adaptation of amaranth plants to Cd/Zn stress. The most pronounced increase was in the content of salicylic acid recognized as signaling molecule under stress, which in case of exposure to Zn reached 27 times in the roots and 23 times in the young leaves. Finally, a sharp rise was noted in the content of sugar-derived acids more pronounced in the roots, where the levels of gluconic acid increased by 14 and 24 times when exposed to Cd and Zn, which indicates its possible role in the chelation of HM in amaranth roots.

The results obtained suggest that in *A. caudatus* plants in response to chronic Cd or Zn stress several metal- and organ-specific mechanisms of acclimation triggered including those associated

with the maintaining of TCA cycle and mitochondrial activity. This is in good agreement with the idea of possible involvement of AOX during acclimation to metal exposure, which provides a decrease in ROS production [2] and modulation of the TCA cycle along the way of ensuring the synthesis of malate and citrate, as key ligands during the sequestration of HM ions in vacuole. Besides, the observed increase in malate and citrate content is consistent with the idea of TCA cycle transformation from a closed to an open structure with the formation of malate and citrate “valves” when the redox level in the cells increases [5] which can also be an adaptive mechanism in case of Cd and Zn stress. Based on the proposed isocitrate pathway as dominant to oxalate biosynthesis [5], the connection is supposed between the established intensification of oxalate accumulation in mature amaranth leaves under HM stress with the stress-induced transformation of the TCA cycle.

References

1. Sharma S., Dietz K.-J. // Trends Plant Sci. 2009. 14(1), 43–50.
2. Keunen E., et al. // Env. Exper. Bot. 2016. 124, 64–78.
3. Osmolovskaya N.G., Vu V.D., Kuchaeva L.N. // Biol. Comm. 2018. 63 (1), 9–16
4. Dumont S., Rivoal J. // Front. Plant Sci. 2019. 10, 166.
5. Igamberdiev A.U., Eprintsev A.T. // Front. Plant Sci. 2016. 7, 1042.
6. Osmolovskaya N.G., et al. // Rus. J. Plant Physiol. 2018. 65(4), 553–562.



УДК 581.1

MDIVI-1, AN INHIBITOR OF DYNAMINE GTPASES, INFLUENCES THE MITOCHONDRIAL MORPHOLOGY, REDOX AND ENERGY STATES OF WHEAT ROOTS

Rakhmatullina D.F.^{*}, Ponomareva A.A., Mazina A.B., Minibayeva F.V.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics FRS KazSC RAS, Kazan, Russia

^{*}E-mail: rahmatullina@kibb.knc.ru

Keywords: fission, fusion, mitochondria.

In eukaryotic cells, mitochondria perform many functions, including the production of ATP during oxidative phosphorylation, maintenance of cytosolic calcium levels, generation of reactive oxygen and nitrogen species, etc. [1]. It is obvious that maintaining the functional activity of mitochondria is of particular importance under stressful conditions. Mitochondria are dynamic organelles that undergo division, fusion, changes in morphology, intracellular localization, as well as an increase or decrease in their number. It is known that the cellular architecture of mitochondria and the dynamic reorganization of the mitochondrial network (mitochondrial dynamics) are regulated by a number of recently identified proteins, most of which are dynamin-like proteins and are GTPases. Thus, Drp1 performs mitochondrial fragmentation, while mitochondrial fusion is regulated by mitofusins (Mfn1, Mfn2), which ensure the fusion of the outer membrane, and the optical atrophy protein (Opa1), which promotes the fusion of the inner membrane. These proteins play an important role in mitochondrial biogenesis, regulation of the cell cycle, cell survival and death, as well as in the development of many diseases.

In contrast to animal cells, in which mitochondria are more likely to represent a dynamic network [2], in a typical plant cell, mitochondria are represented by a population of several hundred discrete organelles, the morphology of which can vary from spherical to tubular forms. Dynamic changes in mitochondria in plant cells have been studied to a lesser extent than in yeast and mammalian cells [4]. In Arabidopsis plants, homologues of proteins of the mitochondrial fragmentation apparatus DRP1 (dynamin related protein 1), AtDRP3A and tDRP3B, have been identified. These proteins are located in the cytosol and bind to the mitochondrial fragmentation site using the Elongated Mitochondria 1 (ELM1) protein located on the outer mitochondrial membrane. The question of how the fusion of plant mitochondria occurs remains open.

Inhibition of Drp1 leads to elongation of mitochondria and delays their fragmentation during apoptosis of mammalian cells. However, in the absence of Drp1, mitochondrial division is not completely prevented. An effective pharmacological approach for preventing mitochondrial fragmentation in animal cells is the use of Mdivi-1, a specific inhibitor of dynamin GTPases. Mdivi-1 (mitochondrial division inhibitor – 3-(2,4-dichloro-5-methoxyphenyl)-2,3-dihydro-2-thioxo-4 (1H)-quinazolinone) was first described by Cassidy-Stone et al. [5] as an inhibitor of Drp1 function in yeast and mammalian cells.

Considering the facts of a stress-induced increase in the size of plant mitochondria, as well as the presence of homologues of dynamin GTPases in plant cells, the purpose of this study was to study the changes in the morphology and activity of mitochondria following targeted induction of mitochondrial fusion using Mdivi-1, as well as to analyze the changes in the activity of other metabolic pathways in the cells of wheat roots. The tasks of the study included the assessment of the level of energy status of mitochondria in the roots treated with Mdivi-1. In addition, the changes in the redox status, induction of autophagy, and the expression of genes encoding the key energy sensor AMP-dependent protein kinase SnRK1 and the glycolysis enzyme GAPDH were analyzed.

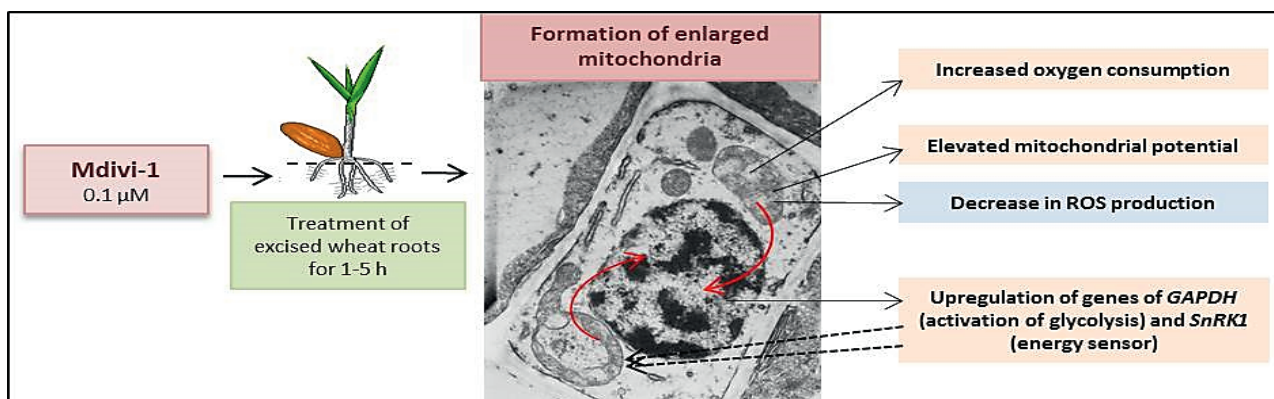
It was found that incubation of wheat roots with 0.1 μ M Mdivi-1 induces an increase in the size of mitochondria, upregulates their energy status and the metabolic activity of whole cells. This is evidenced by an increase in oxygen consumption, and the level of mitochondrial potential, and the

changes in the production of reactive oxygen species (ROS). The formation of autophagosomes in the cells of control roots excised from seedlings and incubated for 3 h in 0.25 mM CaCl_2 may indicate the degradation of damaged cellular structures. Interestingly, no autophagosomes were observed in the presence of Mdivi-1. An increase in the expression level of genes encoding the energy sensor SnRK1 and the glycolytic enzyme GAPDH after prolonged (5 h) exposure to Mdivi-1 suggests that a redistribution of the input of the main energy-producing metabolic pathways to the total energy status occurs in the cells with fused mitochondrial phenotype.

Thus, the treatment of wheat roots with Mdivi-1, a GTPase inhibitor, can block the fragmentation of mitochondria resulting in the appearance of enlarged mitochondrial phenotype with high membrane potential. We suggest that the fusion of mitochondria in plant cells enhances the efficiency of the functioning of the respiratory chain and helps to avoid the excess ROS formation and associated cell damage. Increased activity of mitochondria requires the additional resources from other energy sources such as glycolysis.

References

1. Smith G., Gallo G. // Dev. Neurobiol. 2017. 77(11), 1260–1268.
2. Pagliuso A., Cossart P., Stavru F. // Cell. Mol. Life Sci. 2018. 75(3), 355–374.
3. Logan D. // Semin. Cell. Dev. Biol. 2010. 21, 550–557.
4. Kianian P., Kianian S. // Front. Plant Sci. 2014. 5, 1–5.
5. Cassidy-Stone A., Chipuk J., Ingberman E., *et al.* // Dev. Cell. 2008. 14(2), 193–204.



УДК 577.121

DROUGHT-RELATED CHANGES IN CARBONYL METABOLOME OF PEA ROOT NODULES

Soboleva A.^{1,2*}, Frolova N.^{1,3}, Bureiko K.^{1,2,4}, Shumilina J.¹, Balcke G.U.², Zhukov V.A.⁵, Igor A., Tikhonovich I.A.^{1,5}, Birkemeyer C.³, Frolov A.^{1,2}

¹St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

²Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany

³Institute of Analytical Chemistry, Universität Leipzig, Leipzig, Germany

⁴Institute of Biomedicine, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

⁵All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Russia

*E-mail: Alena.Soboleva@ipb-halle.de

Keywords: derivative stability, 7-(diethylamino)coumarin-3-carbohydrazide (CHH), drought, legume-rhizobial symbiosis, osmotic stress, pea (*Pisum sativum*), reactive carbonyl compounds (RCCs), root nodules.

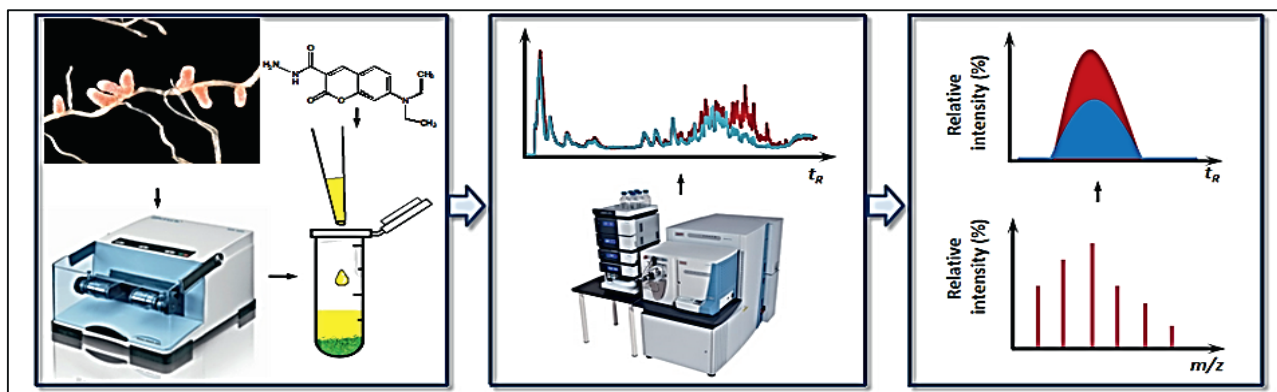
The global climate changes represent one of the major challenges in the modern world. Indeed, drought is the critical environmental factor reducing world crop productivity. At the organism level, water stress and dehydration trigger an array of adaptive responses, featured with multiple alterations in plant metabolism and physiology. At the physiological level, water stress and dehydration are manifested with stomata closure and suppression of photosynthesis. These events trigger enhancement of reactive oxygen species generation and development of oxidative stress, which might cause tissue injury, apoptosis and necrosis. At the molecular level, oxidative damage is manifested by lipid peroxidation and formation of reactive carbonyl compounds (RCCs), which readily react with side chains of amino acid residues in proteins resulting in carbonylation of proteins. The imbalance of carbonyls production and scavenging causes pathophysiological conditions that accelerate ageing. Here, we specifically addressed drought-related changes of the carbonyl compound profile in the nodules of the roots of pea (*Pisum sativum*) because drought stress affected on nitrogen fixation. In the plant root, osmotic stress disrupts cellular ionic and osmotic equilibrium, resulting in morphological and physiological changes in legume root nodules. Reduced water potential in the soil also affects diffusion of oxygen via the root epidermis, directly influencing the function of root nodules and efficiency of legume-rhizobial symbiosis. Indeed, symbiotic nitrogen fixation is highly sensitive to drought: dehydration negatively affects nitrogen accumulation and compromises the yields of legume crops. The observed changes in root nodule functional activity can be related to oxidative stress, accompanying plant response to dehydration.

Pea seeds were germinated in dark during two days, transferred to polyethylene pots filled with vermiculite, and the seedlings were inoculated with 150 mL of rhizobia (*Rizobium leguminosarum*) suspension, supplemented to each pot. After inoculation, the plants were supplemented with a nutrient medium containing ammonia nitrate. One week later, the plants were transferred to an aerated hydroponic system based on the nutrient solution, and grown for two further weeks. Afterwards, the plants were transferred to the growth medium supplemented with 5, 10, 15, 20, and 25% (w/v) polyethylene glycol (PEG) 8000, with PEG-free growth medium as control. One week later, physiological stress parameters such as stomatal conductance, the relative chlorophyll content and the leaf relative water were determined.

The RCCs in plant material were derivatized with 7-(diethylamino)-coumarin-3-carbohydrazide (CHH), and lipophilic components were extracted with methyltert-butyl ether (MTBE). The extracts were analysed by RP-UHPLC coupled on-line to Orbitrap Elite (Thermo Fisher Scientific) mass spectrometer via a heated electrospray (HESI) source operated in the positive ion mode. More than 300 carbonyl-CHH adducts could be efficiently separated on a C4 reversed phase column and annotated by retention times, exact masses (m/z values), and characteristic fragmentation patterns. The method was validated with authentic compounds representing the major groups or RCCs – aldehydes, ketones, and keto acids. Thereby, this untargeted approach relied on the label-free

relative quantification, and proved to be applicable to the estimation of quantitative differences in carbonyl profiles. To determine derivative stability, pooled plant extract (as a quality control sample (QC)) was repeatedly analysed over the experimental time. After integration of peak areas they were normalized by MinMax Scaling. Using this strategy, all derivatized RCCs were distributed in 5 clusters on the basis of their degradation kinetics. This specific mathematic function was applied to the experimental set of samples (run between QCs) for abundance normalization and correction of derivative degradation. After FDR correction, 22 highly abundant RCCs were differentially regulated in the stress and control group. After relative quantification and statistical interpretation, all metabolites, differentially abundant in stress and control groups, were identified by tandem mass spectrometry. Remarkably, 19 RCCs decreased their abundance in the stressed group, whereas only three species were up-regulated under osmotic stress.

The reported study was funded by Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) according to the research project # FR 3117/2-3 and Russian Foundation for Basic Research according to the research project № 20-316-80052.



УДК 581.1

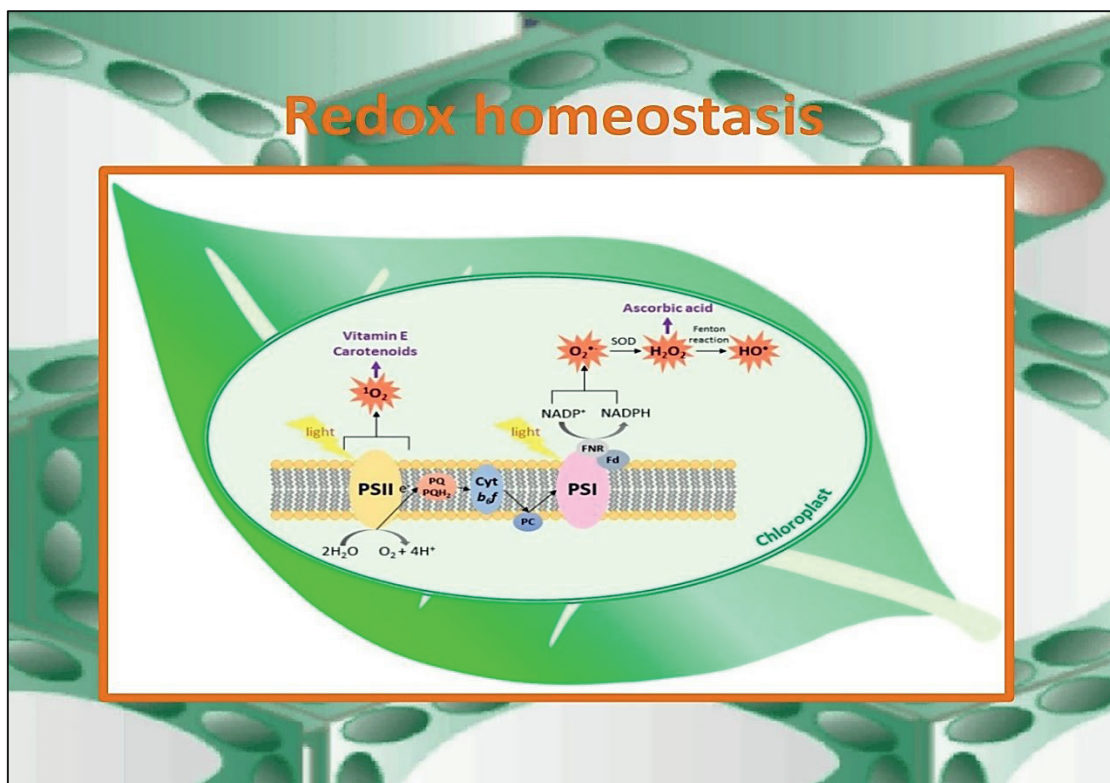
ROLE OF PLASTID-DERIVED PRENYL LIPIDS IN OXIDATIVE STRESS IN PLANTS

Strzalka K.

Jagiellonian University, Malopolska Centre of Biotechnology and
Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Krakow, Poland*E-mail: kazimierzstrzalka@gmail.com***Keywords:** antioxidants, oxidative stress, plant photosynthetic apparatus, reactive oxygen species.

Oxidative stress experienced by the cells of the vast majority of living organisms is a consequence of the presence of oxygen in their living environment. Oxygen is the substrate for the formation of reactive oxygen species, which are needed for many cellular processes, but when produced in excess, they pose a serious threat that can, in extreme cases, lead to cell damage and death. Therefore, a key problem for cells is to maintain redox homeostasis, which involves controlling safe levels of reactive oxygen species. Particularly vulnerable to oxidative stress are chloroplasts, in which some elements of the electron transport chain are sources of reactive oxygen species. Their formation is also favoured by the production of oxygen in chloroplasts during the light phase of photosynthesis. An excess of reactive oxygen species in these organelles leads to oxidative stress resulting in photoinhibition and damage of the photosynthetic apparatus.

Cells have evolved a number of mechanisms to prevent the formation of reactive oxygen species, as well as factors to remove them. This category of factors includes certain enzymatic proteins and small-molecule water-soluble and lipid-soluble antioxidants. The latter include prenyl lipids, which not only prevent the production of reactive oxygen species but also effectively eliminate their excess. Among the major prenyl lipid antioxidants there are isoprenoid chromanols, isoprenoid quinols and carotenoids. Occurrence of these compounds in plants and their role in maintaining cell redox homeostasis will be presented and discussed.



УДК 579.64(579.222.3):58.02

REDOX-REACTIONS OF SUNFLOWER INOCULATED WITH PLANT GROWTH PROMOTING ENDOPHYTE *PSEUDOMONAS LURIDA* STRAIN EOO26 UNDER COPPER AND NICKEL STRESS

Tripti^{1*}, Kumar A.¹, Voropaeva O.¹, Maleva M.¹, Panikovskaya K.¹,
Borisova G.¹, Bruno L.B.², Rajkumar M.²

¹Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia

²Bharathiar University, Coimbatore, India

*E-mail: tripti.academic@gmail.com

Keywords: *Helianthus annuus*, antioxidant, endophyte, heavy metal, plant growth promotion.

Metal contamination is one of most severe problem for today's world and dual and multi-metal contamination is much more complicated situation for the human being. It not only reduces the microbial flora but also adversely affect the establishment of the plants by inducing oxidative stress and altering other biochemical processes. In order to reduce the effect of metals on plant growth and its development, metal tolerant plant growth promoting (PGP) endophytes have been frequently used to combat with this problem [1, 2]. The PGP endophytes have been used because of their potential in altering plant nutrient uptake, antioxidants accumulation, hormone levels, and stress and growth-related genes in plants [3, 4, 5]. The current study was aimed to evaluate the efficiency of PGP endophyte on growth, pigment content, stress tolerance, antioxidant system and metal stabilization potential of sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown under copper and nickel spiked soil.

A dual metal (Cu and Ni) resistant PGP endophyte *Pseudomonas lurida* strain EOO26 was isolated from the leaves of Ni-hyperaccumulator plant *Odontarrhena obovata* (*Alyssum obovatum* L.) growing on Cu-smelter impacted serpentine soil. The EOO26 strain showed multiple PGP attributes i.e. indole-acetic-acid production, siderophore production, tri-calcium phosphate solubilization, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase production under varying pH 5.0–9.0.

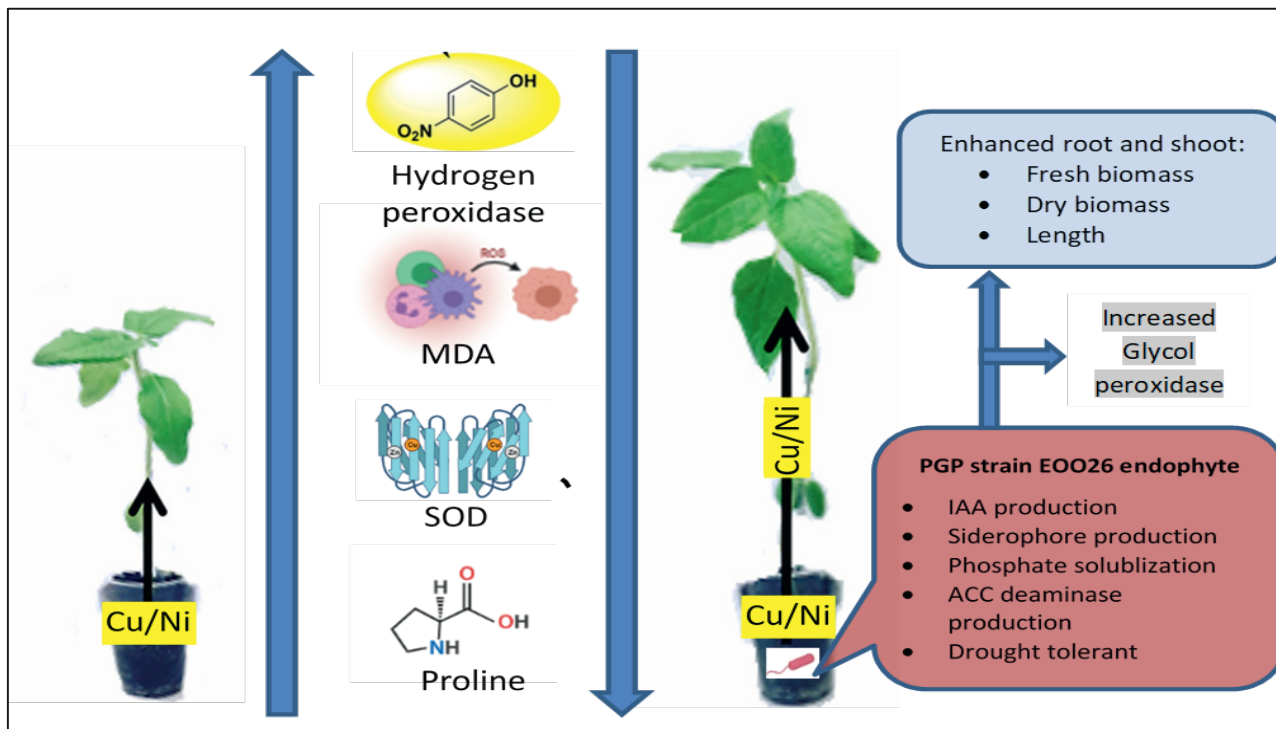
Present study suggests inoculation of sunflower with metal tolerant strain EOO26 significantly decreased the reactive oxygen species mediated oxidative stress (lipid peroxidation) by reducing the toxicity of Cu and Ni by secreting other plant growth promoting traits, which eventually declined superoxide dismutase activity and leaf proline content under metal stress conditions. Hydrogen peroxide was found increased by 2.8 and 4.8 times for Ni and Cu, respectively, in the leaves of plants grown on metal-rich soil, which may be due to a decrease in guaiacol peroxidase activity. Moreover, application of strain EOO26 further improved the carotenoid content. Higher accumulation of both metals was found in the leaves and roots of strain EOO26 treated plants compared to uninoculated metal treated plant and resulted in increase in Cu uptake by 8.6-fold for roots and 1.9-fold for leaves. Furthermore, application of PGP endophyte enhanced the root and shoot length for both Cu and Ni treated plants thus multiplies the phytostabilization potential of strain EOO26 under Cu and Ni contaminated soil.

The excellent adaptation abilities and promising metal removal efficiency strongly indicate superiority of strain EOO26 for phytoremediation of Cu and Ni contamination and may work effectively for removal of dual metal contaminated soils.

T., and M.R. are grateful for the Russian Foundation for Basic Research, (RFBR), Russia (Project No. 19-516-45006) and Department of Science and Technology (DST), India (Project No.INT/RUS/RFBR/363) for bilateral research grant.

References

1. Kumar A, Tripti., Voropaeva O., *et al.* // Chemosphere. 2021. 266, 128983.
2. Vareda J., Valente A.J.M., Duraes L. // J. Environ. Manag. 2019. 246, 101–118.
3. Wu Y., Ma L., Liu, Q., *et al.* // Sci. Tot. Environ. 2020. 726, 138554.
4. Rajkumar M., Bruno L.B., Banu R. // Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 2017. 47, 372–407.
5. Manoj S.R., Karthik C., Kadirvelu K., *et al.* // J. Environ. Manage. 2020. 254, 109779.



УДК 581.2:58.071

NECROTROPHIC EFFECTORS SNTOX OF *STAGONOSPORA NODORUM* (BERK.) MANIPULATE THE REDOX METABOLISM OF THE HOST PLANT TO HIJACK ITS DEFENSE PATHWAYS

Veselova S.V.^{*}, Nuzhnaya T.V., Burkhanova G.F., Rumyantsev S.D., Maksimov I.V.

Institute of Biochemistry and Genetics of the UFRC of the RAS, Ufa, Russia

^{*}E-mail: veselova75@rambler.ru

Keywords: hydrogen peroxide, necrotrophic effectors SnToxA, SnTox3, SnTox1, peroxidase, redox-metabolism.

The most important virulence factors of the *Stagonospora nodorum* are multiple fungal necrotrophic effectors (NEs) that cause necrosis and/or chlorosis on wheat lines possessing dominant susceptibility genes (*Snn*). To date, eight *Snn*-SnTox interactions are known. In addition to the three main interactions *Snn1*-SnTox1, *Snn3*-SnTox3, and *Tsn1*-SnToxA, several other interactions have been identified, such as *Snn2*-SnTox2, *Snn4*-SnTox4, *Snn5*-SnTox5, *Snn6*-SnTox6 and *Snn7*-SnTox7 [1, 2]. Effectors SnToxA, SnTox1, SnTox3 cause necrosis and chlorosis in susceptible wheat genotypes, it follows from this that they have an impact on the redox metabolism of the host plant. Unfortunately, the whole signal transduction pathway from recognition of the effector by the receptor to the necrosis development is unknown [1]. First of all, PAMP-triggered immunity (PTI) is characterized by rapid and strong production of ROS (mainly hydrogen peroxide (H₂O₂) and superoxide radical) in the apoplast through activation of NADPH-oxidases localized on the plasmallema also known as Respiratory Burst Oxidase Homologs (RBOHs), as well as peroxidases (POD) and superoxide dismutase (SOD), leading to PTI-dependent basal defenses that inhibit invasion of pathogens [3]. It is believed that suppression of primary ROS burst during PTI by effector proteins as virulence factors is a common adaptation of many virulent pathogens [3]. Much data has been accumulated on the effectors of various pathogens that suppress ROS burst during PTI [3]. However, there is no such data on NEs SnToxA, SnTox1, and SnTox3.

In our work, we used different wheat genotypes Omskaya 35 (*tsn1/snn3/Snn1*), Kazhstanskaya 10 (*tsn1/Snn3/Snn1*), Zhnitsa (*Tsn1/Snn3/Snn1*) and three *S. nodorum* isolates Sn4VD (*toxA/tox3/tox1*), SnB (*ToxA/Tox3/tox1*), Sn9MN (*ToxA/Tox3/Tox1*), carrying a different set of susceptibility genes and NEs genes, respectively to study three interactions *Snn1*-SnTox1, *Snn3*-SnTox3, and *Tsn1*-SnToxA. Full compatibility reaction in combination cultivar/isolate Zhnitsa/SnB, Zhnitsa/Sn9MN was shown. Incompatible interactions or resistance were observed when cultivars were inoculated with the Sn4VD isolate. Also the incompatible interaction was observed in the combination cultivar/isolate Om35/SnB (*tsn1/snn3/Snn1* - *ToxA/Tox3/tox1*). Analysis of the transcriptional activity of the NEs genes and the assessment of the damage areas revealed a relationship between the virulence of the isolate and the expression of the NEs genes, and also revealed epistatic and additive interactions. Thus, we assume that the avirulence of isolate Sn4VD, manifested in the absence of visible lesions on the leaves of all studied cultivars was associated with the absence of expression of three NEs genes upon inoculation of three different wheat genotypes.

To check the role of compatible interactions in suppression of ROS production we studied expression of genes encoding two isoforms of wheat NADPH oxidase, RBOHD and RBOHF, superoxide dismutase (*TaSod*) and anionic peroxidase (*TaPrx*). We also studied the activity of peroxidases and catalases in all incompatible and compatible interactions. The threefold and fourfold increase in the H₂O₂ content was observed in variants with incompatible interactions (Om35/Sn4VD, Kaz10/Sn4VD, Zh/Sn4VD, Om35/SnB) at an early stage of infection. The oxidative burst in all incompatible interactions was accompanied by a significant increase in the activity of free PODs, inhibition of CAT activity, and an increase in the transcripts level of genes *TaRbohD*, *TaRbohF*, *TaSod* and *TaPrx*. All compatible interactions inhibited H₂O₂ production in susceptible wheat

varieties at early stage of infection compared with incompatible interactions. The *Snn1*-SnTox1 (Om35/Sn9MN) and *Snn3*-SnTox3 (Kaz10/SnB) interactions reduced H₂O₂ production by 2 times as compared to the incompatible interaction in variant Om35/SnB. The presence of two or three compatible interactions in wheat plants leads to an even greater decrease in H₂O₂ production. The *Snn3*-SnTox3 interaction inhibited H₂O₂ production in wheat at the early stage of infection by affecting four enzymes of redox metabolism: NADPH-oxidases, peroxidases, superoxide dismutase and catalase. The *Tsn1*-SnToxA interaction suppressed the production of H₂O₂ by activating mainly the CAT activity and inhibiting the POD activity. The *Snn1*-SnTox1 interaction inhibited the production of H₂O₂ in wheat by mainly reducing the POD activity and the transcript level of gene encoding anionic peroxidase (*TaPrx*), which is a lignin-forming peroxidase.

We assume that a different effect of NEs on the enzymes of redox metabolism could be associated with additional functions of effectors described recently [1]. It was recently discovered that SnToxA and SnTox3 directly interact with the pathogenesis-related protein 1 (PR-1), which can lead to increase susceptibility to *S. nodorum* [4]. PR1 protein is a marker protein salicylate-dependent defense response of plants against pathogens. This response is associated with an oxidative burst and, the activation of the NADPH-oxidase and apoplastic peroxidases and inhibition of catalase activity [5]. Peroxidase and catalase are important components of the salicylate signaling path-way and determine the redox status of an infected plant. Our results showed that the *Tsn1*-SnToxA and *Snn3*-SnTox3 interactions led to disruption and inhibition of salicylate-dependent plant defense response and an increase in the disease reaction.

Recently chitin-binding activity for SnTox1 was visualized in vivo using a GFP tagged version of the protein [2]. It has been shown that SnTox1 binds to the surface of the hyphae particularly near points of hyphal branching or plant penetration. Upon penetration into a plant, various components of the fungal cell walls, such as glucans, chitin and proteins, can be degraded by hydrolytic enzymes of plant origin, such as beta-1,3-glucanases, chitinases, serine and cysteine proteases and then act as a PAMP to trigger major immune responses [1, 3]. Thus, chitin binding activity of SnTox1 was associated with a prevention of plant chitinases from binding with hyphae and degradation of the fungal cell wall and the release of chitin fragments into the apoplast. Consequently, the development of plant defense reactions was suppressed [2]. It was shown that chitin fragments activate plant peroxidases, which, firstly, leads to the development of an oxidative burst, and secondly, to create conditions for lignification of the damage area and restrictions of the pathogen. Our results suggest that the *Snn1*-SnTox1 interaction reduced the peroxidase activity and the transcript level of gene encoding anionic peroxidase *TaPrx* by binding to chitin.

This work was supported by State Project AAAA-A16-116020350027-7 and the Russian Foundation for Basic Research, project number 20-316-80047.

References

1. McDonald M.C., Solomon, P.S. // Curr. Opin. Microbiol. 2018. 46, 14–18.
2. Liu Z., Zhang Z., Faris, J.D., *et al.* // PLoS Pathog. 2012. 8(1), e1002467.
3. Jwa, N.-S., Hwang, B.K. // Front. Plant Sci. 2017. 8, 1687.
4. Breen S., Williams S.J., Winterberg B., *et al.* // Plant J. 2016. 88, 13–25.
5. Podgórska A., Burian M., Szal B. // Front. Plant Sci. 2017. 8, 1353.



УДК 581.1:632.937

**REDOX-MEDIATED CHANGES IN THE PROTEOME OF POTATO LEAVES
UPON TREATMENT WITH BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS*
AND IMMUNOMODULATORS UNDER STRESS CONDITIONS****Yarullina L.G.^{1*}, Tsvetkov V.O.², Maksutova V.O.², Burkhanova G.F.¹,
Cherepanova E.A.¹, Zaikina E.A.¹, Sorokan A.V.¹, Kalatskaya J.N.³**¹Institute of Biochemistry and Genetics – a separate structural unit of the Ufa Federal Research Center
of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
“Bashkir State University”, Ufa, Russia³State Scientific Institution “Institute of Experimental Botany named after V.F. Kuprevich
National Academy of Sciences of Belarus”, Minsk, Belarus**E-mail: yarullina@bk.ru***Keywords:** *Bacillus subtilis*, *Phytophthora infestans*, induced resistance, potato, proteome.

Increasing plant resistance to pathogens and unfavorable agro-climatic conditions are topical issues in crop production. In this regard, the most promising method in plant protection is the use of biological products based on endophytic bacteria of the genus *Bacillus* [1]. The mechanism of the protective action of such biopreparations may be due to the enhancement of H₂O₂ production and its indirect participation in the enhancement of the expression of PR proteins genes [2]. A feature of such bacteria, including *B. subtilis*, is the ability to influence plant growth directly through the synthesis of metabolites of a hormonal and signal nature, such as salicylic (SA) and jasmonic (JA) acids. It is of considerable interest to elucidate the mechanisms of induction of plant resistance to pathogens and abiotic stresses under the action of bacteria of the genus *Bacillus* in combination with immunomodulators.

The studies were carried out on potato plants grown from microtubers, which were treated with a suspension culture of *Bacillus subtilis* bacteria (10⁸ cells/mL), a mixture of bacteria with SA (10⁻⁶ M), JA (10⁻⁷ M), SA+JA. Three days after the treatment, the plants were infected with a spore suspension (10⁷ spores/mL) of the late blight pathogen *P. infestans* and began to create a moisture deficit. Molecular biochemical parameters were assessed in the leaves 7 days after infection, when the soil moisture was 40%. Differences in the studied parameters were analyzed using the Kruskal–Wallis test.

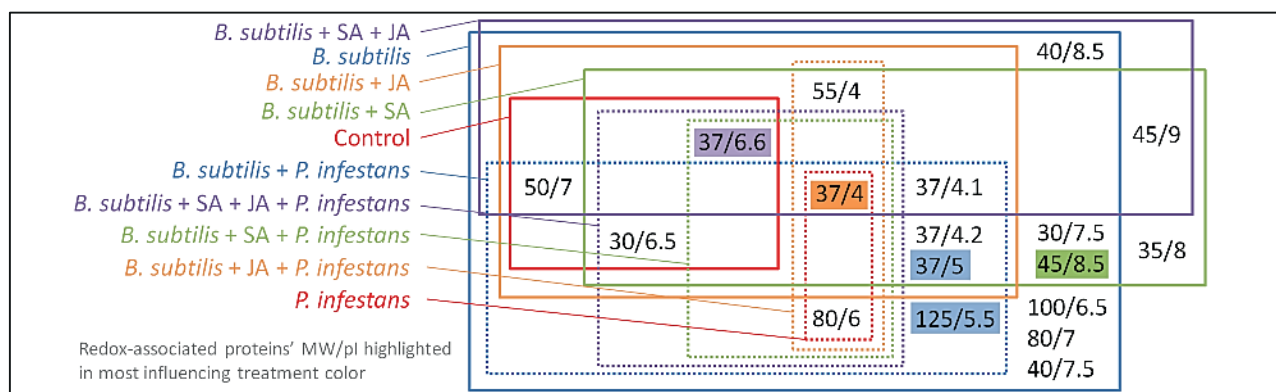
A significant decrease in the degree of leaves damage by *P. infestans* under the influence of treatment with *B. subtilis* in combination with JA was revealed. The increase in potato resistance was mediated by a stimulating effect on the concentration of H₂O₂ and the transcriptional activity of PR protein genes in plant tissues. The method of two-dimensional electrophoresis revealed differences in the presence of 19 proteins in the pI range from 4.0 to 9.0 with molecular weights from 30 to 125 kDa in the proteome of potato leaves. The greatest differences in the protein spectrum were observed in infected plants treated with *B. subtilis* in a mixture with JA, which correlated with increased expression of the PR-6 gene, a marker of the activation of the jasmonate signaling pathway for the formation of induced systemic resistance. In all treatment options, in contrast to the control, the presence of chloroplast protein (oxygen-evolving enhancer protein 1), involved in ROS generation, was observed. The highest content of this protein was observed in plants treated with *B. subtilis*, as well as in infected plants treated with *B. subtilis* in combination with JA. It is known that the oxidative burst is a signal for the hypersensitivity reaction, which is closely related to the effective response of plants to infection with a pathogen. There are data in the literature on the relationship between the RPH1 oxidative burst protein and plant resistance to *Phytophthora brassicae* [3]. It should be noted that in plants treated with SA (with increased expression of the PR-1 gene, a marker of the salicylate signaling pathway), this protein was also present in an amount half as much as in the treatment with JA.

Thus, under conditions of abiotic stress, treatment with bacteria, through H₂O₂-mediated signaling pathways, activates defense systems associated with the plant's response to the invasion of microorganisms. The results of such studies can be used to develop new environmentally friendly products of complex action for plant protection.

The work was carried out with the financial support of the RFBR and the BRFFR within the framework of the scientific project No. 20-516-00005, on the equipment of the Center for Collective Use "Biomika" and USU "KODINK".

References

1. Maksimov I.V., Veselova S.V., Nuzhnaya T.V., *et al.* // Russ. J. Plant Physiol. 2015. 62, 715–726.
2. Pfannschmidt T., Bräutigam K., Wagner R., *et al.* // Ann. Bot. 2009. 103, 599–607.
3. Belhaj K., Lin B., Mauch F. // TPJ. 2009. 58(2), 278–298.



УДК 577.352.3: 576.321

ПАЛСИНГ-АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ЗАВИСИТ ОТ ИХ МОБИЛЬНОСТИ**Абдрахимова Й.Р.^{1*}, Абдрахимов Ф.А.²**¹Институт фундаментальной медицины и биологии,
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия²Институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

*E-mail: yoldez.abdrahimova@kpfu.ru

Ключевые слова: митофлешы АФК, мобильность митохондрий, пульсации интенсивности флуоресценции.

Митохондрии являются многофункциональными органеллами, которые наряду с энергообеспечением клеток, играют важную роль в регуляции многих клеточных процессов, включая функции модуляции редокс-статуса и сигналинга, в том числе за счет генерации активных форм кислорода (АФК) [1]. Благодаря возможности детектировать внутриклеточные динамические события в высоком пространственно-временном разрешении, а именно на уровне индивидуальных органелл в режиме реального времени, предметом интенсивного изучения последних лет стали динамические феномены, наблюдаемые как высокоамплитудные флуктуации интенсивности флуоресценции специфических красителей в секундных диапазонах. К таковым относят пульсации ('pulsing') трансмембранного потенциала митохондрий ($\Delta\psi_m$) и часто связанные с ними «вспышки» флуоресценции АФК-детектирующих систем, которые получили название митофлешей ('mitoflashes') [2]. На данный момент природа динамических феноменов, в том числе триггерные механизмы, остаются непонятыми, особенно в случае митохондрий клеток растений.

В данной работе исследовали зависимость динамических событий от мобильности митохондрий в клетках. В качестве объектов исследований были использованы колеоптили этиолированных проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Мироновская 808), выращенных гидропонным способом (23–25 °C, 3 сут) в темноте. Образцы окрашивали 0.5 μ M TMRM или совместно с 10 μ M DCF-DA, просматривали в Zeiss LSM META 510 с последующим мультитрековым анализом в ImageJ (Fiji) с помощью программы TrackMate v6.0.1 [3]. Для количественного анализа мобильности митохондрий использовали time-lapse серии фреймов (3 мин) области интересов (ROI) площадью 2000-3000 μ m² с временным разрешением 0,8 мс/пиксель (500 мс/фрейм).

Исходя из данных трэкинг-анализа индивидуальных митохондрий, органеллы были условно отнесены к 3 субпопуляциям по скорости и характеру движения - «бегущие», «бродячие» и «сидячие». Перемещение органелл за 3 мин мониторинга составило более 10 μ m у «бегущих», 1–10 μ m и менее 1 μ m – у «бродячих» и «сидячих», соответственно. «Бегущие» митохондрии характеризовались почти прямолинейным и однонаправленным движением и достаточно быстро покидали ROI. «Бродячие» имели широкий диапазон средних скоростей вследствие stop-and-go типа движений; для них отмечены наиболее частые изменения направления движения и контакты с другими митохондриями. Органеллы с минимальной подвижностью – «сидячие» – контактировали с плазмалеммой, и хотя составляли 55% от общего числа митохондрий в ROI, пульсировали чаще, чем более мобильные, а именно 80% от общего числа событий. Интересно отметить, что в момент пульсации скорость движения мобильных органелл резко снижалась и становилась сопоставимой с таковой «сидячей» субпопуляции. Таким образом установлено, что палсинг-активность митохондрий зависит от их поведения, а соотношение субпопуляций скорее всего определяется запросами клетки в соответствии с текущей ситуацией и/или изменениями окружающей среды. Факт транзитной остановки органелл в момент палсинг-активности свидетельствует о том, что в субкортексе клеток могут существовать сайты модификации и/или реорганизации компонентов мембран митохондрий, которые ведут к образованию временных поровых

каналов, детектируемых по-быстрому и обратимому характеру как выброса TMRM вследствие падения $\Delta\psi_m$, так и внутримитохондриального окисления DCF. Высокая амплитуда, кратковременность и строгая локализация выявленных митофлэшей АФК позволяет предположить об их сигнальном значении, тогда как сама индукция пульсаций при остановке митохондрий – о проявлении системной, а не только стохастической, как постулируется в литературе, природе динамических феноменов.

Список литературы

1. Dietz K.-J., Mittler R., Noctor G. // *Plant Physiol.* 2016. 171, 1535–1539.
2. Wang W., Fang H., Groom L., *et al.* // *Cell.* 2008. 134, 279–290.
3. Tinevez J.-Y., Perry N., Schindelin J., *et al.* // *Methods.* 2017. 115, 80–90.

THE PULSING-ACTIVITIES OF MITOCHONDRIA DEPEND ON THEIR MOBILITY

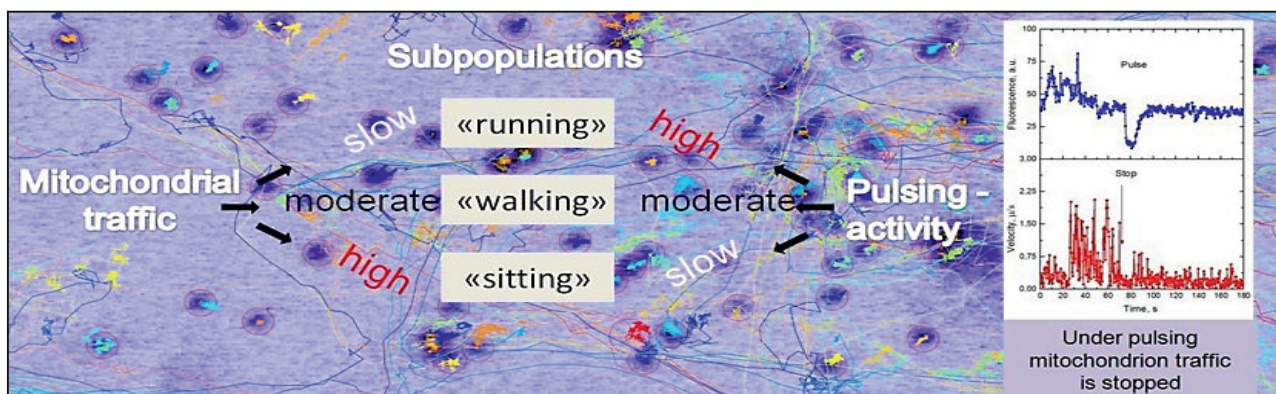
Abdrakhimova Y.R.¹, Abdrakhimov F.A.²

¹Institute of fundamental medicine and biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

²Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia

Keywords: ROS mitoflashes, mitochondrial mobility, fluorescence intensity pulsing.

Using the real-time single-organelle tracking analysis, we first revealed the close dependence the frequency of mitochondrial dynamic events, such as transmembrane potential ($\Delta\psi_m$) pulsing and ROS flashing, on the motility of the organelles in the coleoptile cells of wheat seedlings that were grown in the dark (23–25 °C, 3d). According to traffic velocities of individual mitochondria, we distinguished 3 basic subpopulations, namely ‘running’ (more than 10 μm distance traveled for 3 min), ‘walking’ (1–10 μm) and ‘sitting’ (less than 1 μm) ones. The high flickering activity (80% from the total events) was inherent mainly for non-mobile mitochondria, which, in turn, were 55% from the total number of organelles in ROI; they had close contacts with the plasma membrane, and so could be involved in communication between intra- and extracellular compartments. It should be stressed that at the moment when the pulsing events were happen, velocity speeds of the mobile mitochondria declined sharply and became common with those of ‘sitting’ ones. This fact may be explained by existence of the cell sub-cortex sites of modifying and/or reorganizing of mitochondrial membrane components to result in a formation of the transient pore channels that detected in a sudden and reversible manner in the cases as TMRM emission due to $\Delta\psi_m$ dissipation as intramitochondrial oxidation of DCF. These outstanding characteristics of ROS mitoflashes allow to suggest their role in cell signalling whilst the stopping of mitochondrial traffic before pulsing induction could indicate on systemic, not only stochastic as postulated in literature, nature of the dynamic phenomena.



УДК 661.162.6

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ОКСИДА АЗОТА НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И ЦЕЛОСТНОСТЬ МЕМБРАННЫХ СТРУКТУР РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ПОВРЕЖДАЮЩЕМУ ДЕЙСТВИЮ ЗАСУХИ

Авальбаев А.М.^{*}, Аллагулова Ч.Р., Лубянова А.Р., Безрукова М.В., Масленникова Д.Р., Юлдашев Р.А., Плотников А.А., Федорова К.А., Шакирова Ф.М.

ИБГ УФИЦ РАН, Уфа, Россия

^{*}E-mail: avalbaev@yahoo.com

Ключевые слова: выход электролитов, засуха, оксид азота, перекисное окисление липидов.

К числу наиболее распространенных стрессовых факторов, приводящих к существенному торможению роста и снижению продуктивности растений, относится засуха. В ответ на действие дефицита влаги в растениях развивается окислительный стресс, характеризующийся избыточной генерацией активных форм кислорода (АФК). К основным мишеням атаки АФК принадлежат липиды мембран, подвергающиеся деградации с образованием различных продуктов перекисного окисления липидов. Важную роль в регуляции формирования устойчивости растений к обезвоживанию играют природные регуляторы роста, среди которых все большее внимание привлекает оксид азота (NO). Данная работа посвящена выявлению протекторного эффекта донора NO нитропруссид натрия (SNP – sodium nitroprusside) в оптимальной стимуляции роста концентрации 200 мкМ на различные физиолого-биохимические показатели и целостность мембранных структур проростков пшеницы, подвергнутых действию засухи, моделируемой с помощью 12%-го полиэтиленгликоля (ПЭГ). В ходе проведенных экспериментов было выявлено, что ПЭГ-индуцированное нарушение водного режима проростков пшеницы вызвало значительное снижение в них относительного содержания воды, а также уменьшение осмотического потенциала и транспирации, что отразилось в ингибировании роста растений. В условиях ПЭГ-индуцированной засухи выявлен ярко выраженный дисбаланс в гормональной системе проростков пшеницы, который обусловлен как существенным накоплением АБК, так и снижением уровня цитокининов и ИУК. Обнаружено, что засуха приводила к накоплению транскриптов генов защитных белков – *TADHN* дегидрина в побегах и агглютиниона зародыша пшеницы (АЗП) в корнях. В то же время, наблюдалось накопление АЗП в корнях проростков, после чего содержание лектина в них постепенно снижалось за счет его экскреции в наружную среду. Вместе с тем, вызванный засухой окислительный стресс оказал сильно выраженный повреждающий эффект на целостность мембранных структур, который сопровождался более чем двукратным повышением уровня малонового диальдегида (МДА), конечного продукта перекисного окисления липидов, и выходом электролитов из растительных тканей.

Предобработка проростков SNP снижала индуцированный ПЭГ дисбаланс фитогормонов и уровень накопления АЗП в корнях и в наружной среде, что отразилось в нормализации ростовых параметров и улучшении показателей водного обмена. SNP-предобработанные растения характеризовались дополнительным увеличением содержания транскриптов *TADHN* гена в ответ на засуху, однако оно было несущественным, что требует дальнейшего детального изучения роли *TADHN* гена дегидрина в проявлении протекторного действия NO на растения пшеницы при воздействии обезвоживания. Интересно, что предобработка SNP приводила к уменьшению стресс-индуцированного накопления транскриптов гена АЗП, что свидетельствует в пользу меньшей степени повреждающего действия засухи на предобработанные оксидом азота растения. Вместе с тем, предобработанные SNP проростки характеризовались существенно меньшим уровнем стресс-индуцированного накопления МДА и экзоосмоса электролитов.

Таким образом, совокупность полученных результатов позволяет заключить, что SNP в оптимальной в стимуляции роста концентрации (200 мкМ) характеризуются ярко выраженным защитным эффектом на растения пшеницы, подвергнутых засухе. Протекторный эффект оксида азота на растения пшеницы может быть обусловлен его влиянием на состояние гормональной системы и уровень защитных соединений. Данные о снижении стресс-индуцированного накопления МДА и выхода электролитов под влиянием предобработки SNP могут свидетельствовать о способности оксида азота снижать уровень индуцируемых засухой окислительных повреждений мембранных структур.

Работа выполнена в рамках госзадания (тема № АААА-А21-121011990120-7) при частичной поддержке гранта РФФИ № 20-04-00904_а, с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

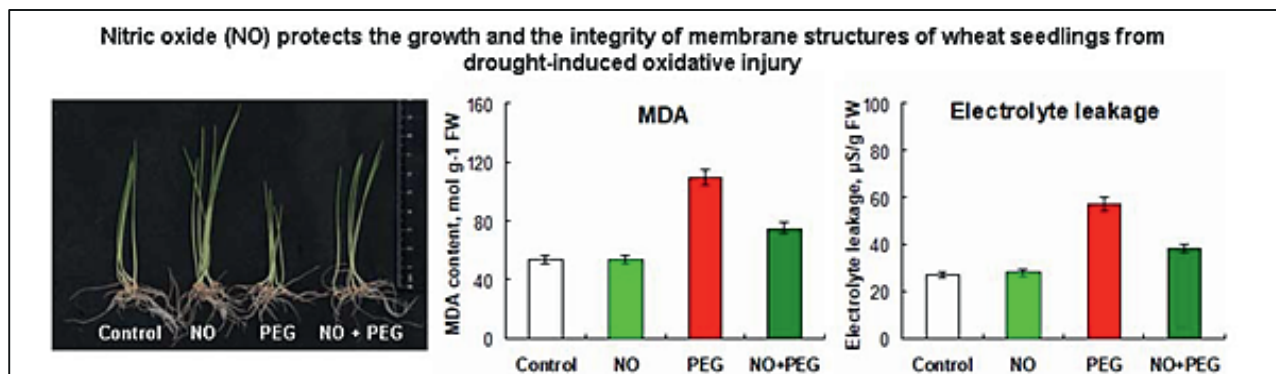
PROTECTIVE EFFECT OF NITRIC OXIDE ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS AND THE INTEGRITY OF MEMBRANE STRUCTURES OF WHEAT PLANTS TO THE DAMAGING EFFECT OF DROUGHT

Avalbaev A.M., Allagulova Ch.R., Lubyanova A.R., Bezrukova M.V., Maslennikova D.R., Yuldashev R.A., Plotnikov A.A., Fedorova K.A., Shakirova F.M.

IBG UFRC RAS, Ufa, Russia

Keywords: electrolyte leakage, drought, nitric oxide, lipid peroxidation.

This work has studied the protective effect of sodium nitroprusside (SNP), the NO donor, on various physiological and biochemical parameters and the integrity of membrane structures of wheat seedlings exposed to PEG-induced drought. It was revealed that PEG caused a significant decrease in relative water content, osmotic potential and transpiration of wheat seedlings which led to seedling growth inhibition. Under drought conditions, there was an imbalance in the hormonal system of wheat seedlings. Drought caused the transcript accumulation of *TADHN* dehydrin gene in shoots and *WGA* gene in roots. At the same time, drought-induced oxidative stress had a pronounced damaging effect on the integrity of membrane structures, which was accompanied by a significant increase in the level of malondialdehyde (MDA) and electrolyte leakage. Pretreatment of seedlings with SNP reduced the PEG-induced hormonal imbalance which was reflected in the normalization of growth and an improvement in water metabolism. Under drought, SNP-pretreated seedlings were characterized by an additional minor increase in the content of *TADHN* transcripts as well as a decrease in the stress-induced accumulation of *WGA* transcripts, which indicates less damaging effect of drought on NO-pretreated plants. At the same time, SNP-pretreated seedlings were distinguished by a significantly lower level of stress-induced accumulation of MDA and electrolyte leakage and these data may indicate the ability of nitric oxide to reduce the level of drought-induced oxidative damage to membrane structures. Thus, the obtained results allow us to conclude that SNP has a pronounced protective effect on wheat plants subjected to drought.



УДК 57.023

АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ И СУПЕРОКСИДИДИСМУТАЗЫ В ТАЛЛОМАХ ЦИАНОЛИШАЙНИКА *PELTIGERA PRAETEXTATA* НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА

Андросова В.И.* , Терехова Е.Н., Солодянкин П.А.

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

*E-mail: vera.androsova28@gmail.com

Ключевые слова: *Peltigera praetextata*, каталаза, лишайники, онтогенез, супероксиддисмутаза.

Лишайники – это чувствительный компонент сообществ; они могут быть показателем определенных условий обитания и их изменений, в том числе – степени нарушения экосистем. Активность изучения антиоксидантных систем лишайников в настоящее время возросла, главным образом, в связи с поиском природных антиоксидантов для использования их в биотехнологических процессах. Вместе с тем изучение антиоксидантной активности лишайников, как комплексного показателя реакции организма на изменения условий обитания, позволит приблизиться к пониманию причин и механизмов чувствительности лишайников к изменяющимся условиям среды.

Целью нашего исследования являлось изучение активности каталазы и супероксиддисмутазы в талломах пельтигеры окаймленной (*Peltigera praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf.) на разных стадиях онтогенеза.

В ходе исследования были проанализированы активности ферментов каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД) в виргинильных, генеративных и сенильных талломах эпифитного цианобионтного лишайника *P. praetextata* среднетаежных лесных сообществ (Республика Карелия). Активность ферментов определяли спектрофотометрически по общепринятым методам: КАТ – по реакции разложения перекиси водорода [1], СОД – по ингибированию восстановления нитросинего тетразолия [2]. Содержание белка было определено спектрофотометрически по методу Бредфорда.

Согласно полученным данным, наибольшее содержание белка было обнаружено в сенильных талломах пельтигеры (1,22 мг/г сух. массы). Для виргинильных (0,72 мг/г сух. массы) и генеративных (0,56 мг/г сух. массы) талломов зарегистрировано меньшее содержанием белка. Сравнение полученных нами данных с данными других исследователей, показало, что содержание белка в талломах пельтигеры в 3 раза ниже, по сравнению с цефалодиевым хлоролишайником *Lobaria pulmonaria* [3]. Вероятнее всего это связано с метаболическими особенностями лобарии как лишайника, который имеет постоянный источник азота в виде азотфиксирующих цианобактерий в цефалодиях. Сравнение с данными исследователей по содержанию белка в других видах нецефалодиевых лишайников, например в лишайниках рода *Cladonia*, выявило сопоставимые данные по содержанию белка [4].

В пределах изученной выборки, согласно результатам однофакторного дисперсионного анализа, наибольшая активность КАТ была выявлена для сенильных талломов (3651,1 мкмоль H_2O_2 /мг белка) пельтигеры, по сравнению с виргинильными (3178,1 мкмоль H_2O_2 /мг белка) и генеративными (2883,7 мкмоль H_2O_2 /мг белка) талломами.

Противоположные результаты были получены по активности СОД в талломах пельтигеры: наименьшая активность СОД зарегистрирована для сенильных талломов (0,59 усл. ед./мг белка). Активность СОД в виргинильных и генеративных талломах пельтигеры была выше и составила 2,19 и 2,74 усл. ед./мг белка, соответственно.

Сравнение полученных данных с результатами других исследователей, использующих схожую методику определения активности КАТ и СОД у цефалодиевого хлоролишайника *Lobaria pulmonaria* [3] показало, что выявлены схожие закономерности: высокая активность КАТ и низкая активность СОД у сенильных талломов. На основании полученных данных,

можно предположить, что в сенильных талломах лишайников образование перекиси водорода, не связано с известной реакцией дисмутации, когда СОД переводит супероксидный радикал в перекись водорода и молекулярный кислород. Весь пул перекиси водорода нейтрализуется КАТ, так как всегда имеется линейная зависимость между активностью КАТ и концентрацией перекиси водорода [5].

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект No. 0752-2020-0007).

Список литературы

1. Никерова К.М., Галибина Н.А., Мощенская Ю.Л., и др. // Труды КарНЦ РАН. 2016. Серия Экспериментальная биология. 11, 68–77.
2. Никерова К.М., Галибина Н.А., Мощенская Ю.Л., и др. // Растительные ресурсы. 2019. 55(2), 213–230.
3. Chirva O.V., Nikerova K.M., Androsova V.I., Ignatenko R.V. // Czech Polar Reports. 2019. 9(2), 228–242.
4. Bačkor M., Péli E.R., Vantová I. // Chemosphere. 2011. 85, 106–113.
5. Blackman L.M., Hardham A.R. // Molecular Plant Pathol. 2008. 9(4), 495–510.

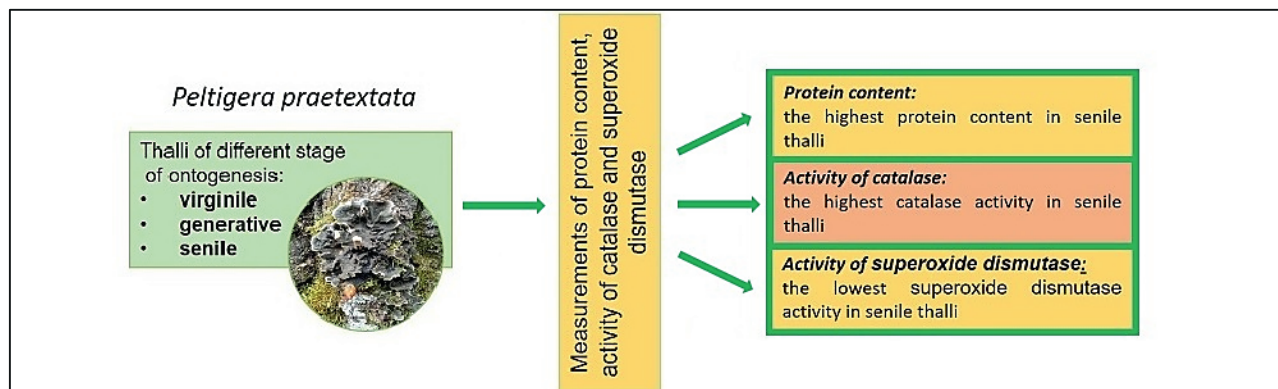
ACTIVITY OF CATALASE AND SUPEROXIDE DISMUTASE IN THALLOMAS OF THE CYANOLICHEN *PELTIGERA PRAETEXTATA* AT DIFFERENT STAGES OF ONTOGENESIS

Androsova V.I., Terebova E.N., Solodjankin P.A.

Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia

Keywords: *Peltigera praetextata*, catalase, lichens, ontogenesis, superoxide dismutase.

The aim of the study was to evaluate the activity of catalase and superoxide dismutase in the thalli of cyanolichen *Peltigera praetextata* at different stages of ontogenesis. According to the obtained data, the highest protein content was found in senile thalli of *P. praetextata* (1.22 mg g⁻¹ dry weight). For virginal (0.72 mg g⁻¹ dry weight) and generative (0.56 mg g⁻¹ dry weight) thalli, a lower protein content was recorded. Within the studied sample, the highest catalase activity was found for senile thalli (3651.1 μmol H₂O₂ mg⁻¹ protein) of *P. praetextata* in comparison with virginal (3178.1) and generative (2883.7) thalli. The contrary results were obtained for the activity of superoxidedismutase in *P. praetextata* thalli: the lowest superoxidedismutase activity was recorded for senile thalli (0.59 conventional U mg⁻¹ protein). The activity of superoxide dismutase in virginal and generative thalli of *P. praetextata* was higher and amounted to 2.19 and 2.74 U mg⁻¹ protein, respectively.



УДК 581.1

ВОЗДЕЙСТВИЕ NaCl-ЗАСОЛЕНИЯ И ЩЕЛОЧНОСТИ НА СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В КРЕСС-САЛАТЕ**Арисова А.К.^{*}, Еремченко О.З., Семенова В.А.**

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^{*}E-mail: nast483@bk.ru**Ключевые слова:** *Lepidium sativum* L., аскорбиновая кислота, глутатион, солевой и щелочной стресс.

Окислительный стресс растений в условиях комбинированного воздействия засоления и щелочности изучен недостаточно. Восстановительную активность аскорбиновой кислоты и глутатиона в кресс-салате исследовали в двухфакторном опыте: засоление NaCl (30, 70, 110, 150 мМ) и щелочность (7, 8, 9, 10 pH). На начальной стадии стресса активность аскорбата в большей степени связана с щелочностью (29%), более слабое влияние оказало NaCl-засоление (21%); взаимодействием NaCl-засоления и щелочности обусловлено 8% факторной нагрузки общей дисперсии показателя.

Засоление корневой среды часто сопровождается щелочным стрессом, который вызывает беспорядочное поглощение ионов и нарушает внутриклеточный ионный баланс [1]. Исследователями отмечается, что щелочной стресс растений, совместное влияние засоленности и щелочности изучены недостаточно [2].

Известно, что стресс-воздействие на растения вызывает сверхпродукцию активных форм кислорода [3]. В детоксикации активных форм кислорода принимает участие аскорбат-глутатионовый цикл (один из источников мобильных доноров электронов в редокс-процессах [4]).

Цель наших исследований – определить комбинированное воздействие NaCl-засоления и щелочности корневой среды на восстановительную активность аскорбиновой кислоты и глутатиона в кресс-салате (*Lepidium sativum* L.).

Исследования проведены в двухфакторных опытах с вариантами отдельного засоления – NaCl 30, 70, 110, 150 мМ, отдельного влияния щелочности – pH 7, 8, 9, 10 и комбинированном действии этих факторов. Растения выращивали на вермикулите в течение 9 дней, на 10-е сутки вносили растворы с определённой концентрацией соли и разной реакцией среды. Для оценки влияния стресса на высоту и массу растений снимали морфометрические показатели через 48 часов после внесения растворов. Восстановительную активность аскорбиновой кислоты и глутатиона определяли в сырой массе растений спустя 12 часов после воздействия стресс-факторов методом Петта в модификации Прокошева.

В факторной нагрузке общей дисперсии восстановительной активности аскорбиновой кислоты отмечено влияние щелочности (29%), более слабым оказалось влияние засоления (21%). От взаимодействия факторов NaCl-засоления и щелочности зависело 8% изменений показателя. Эти результаты подтверждают роль аскорбиновой кислоты как одного из основных биологических восстановителей [3,4].

Содержание восстановленной формы глутатиона в кресс-салате изменялось в широком интервале – от 0 до 26 мг% сырой массы растений, при этом не выявлено значимого влияния факторов. Через 48 ч после стресс-воздействия засоление и ощелачивание корневой среды определяли 6% факторной нагрузки общей дисперсии высоты и массы кресс-салата.

Таким образом, в начальной стадии стресса, вызванного комбинированным воздействием NaCl-засоления и щелочности, влияние факторов определяет 58% факторной нагрузки общей дисперсии показателя восстановительной активности аскорбиновой кислоты в кресс-салате. Эти результаты подтверждают роль аскорбиновой кислоты в окислительно-восстановительных реакциях растений в ответ на комбинированное воздействие NaCl-засоления и щелочности.

Список литературы

1. Yang C., Xu H.H., Wang L., *et al.* // Photosynthetica. 2009. 47(1), 79–86.
2. Javid M.A., Ford R.A., Nicolas M.E. // Functional Plant Biol. 2012. 39(8), 699–707.
3. Прадедова Е.В., Нимаева О.Д., Саляев Р.К. // Физиол. раст. 2017. 64(6), 433–445.
4. Шарова Е.И., Медведев С.С. // Физиол. раст. 2017. 64(1), 9–10.

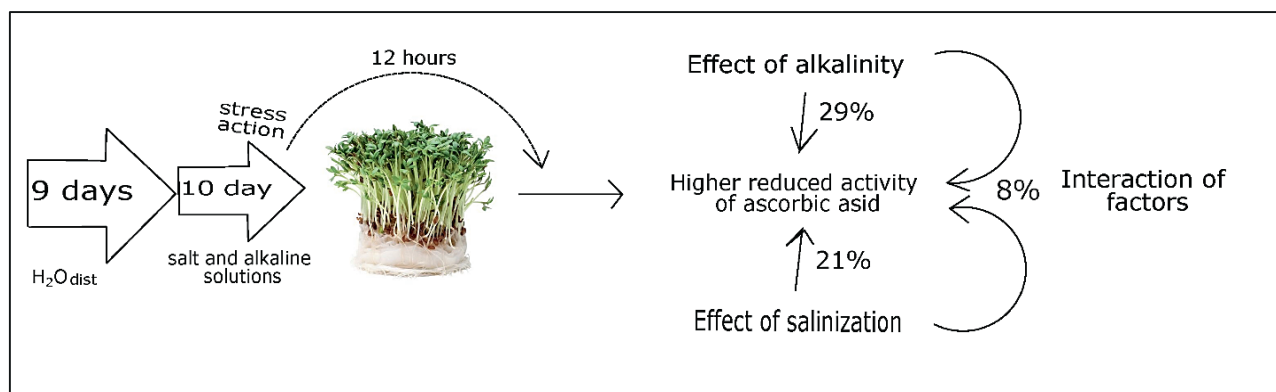
EFFECT OF NaCl-SALINIZATION AND ALKALINITY ON THE CONTENT OF ASCORBIC ACID IN WATERCRESS

Arisova A.K., Eremchenko O.Z., Semenova V.A.

Perm State University, Perm, Russia

Keywords: *Lepidium sativum* L., ascorbic acid, glutathione, salt and alkaline stress.

Oxidative stress response of plants under combined influence of saline and alkaline conditions has yet to be determined. We used a two-way ANOVA test to analyze ascorbic acid reducing activity in watercress exposed to NaCl salinization (30, 70, 110, 150 mM) and alkaline conditions (7.0, 8.0, 9.0, 10.0 pH). In the early stage of stress response ascorbate activity was mostly associated with alkaline stress (29%). NaCl -salinization affected watercress ascorbic acid activity to a lesser extent (21%). The combined effect of two factors accounted for 8% of the variance in the data.



УДК 581.14

ВЛИЯНИЕ НЕДОСТАТКА И ИЗБЫТКА ЦИНКА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА *HvCAT2*, АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ У ЯЧМЕНЯ**Батова Ю.В.^{*}, Казнина Н.М., Репкина Н.С., Титов А.Ф.**

Институт биологии – обособленное подразделение
ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия
^{*}E-mail: batova@krc.karelia.ru

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L., *HvCAT2*, каталаза, перекисное окисление липидов, цинк.

Каталаза (КАТ) является одним из ключевых компонентов антиоксидантной системы, контролирующей уровень активных форм кислорода (АФК) в клетках. Показано участие этого фермента в защитно-приспособительных реакциях растений, связанных с действием на них стресс-факторов разной природы [1, 2]. Однако в отношении изменения активности КАТ и экспрессии кодирующих ее генов в условиях стресса, вызванного нарушением микроэлементного состава среды, имеются лишь единичные сведения [3]. Учитывая вышесказанное, целью данного исследования явилось изучение влияния недостатка и избытка цинка на экспрессию гена *HvCAT2*, общую активность КАТ и окислительные процессы в листьях ячменя.

Исследования проводились в условиях контролируемой среды на растениях ячменя (*Hordeum vulgare* L.) с. Нур., которые выращивали на питательном растворе Хоглэнда–Арнона с разным содержанием цинка: 0 мкМ (дефицит), 2 мкМ (оптимальный уровень, контроль) и 1000 мкМ (избыток, сублетальная концентрация). Для анализа использовали 1-й лист. Отбор проб проводили через 7, 10 и 14 суток экспозиции. Содержание малонового диальдегида (МДА) и активность КАТ определяли спектрофотометрически по методикам, описанным ранее [4]. Накопление транскриптов генов анализировали методом ПЦР-РВ, вычисляли по формуле $2^{-\Delta\Delta C_t}$ и выражали в относительных единицах. Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта 3-5 кратная. Достоверность различий между вариантами опытов оценивали с помощью критерия Стьюдента при $P < 0.05$.

Выявлено, что дефицит цинка не вызывает увеличения содержания МДА в листьях ячменя, тогда как при избытке металла оно уже через 7 сут. было в 2 раза выше, чем в контроле, и продолжало увеличиваться до конца опыта. Обнаружено, также, что спустя 7 сут и при недостатке, и при избытке цинка в субстрате в листьях ячменя наблюдается усиление экспрессии гена *HvCAT2* (в 4,7 и 6,5 раза по отношению к контролю, соответственно). В дальнейшем в варианте с избытком цинка число матриц гена *HvCAT2* существенно не изменялось, а при дефиците металла оно уменьшалось и через 14 сут было в 5 раз ниже контрольных значений. Общая активность КАТ при дефиците цинка в среде в течение всего опыта сохранялась на одном уровне. При избытке металла через 7 сут активность фермента значительно превышала контроль (в 4,5 раза), а спустя 10 сут было зафиксировано резкое (почти в 2 раза) ее снижение по отношению к исходным значениям.

Таким образом, недостаток цинка не вызывает усиления окислительных процессов в листьях ячменя, тогда как избыток этого микроэлемента приводит к увеличению содержания МДА, что указывает на развитие окислительного стресса. Наблюдаемое первоначально при недостатке и избытке цинка увеличение относительного содержания транскриптов *HvCAT2* в листьях, очевидно, необходимо для активизации синтеза молекул фермента. В условиях дефицита цинка это, наряду с другими защитными механизмами, позволяет поддерживать окислительно-восстановительный баланс клеток в норме. Снижение активности фермента, наблюдаемое на фоне сохранения высокой экспрессии *HvCAT2* в условиях избытка цинка, может быть связано с истощением пула молекул КАТ в клетке вследствие нарушения баланса между их синтезом и распадом или является одной из регуляторных реакций, необходимых для запуска дополнительных механизмов защиты и/или репарации. В целом, полученные

результаты свидетельствуют об участии гена *HvCAT2* и кодируемой им изоформы фермента в адаптации растений ячменя как к недостатку, так и к избытку цинка в среде.

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (тема № 0218-2019-0074).

Список литературы

1. Mhamdi A., Queval G., Chaouch S., *et al.* // J. Exp. Bot. 2010. 61(15), 4197–4220.
2. Tounsi S., Kamoun Y., Feki K., *et al.* // Plant Physiol. Biochem. 2019. 139, 366–378.
3. Mukhopadhyoy M., Das A., Subba P., *et al.* // Biol. Plant. 2013. 57, 474–480.
4. Батова Ю.В., Казнина Н.М., Титов А.Ф. // Известия РАН. Сер. биол. 2021. 2, 153–162.

EFFECT OF ZINC DEFICIENCY AND EXCESS ON THE *HvCAT2* GENE EXPRESSION, CATALASE ACTIVITY AND OXIDATIVE PROCESSES IN BARLEY LEAVES

Batova Y.V., Kaznina N.M., Repkina N.S., Titov A.F.

Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences

Keywords: *Hordeum vulgare* L., *HvCAT2*, catalase, lipid peroxidation, zink.

Catalase (CAT) is one of the key antioxidant enzymes. However, the information about involvement of CAT in plants adaptation to trace element disbalance is limited. The aim of this study was to investigate the effect of Zn deficiency and excess on CAT activity, *HvCAT2* gene expression and the development of the oxidative processes in barley leaves.

The influence of the Zn deficiency as well as Zn excess leads to *CAT2* gene expression by 4.7 and 6.5-fold increase respectively compare to control on the 7th day. After 14 days at Zn deficiency the *HvCAT* transcripts content by 5-fold decrease compare to control whereas under Zn excess did not change. CAT activity was not affected by Zn deficiency while Zn excess caused significant elevation of the enzyme activity on the 7th day of exposure with following sharply decrease on day 10. Thus, both a Zn deficiency and excess initially caused accumulation of *HvCAT* transcripts content, that can be necessary for further activation of CAT synthesis. Probably, this allows maintaining normal redox balance of cells at Zn deficiency. However, the development of oxidative stress under Zn excess was observed that can be associated with decrease of CAT activity due to imbalance between the synthesis and decay of enzyme molecules. According to results we can supposed that *HvCAT* gene and the CAT enzyme take a part in the adaptation of barley to the Zn deficiency and Zn excess.

Exposition		7 day	10 day	14 day
T r e a t m e n t	Zn deficiency (0 μ M)	<i>HvCAT2</i> ↑ CAT = MDA ↓	<i>HvCAT2</i> ↓ CAT = MDA ↓	<i>HvCAT2</i> ↓ CAT ↓ MDA ↓
	Zn excess (1000 μ M)	<i>HvCAT2</i> ↑ CAT ↑ MDA ↑	<i>HvCAT2</i> ↑ CAT ↑ MDA ↑	<i>HvCAT2</i> ↑ CAT = MDA ↑
		↑ - increased compare to control; ↓ - decreased compare to control; = - did not differ from control		

УДК 581.1

РОЛЬ РЕГУЛЯЦИИ РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМА В ФОРМИРОВАНИИ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ С РАЗЛИЧНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К ОБЕЗВОЖИВАНИЮ

Безрукова М.В.^{*}, Лубянова А.Р.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН,
Уфа, Россия

^{*}E-mail: mbezrukova@mail.ru

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, засуха, метилжасмонат, ПЭГ 6000.

Реакция генотипов пшеницы на обезвоживание широко исследуется, поскольку почвенная засуха является основным препятствием для успешного производства сельскохозяйственных культур. Изучена регуляция окислительно-восстановительного обмена в корнях проростков пшеницы с различными стратегиями адаптации: засухоустойчивого сорта Экада 70 и чувствительного к ранней засухе сорта Салават Юлаев при дефиците воды, вызванном 12% ПЭГ 6000. У сорта Салават Юлаев наблюдалось более раннее, длительное значительное поддержание активности супероксиддисмутазы и пероксидазы. В корнях сорта Экада 70 антиоксидантные ферменты после резкого транзитного отсроченного накопления работали на более низком уровне и существенно не изменялись. Это позволяет предположить, что генотип засухоустойчивого сорта был более успешным в элиминации активных форм кислорода, вызванных обезвоживанием. С целью повышения устойчивости растений к стрессовым факторам общепринятым подходом является применение фитогормонов разной природы. Нами показано, что метилжасмонат (МеЖ) эффективно нормализовал окислительно-восстановительный статус у обоих исследованных сортов. Предварительная обработка этим фитогормоном снижала уровень стресс-индуцированных нарушений гомеостаза АФК и уровень продукта перекисного окисления липидов малонового диальдегида быстрее у сорта Экада 70. Проведенный гистохимический анализ локальной активации пероксидазы в сегментах кончика семенных корней сорта Салават Юлаев под влиянием 12% ПЭГ, включающих зоны меристемы и растяжения, показал усиление окрашивания 3,3-диаминобензидином (ДАБ) относительно контроля в зоне растяжения и незначительное изменение в области меристемы и так называемой Т-зоны перехода от верхушки корней к зоне растяжения. Предобработка МеЖ приводила при стрессе к заметному снижению локализации пероксидазной активности в зоне апикальной меристемы, центрального цилиндра и субэпидермальной области зоны растяжения. В отличие от сходного с чувствительным сортом распределения активности пероксидазы в контроле, характер окрашивания ДАБ кончика корня сорта Экада 70 при обработке 12% ПЭГ разительно отличался. Выявлено усиление накопления пероксидазной активности, свидетельствующее об активации антиоксидантной защиты клеток, в эпидермальной и субэпидермальной области Т-зоны и зоны меристемы, а также незначительное увеличение окрашивания ДАБ в области центрального цилиндра. Интенсивность локального распределения пероксидазной активности в предобработанных фитогормоном корнях устойчивого сорта при стрессе соответствовала уровню активности в них этого фермента, который к 3 ч опыта снижался до контрольного значения. Вместе с тем, в отличие от контроля, эффект МеЖ на максимальную активность пероксидазы наблюдался в клетках зоны меристемы, прилегающей к покоящемуся центру, где происходит активное деление клеток; в зоне растяжения интенсивность окрашивания ДАБ была незначительной.

Известно, что усиление синтеза лигнина и его отложения в оболочках клеток вносит важный вклад в формирование устойчивости растений к стрессу. Полученные данные свидетельствуют об ускорении отложения лигнина, окрашенного флороглюцин-HCl, в эпидермальной и субэпидермальной области Т-зоны и центральном цилиндре контрольных

корней устойчивого сорта Экада 70 относительно сорта Салават Юлаев, что соответствует локальной активации в них пероксидазы. Проведенный анализ эффекта МеЖ на корни исследованных сортов также демонстрирует колокализацию в них лигнина и пероксидазной активности, соответствующее уровню активности антиоксидантного фермента. Анатомические особенности накопления связанных фенольных соединений в клетках, вероятно, способствуют формированию ограничивающего барьера, предотвращая потери воды (неконтролируемый обратный поток) из корня и изменяя пути переноса ионов в условиях осмотического стресса, являясь одним из возможных факторов, позволяющих сохранить деление и рост в условиях обезвоживания на высоком уровне. Стратегия засухоустойчивого сорта к обезвоживанию включает локальное накопление пероксидазы и ускорение лигнификации в эпидермальной и субэпидермальной области Т-зоны и центральном цилиндре, что свидетельствует об активации антиоксидантной защиты клеток, а также более быструю стабилизацию редокс-метаболизма при стрессе. В механизм защитного действия метилжасмоната при осмотическом стрессе задействована способность стабилизации на уровне близком к контролю количественных изменений и локализации антиоксидантных ферментов и отложения лигнина.

Работа выполнена в рамках государственного задания (тема № АААА-А21-121011990120-7) и частично поддержана грантом РФФИ № 20-04-00904.

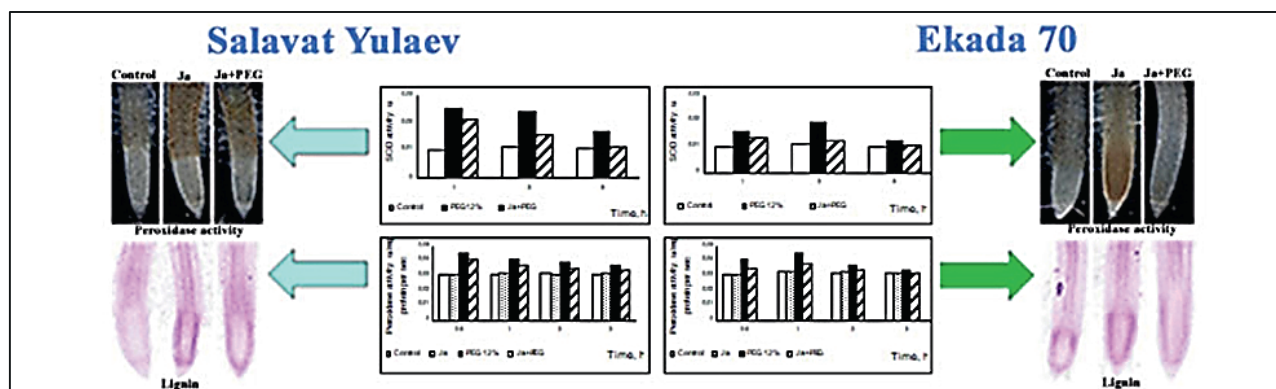
ROLE REDOX METABOLISM REGULATION IN DROUGHT TOLERANCE OF WHEAT VARIETIES WITH DIFFERENT DEHYDRATION SENSITIVITY

Bezrukova M.V., Lubyanova A.R.

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Keywords: *Triticum aestivum*, drought, methyl jasmonate, PEG 6000.

The strategy of drought-resistant plant cultivar growing under dehydration includes local accumulation of peroxidase and accelerated lignin deposition in the epidermal and subepidermal regions of the T-zone and the central cylinder. These histochemical data indicate the antioxidant enzymes activation in cells, as well as more rapid stabilization of redox metabolism under stress. Under osmotic stress, the mechanism methyl jasmonate-induced protection involves the hormone ability to stabilize not only quantitative changes and localization of antioxidant enzymes, but lignin deposition at a level close to the control.



УДК 574/577+57.017.3

**ВЗАИМОСВЯЗЬ РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМА
И СТРУКТУРЫ РАСТЕНИЙ КАЛЬЦЕФИТОВ****Богданова Е.С.^{1*}, Кавеленова Л.М.², Нестеров В.Н.¹, Кузовенко О.А.²,
Сарварова Р.Р.², Табаленкова Г.Н.³, Розенцвет О.А.¹**¹Самарский федеральный исследовательский центр РАН,
Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия²ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет
им. академика С.П. Королева», Самара, Россия³ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
Сыктывкар, Россия**E-mail: cornales@mail.ru***Ключевые слова:** кальцефиты, редокс-метаболизм, пигменты, фенольные соединения, углеводы.

Растения-кальцефиты представляют уникальную, малоизученную группу растений, произрастающих преимущественно на почвах, богатых соединениями кальция. Экологические особенности местообитаний кальцефитов своеобразны; почвенный субстрат слабо развит, подвижен, подвержен постоянной эрозии, плохо проницаем для воды, беден минералами и органическими соединениями; растения подвергаются постоянному действию ветров, высокой температуры воздуха, избыточной инсоляции [1]. Растения, обитающие на меловых обнажениях, проявляют признаки как ксероморфной, так и гелиоморфной организации. Адаптация к условиям произрастания проявляется на разных уровнях: морфологическом, физиологическом и биохимическом. В основе физиологических адаптаций растений лежат изменения клеточных процессов – содержание и состав соединений, тесно связанных с основными метаболическими путями, включая редокс-метаболизм, который рассматривается как один из фундаментальных механизмов регуляции функциональной активности клеток [2].

Цель работы – изучить взаимосвязь антиоксидантного статуса и структурных особенностей некоторых представителей кальцефитной флоры.

Исследовали 13 видов растений кальцефитов, произрастающих на территории Самарской области. Редокс-метаболизм оценивали по оводненности листьев, содержанию фотосинтетических пигментов, углеводов, фенольных соединений, водо- и мембрано-связанных белков, интенсивности накопления продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Для выявления взаимосвязи структуры и физиолого-биохимических параметров был использован метод корреляционного анализа.

Выявлено, что кальцефиты реализуют различные структурные адаптации, противодействуя избытку света (опушение), снижая потери влаги (восковой налет). Структура их побегов определяет объем первичной продукции растений. Количественное содержание компонентов, регулирующих редокс-метаболизм, коррелируют как между собой, так и со структурными показателями растений. В частности, в многовидовых сообществах у более высоких растений содержание фотосинтетических пигментов ниже, чем у низкорослых. Содержание фенольных соединений и уровень ПОЛ в листьях кальцефитов связано с уровнем развития воскового налета. Растения, формирующие куртины и мощные побеги, характеризуются повышенной активностью ПОЛ.

Таким образом, количественное содержание компонентов, регулирующих редокс-метаболизм, коррелируют как между собой, так и со структурными показателями растений.

Список литературы

1. Escudero A., Palacio S., Maestre F.T., Luzuriaga A.L. // Biol. Rev. 2014. 90, 1–20.
2. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. // Успехи физиологич. наук. 2008. 39, 29–44.

RELATIONSHIP BETWEEN OF REDOX METABOLISM AND STRUCTURE OF CALCIPHYTE PLANTS

Bogdanova E.S.¹, Kavelenova L.M.², Nesterov V.N.¹, Kuzovenko O.A.²,
Sarvarova R.R.², Tabalenkova G.N.³, Rozentsvet O.A.¹

¹Samara Federal Research Center RAS Institute of Ecology of the Volga Basin RAS Togliatti, Russia

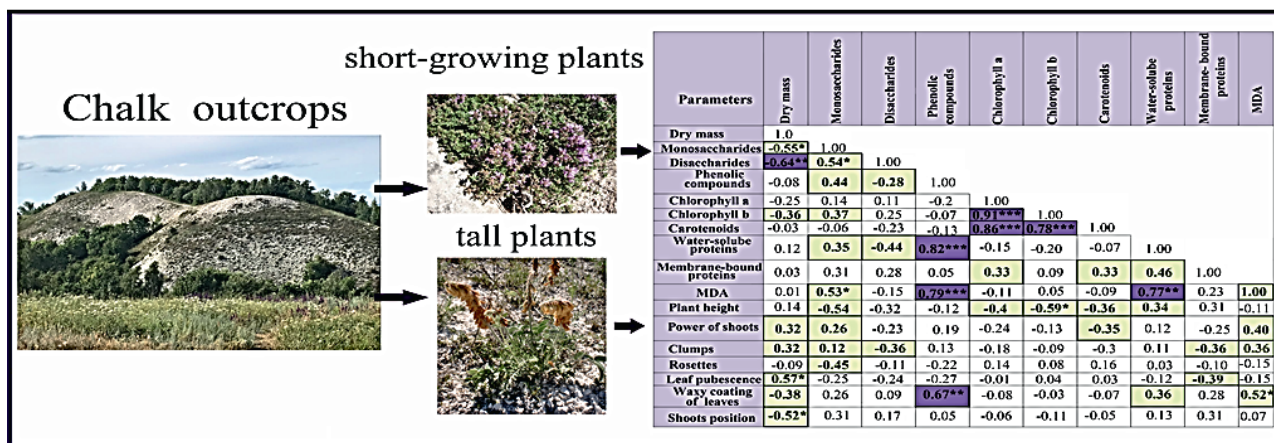
²Samara National Research University named after academician S.P. Korolev, Samara, Russia

³Institute of Biology, Komi Scientific Center RAS, Syktyvkar, Russia

Keywords: calciphytes, redox metabolism, pigments, phenolic compounds, carbohydrates.

The calciphylous flora species form systematically and structurally heterogeneous group of plants that capable of tolerating highly stressful conditions. Calciphytes implement various structural adaptations to excess light (leaf pubescence) and moisture loss (waxy coating). Their shoot structure determines the volume of primary plant production. The work investigated the antioxidant status and structural features relationship of some species of calciphytes. Redox metabolism in plant leaves was assessed using parameters such as water content, photosynthetic pigments, soluble carbohydrates, water-soluble phenolic compounds, water-soluble and membrane-bound proteins, and lipid peroxidation (LPO) level. The data obtained showed that the quantitative content of the components regulating redox metabolism correlates both with each other and with the structural parameters of plants. In particular, the content of photosynthetic pigments in multi-species communities in taller plants is lower than in low-growing ones. The content of phenolic compounds and the level of LPO in calciphyte leaves are associated with the level of development of wax plaque. The plants forming clumps and powerful shoots are characterized by increased LPO activity.

Paired correlation coefficients of biochemical and structural parameters of calciphyte plants. *The reliability of the correlation coefficient at a confidence level of 0.95 for a sample size of 15 pairs of values (species) corresponds to the values of the correlation coefficient from 0.51 and above; **At a confidence level of 0.99 – the correlation coefficient is from 0.63 and above; ***At a confidence level of 0.999 – a correlation coefficient of 0.75 and higher.



УДК 577.352.333

СТИГМАСТЕРИН – СТРЕССОВЫЙ СТЕРИН РАСТЕНИЙ**Валитова Ю.Н.* , Ренкова А.Г., Хабибрахманова В.Р., Мухитова Ф.К., Рахматуллина Д.Ф.,
Викторова Л.В., Галеева Е.И., Трифонова Т.В., Пономарева А.А., Минibaева Ф.В.**

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

E-mail: yulavalitova@mail.ru*Ключевые слова:** активные формы кислорода, солевой стресс, стигмастерин, температурный стресс.

Известно, что растения, в отличие от животных, обладают сложным составом стерина, многообразие которого определяет широкий спектр функций стерина в жизнедеятельности растений [1]. Преобладающими мембранными стеринами высших растений являются β -ситостерин, кампестерин, стигмастерин. Структурно стигмастерин похож на ситостерин, но отличается от ситостерина двойной связью в положении С-22, в образовании которой участвует фермент С-22 стерин-десатураза [2]. В последние годы появилась информация о том, что стигмастерин является «стрессовым» стеринам. Показано, что накопление стигмастерина происходит в растениях при ответах на различные стрессовые воздействия, в частности, при бактериальной атаке и при гравитропизме [3]. До настоящего времени тонкие механизмы вовлечения стигмастерина в стрессовые ответы остаются не раскрытыми.

В нашей лаборатории были проведены исследования, посвященные изучению механизмов вовлечения стигмастерина в стрессовые ответы растительных клеток. Было показано, что действие низкой температуры на проростки пшеницы приводило к увеличению проницаемости плазмалеммы для ионов, изменению редокс-статуса клеток (возрастал уровень H_2O_2 и ПОЛ, повышалась активность пероксидаз и уровень экспрессии генов пероксидаз) и увеличению уровня стигмастерина [4]. Было обнаружено, что уровень транскриптов С22-стерин десатуразы выше в корнях при действии холода, чем в листьях, что свидетельствует об органоспецифичности «стеринового» ответа в проростках пшеницы на действие низкой температуры [5]. Действие повышенной температуры приводило к снижению энергетических показателей, изменению редокс-статуса клеток и снижению жизнеспособности, но не вызывало изменений в содержании стигмастерина. Таким образом, стигмастерин оказался нечувствительным к воздействию повышенной температуры, что может свидетельствовать об избирательности «стеринового» ответа на действие абиотических стрессоров. Исследование действия фитогормонов на уровень стигмастерина показало, что при действии АБК и СК на проростки пшеницы были выявлены наиболее заметные изменения содержания стигмастерина. Анализ активности генов С22-стерин десатуразы выявил увеличение активности генов при действии АБК в корнях, но не в листьях. Таким образом, изменение активности генов, кодирующих С-22 стерин десатуразу, при действии фитогормонов носит органоспецифический характер и еще раз подтверждает участие стигмастерина в различных стрессовых ответах [6]. Обработка проростков пшеницы засолением приводила к снижению энергетических показателей, увеличению содержания H_2O_2 и повышению активности пероксидазы, снижению жизнеспособности клеток и одновременному увеличению содержания стигмастерина в клетках, что может свидетельствовать о вовлечении стигмастерина в стрессовый ответ растительных клеток на засоление.

На основании полученных данных можно заключить, что уровень стигмастерина в растительных клетках чувствителен к действию различных стрессоров, но степень чувствительности отличается в зависимости от характера воздействия.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-04-00988, гранта Президента РФ МК-264.2020.4

Список литературы

1. Valitova J.N., Sulkarnayeva A.G., Minibayeva F.V. // Biochem (Moscow). 2016. 81, 819–834.
2. Shaller H. // Plant Physiol. Biochem. 2004. 42, 465–476.
3. Aboobucker S.I., Suza W.P. // Front. Plant Sci. 2019. 10, 354.
4. Valitova J.N., Renkova A.G., Mukhitova F., *et al.* // Plant Physiol. Biochem. 2019. 142, 452–459.
5. Renkova A., Valitova J., Schaller H., *et al.* // Biol. Plantarum. 2019. 63, 59–69.
6. Ренкова А.Г., Хабибрахманова В.Р., Валитова Ю.Н., *и др.* // Физиол. раст. 2021. 68, 279–288.

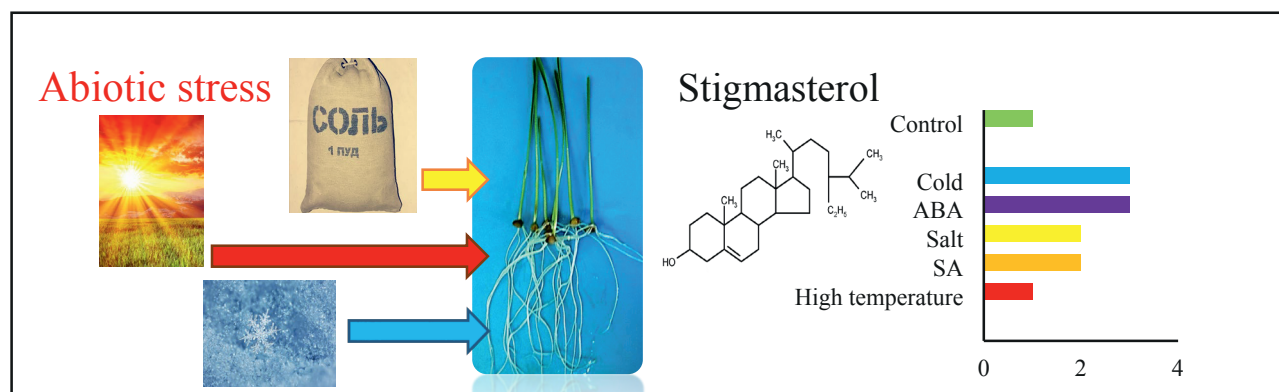
STIGMASTEROL – STRESSFUL PLANT STEROL

Valitova J.N., Renkova A.G., Khabibrakhmanova V.R., Mukhitova F.K., Rakhmatullina D.F., Viktorova L.V., Galeeva E.I., Trifonova T.V., Ponomareva A.A., Minibayeva F.V.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
FRC Kazan Scientific Center of the RAS, Kazan, Russia

Keywords: reactive oxygen species, salt stress, stigmasterol, temperature stress.

In recent years, the information that stigmasterol is a "stressful" sterol has emerged. It has been shown that stigmasterol accumulated in plants in response to various stress factors. In our laboratory, it was shown that cold treatment of wheat seedlings led to an increase in the permeability of the plasma membrane for ions, changes in the redox status of cells (an increase in the level of H_2O_2 and LPO, in the activity of peroxidases) and an increase in the level of stigmasterol. The effect of high temperature induced a decrease in energy parameters, changes in the redox status of cells (an increase in the H_2O_2 level and peroxidase activity) and a decrease in viability, but did not cause changes in the stigmasterol content. Thus, stigmasterol was found to be insensitive to the effects of high temperature, which may indicate the selectivity of the "sterol" response to the action of abiotic stressors. Salinity treatment of wheat seedlings led to a decrease in energy parameters, a change in the oxidative status of cells: an increase in the H_2O_2 content, an increase in peroxidase activity, a decrease in cell viability and a simultaneous increase in the stigmasterol content, which may indicate the involvement of stigmasterol in the stress response of plant cells for salinity. It can be concluded that stigmasterol is sensitive to various stressful influences, but the degree of sensitivity differs depending on the nature of the exposure.



УДК 577.151.644

АКТИВНОСТЬ ЛАККАЗ И ТИРОЗИНАЗ В НЕМЕЛАНИЗИРОВАННЫХ И МЕЛАНИЗИРОВАННЫХ ЛИШАЙНИКАХ**Викторова Л.В.* , Галеева Е.И., Минибаева Ф.В.**

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

*E-mail: lar-viktorova@yandex.ru

Ключевые слова: изоформы, лакказы, лишайники, меланин, тирозиназа.

Лишайники состоят из двух или более генетически обособленных, но в то же время тесно связанных между собой морфологически, физиологически и биохимически организмов: гетеротрофного гриба (обычно аскомицета) и фототрофной водоросли и/или цианобактерии. Взаимоотношения компонентов лишайника достаточно сложны и определяются как симбиотические. Наличие фотосинтезирующего партнера позволяет лишайникам заселять субстраты, практически полностью лишённые органического вещества, а наличие морфологических и химических приспособлений – не только выживать в условиях стресса, но и быстро восстанавливать метаболическую активность [1]. Одним из компонентов эффективной защиты лишайников от действия неблагоприятных факторов среды является наличие уникальных метаболитов, в частности, высокомолекулярных темных пигментов – меланинов, количество которых увеличивается в ответ на увеличение количества солнечных лучей. Пигментация верхней стороны слоевища лишайников действует как первая линия защиты для предотвращения УФ-индуцированного внутриклеточного повреждения. Показано, что лишайниковые оксидазы лакказного и тирозиназного типов могут участвовать в метаболизме *L*-дигидроксифенилаланина (*L*-DOPA), предшественника меланина [2]. Целью настоящей работы был анализ активности и изоферментного состава лакказ и тирозиназ в ряде немеланизированных и меланизированных лишайников.

Исследования проводили с использованием талломов лишайников различных таксономических групп: *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm., *Cetraria islandica* (L.) Ach., *Evernia prunastri* (L.) Ach. и *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf., в которых образование меланина индуцировалось под влиянием естественного солнечного освещения. Выявлено увеличение активности лакказы и тирозиназы в экстрактах меланизированных образцов лишайников, по сравнению с немеланизированными. Установлено, что лишайник порядка *Peltigerales* *L. pulmonaria* проявлял более значительную активность оксидоредуктаз, по сравнению с таковой в лишайниках порядка *Lecanorales*. Частичная очистка белков экстракта *L. pulmonaria* с помощью анионообменной хроматографии выявила пики активности лакказы и тирозиназы. Охарактеризован изоферментный спектр оксидаз, определены изоэлектрические точки и молекулярные массы основных изоформ. Специфическое окрашивание гелей после 2D-электрофореза с помощью субстратов лакказы *o*-дианизидина и тирозиназы *L*-DOPA визуализировало две мажорные изоформы ферментов: 120 кДа с pI 6,6 и 60 кДа с pI 5,9 и позволило сделать предположение, что в лишайнике *L. pulmonaria* *L*-DOPA не только является предшественником в реакции образования меланина с участием тирозиназы, но также может быть метаболизирован лакказами.

Оксидоредуктазы лишайников обладают широким спектром физиологического действия, в том числе участвуют в расщеплении древесины, процессах гумификации почвы [3], биосинтезе меланинов и других пигментов, защищающих фотобионт от избытка ультрафиолета и радиоактивных веществ [4]. Наряду с этим, оксидоредуктазы лишайников выполняют протекторную функцию посредством образования и детоксикации активных форм кислорода, участвующих в защите лишайников от патогенов и абиотических стрессоров [5].

Работа осуществлялась в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также поддержана грантом РФФ № 18-14-00198 (очистка белков).

Список литературы

1. Kranner I., Beckett R., Hochman A., *et al.* // The Bryologist. 2008. 111, 576–593.
2. Matee L.P., Beckett R.P., Solhaug K.A., *et al.* // Lichenologist. 2016. 48 (4), 311–322.
3. Морозова О.В., Шумакович Г.П., Шлеев С.В., *и др.* // Прикладная биохимия и микробиология. 2007. 43 (5), 583–597.
4. Beckett R., Zavarzina A.G., Liers C. // Fungal Biology. 2013. 117, 431–438.
5. Beckett R., Minibayeva F., Laufer Z. // Lichenologist. 2005. 37, 397–407.

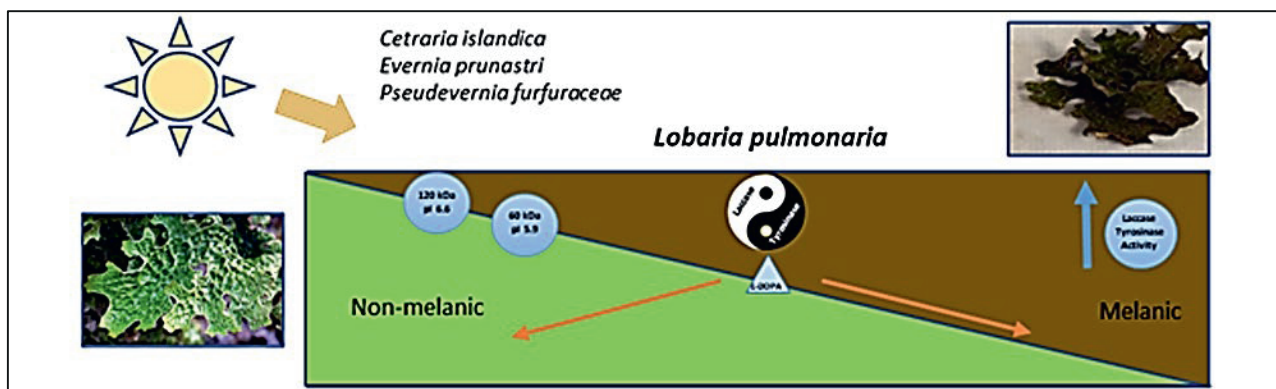
ACTIVITY OF LACCASES AND TYROSINASES IN NON-MELANIZED AND MELANIZED LICHENS

Viktorova L.V., Galeeva E.I., Minibayeva F.M.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics FRC KazSC RAS, Kazan, Russia

Keywords: isoforms, laccase, lichens, melanin, tyrosinase.

Redox enzymes are among the key factors of stress tolerance of lichens. They are involved in the formation of melanins, protective pigments synthesized by mycobiont. Lichen thalli from various taxonomic groups, in which the formation of melanin was induced by natural sunlight were selected. The activities of laccase and tyrosinase activity in the extracts from melanized lichens was higher than in non-melanized lichens. It was found that lichen *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. from the order Peltigerales exhibited the most significant oxidoreductase activity compared to lichens from the order Lecanorales. Partial purification of proteins from *L. pulmonaria* extracts using anion exchange chromatography revealed the peaks of laccase and tyrosinase activities. The isoenzyme spectra of oxidases were characterized, the isoelectric points and molecular weights of the main isoforms were determined. Specific staining of 2D-gels using laccase (*o*-dianisidine) and tyrosinase (*L*-DOPA) substrates visualized two major enzyme isoforms of 120 kDa with pI 6.6 and 60 kDa with pI 5.9. It was suggested that in *L. pulmonaria* *L*-DOPA is not only a precursor in the melanin formation mediated by tyrosinase, but it can also be metabolized by laccases. The functions of these enzymes include the deterioration of wood, soil humification, the synthesis of melanins, and also the generation and metabolism of reactive oxygen species, which are involved in the defence of lichens from pathogens and abiotic stresses.



УДК 577.355

ИССЛЕДОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ ПУЛА ПЛАСТОХИНОНА В УСЛОВИЯХ ОБРАЗОВАНИЯ СУПЕРОКСИДНОГО АНИОН-РАДИКАЛА МЕМБРАННЫМИ КОМПОНЕНТАМИ ФОТОСИСТЕМЫ I ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Вильянен Д.В. *, Козулева М.А., Найдов И.А.,
Борисова-Мубаракшина М.М., Иванов Б.Н.

Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук (ИФПБ РАН),
Обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических
исследований Российской академии наук», Пушкино, Россия

*E-mail: vilyadar@gmail.com

Ключевые слова: активные формы кислорода, пул пластохинона, редокс-сигнализация, супероксидный анион-радикал, фотосистема I.

Пул пластохинона (ПХ пул) хлоропластов – ключевое звено редокс-сигналинга растений, от окислительно-восстановительного состояния которого зависит протекание множества регуляторных и метаболических путей в растительной клетке. Исследование взаимодействия компонентов ПХ пула с активными формами кислорода, приводящего к изменению его окислительно-восстановительного статуса, является важным для понимания антиоксидантной и сигнальной функций ПХ пула. Ранее в исследованиях нашей лаборатории было показано, что при повышенной освещенности и в условиях, когда кислород является единственным акцептором электронов от фотосистемы I (ФС I), и в присутствии естественного акцептора электронов от ФС I, ферредоксина, при параллельном восстановлении НАДФ⁺, супероксидный анион-радикал (O₂^{•-}) генерируется преимущественно промежуточным кофактором переноса электрона ФС I – филлохиноном в восстановленной форме (филлосемихиноном). В наших работах было предположено, что генерируемый филлосемихиноном O₂^{•-} может быть восстановлен до пероксида водорода двукратно-восстановленным пластохиноном, пластохинолом.

В данной работе мы исследовали окисление пула пластохинона в условиях образования O₂^{•-} компонентами ФС I высших растений с помощью измерения флуоресценции хлорофилла *a* с высоким разрешением (JIP-тест). Исследования проводили с использованием интактных тилакоидов шпината. Полное восстановление пула пластохинона при освещении обеспечивали с помощью ингибиторов окисления пластохинола в цитохромном *b₆f* комплексе: динитрофенилового эфира йодонитротимола (DNP-INT) и дибромтимохинона (DBMIB). Для восстановления ФС I и образования ее компонентами супероксидного анион-радикала использовали доноры электронов: аскорбат натрия и 2,6-дихлорфенолиндифенол (DCPIP) или аскорбат натрия и N,N,N',N'-тетраметил-*p*-фенилендиамин (TMPD). При измерении JIP-кинетик тилакоиды освещали красным светом интенсивностью 600 мкмоль квантов м⁻² с⁻¹ в течение 5 сек в присутствии молекулярного кислорода в качестве акцептора электронов от ФС I. Регистрирующую вспышку мощностью 3000 мкмоль квантов м⁻² с⁻¹ подавали в интервале от 0,1 до 2 сек в темноте после выключения света.

С применением ингибиторов окисления пластохинола и доноров электронов для ФС I, мы показали, что окисление пластохинола после выключения света носит двухфазный характер; причем быстрая (до 0,5 секунды) фаза окисления пластохинола значительно более выражена в присутствии доноров электронов к ФС I, чем в их отсутствие, т.е. в условиях образования O₂^{•-} мембранными компонентами ФС I. Быстрая фаза окисления пластохинола практически исчезала в присутствии метилвиологена – искусственного акцептора электронов от ФС I, который, обеспечивая эффективный отток электронов от терминальных акцепторов ФС I, предотвращает образование мембранного O₂^{•-} в этой фотосистеме. Полученные данные свидетельствуют в пользу предположения о том, что пластохинол окисляется мембранным O₂^{•-}, образованным в ФС I. Генерируемый при этом пероксид водорода является важной

сигнальной молекулой в растительной клетке, поэтому данная реакция может быть частью редокс-регуляторных механизмов, обеспечивающих адаптацию растений к стрессовым условиям.

Работа частично поддержана грантом РФФ №17-14-00371n.

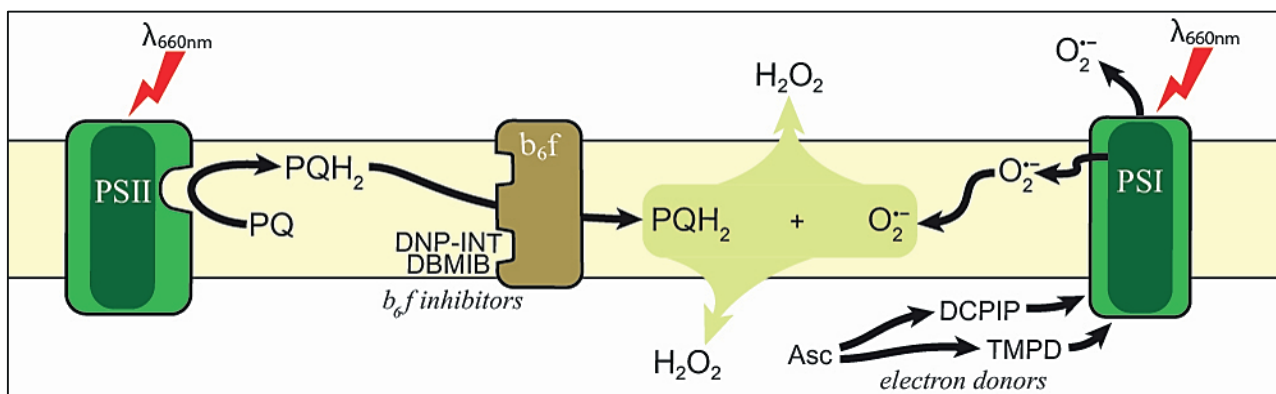
PLASTOQUINONE POOL OXIDATION DURING SUPEROXIDE ANION-RADICAL FORMATION BY MEMBRANE COMPONENTS OF PHOTOSYSTEM I IN HIGHER PLANTS

Vilyanen D.V., Kozuleva M.A., Naidov I.A.,
Borisova-Mubarakshina M.M., Ivanov B.N.

Institute of Basic Biological problems RAS, Pushchino, Russia

Keywords: reactive oxygen species, plastoquinone pool, redox signaling, superoxide radical anion, photosystem I.

A number of metabolic and regulatory pathways depend on plastoquinone pool redox state; therefore, it is important to study the mechanisms of interactions between plastoquinone and reactive oxygen species, which can affect the redox state of the plastoquinone pool. It has been shown, that superoxide anion-radicals are generated by phylosemiquinone, a reduced membrane component of photosystem I (PS I), at high light intensity with a native electron acceptor from PS I. Our previous publications suggested that superoxide anion-radicals generated by phylosemiquinone could interact with plastoquinol leading to formation of hydrogen peroxide. In this study, we demonstrated using JIP-test that in the presence of plastoquinol oxidation inhibitors and electron donors for PS I, the oxidation of the plastoquinone pool at high light intensity has a biphasic kinetics. Moreover, the fast plastoquinol oxidation phase (under 0.5 s) is more pronounced in the presence of electron donors for PS I than in their absence. The addition of an artificial electron acceptor from PS I, methyl viologen, eliminated the fast plastoquinol oxidation phase by providing fast electron flow from terminal cofactors of PS I. We believe, that interaction between plastoquinol and the membrane superoxide anion-radical generated by PS I leading to formation of hydrogen peroxide may be part of the redox signaling system in higher plant cells.



УДК 581.1

РОЛЬ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ ОКСИДАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И РЕДОКС-БАЛАНСА РАСТЕНИЙ

Гармаш Е.В.

Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия

E-mail: garmash@ib.komisc.ru

Ключевые слова: адаптация, альтернативная оксидаза, дыхательные пути, стресс, энергетическая эффективность дыхания.

Альтернативный (цианидустойчивый) путь дыхания (АП), осуществляющий транспорт электронов через терминальную альтернативную оксидазу (АО), не сопряжен с двумя пунктами запасаения энергии, поэтому снижает энергетическую эффективность дыхания (ЭЭД) [1]. На основе изучения дыхания и регуляции активности АО обоснована роль АП в поддержании энергетического и редокс-баланса клетки и целого растения при изменении условий среды. Установлены закономерности изменения дыхания и соотношения дыхательных путей в процессе деэтиоляции проростков пшеницы [2]. Дыхание и вклад АП возрастали, достигая максимума в течение первых 4–6 ч зеленения, когда формировалась тилакоидная система. Активность АП коррелировала с уровнем экспрессии индуцируемого светом гена *AOX1a*, слабо зависела от количества белка АО и не влияла существенно на ЭЭД. Показано скоординированное функционирование АО, энергодиссипирующей и антиоксидантной систем, контролирующих уровень накопления АФК и регулирующих синтез аскорбата в зеленеющей клетке. Выявлены онтогенетические закономерности изменения дыхания листьев двух видов злаков с разной жизненной стратегией. В дыхании молодых листьев яровой пшеницы и озимой ржи доминировал цитохромный путь. В зрелых листьях пшеницы вклад АП повышался, а озимой ржи, наоборот, снижался, что обеспечивает необходимый для подготовки к перезимовке уровень энергопластических веществ [3]. Проанализирована зависимость дыхания и вовлечения АП в растениях холодостойкого сорта ячменя от скорости роста, модулируемой уровнем минерального питания и температурным режимом. В пределах температурного оптимума роста вовлечение АП регулируется скоростью роста и направлено на поддержание максимальной ЭЭД на уровне целого растения. При ограничении роста недостатком тепла и/или минеральных элементов дыхание протекает в основном по цитохромному пути. В экспериментах по влиянию разных доз кадмия на рост, дыхание и соотношение дыхательных путей в растениях ячменя, выращиваемых при двух температурных режимах, показано, что растения были способны поддерживать на постоянном уровне величину ЭЭД, кроме варианта с высоким уровнем кадмия (100 мкмоль) при пониженной температуре. В условиях сильного стресса ЭЭД снижалась до величины вдвое ниже теоретически возможной (15 моль АТФ/моль), что можно расценивать как признак сублетального состояния растений. Выявлено влияние уровня экспрессии гена *AOX1a* на формирование путей адаптации растений *Arabidopsis thaliana* к воздействию УФ-В радиации в физиологически приемлемой дозе [4]. Растения *A. thaliana* антисенсовой по *AOX1a* линии адаптировались к УФ-В путем усиления активности антиоксидантной системы и накопления антоцианов, тогда как у линии со сверхэкспрессией *AOX1a* ключевую роль в адаптации к фактору играет АП. Проведено изучение дыхания обработанных антоцианами растений водного макрофита *Elodea densa* при действии Cd и Mn [5]. Обработка экзогенными антоцианами снижала фитотоксичность металлов, активировала дыхание растений, в основном за счет вовлечения АП. При увеличении АП от 20 до 40–50% от общего дыхания величина ЭЭД варьировала в пределах 18–21 моль АТФ/моль глюкозы.

Сделано заключение о том, что АП является неотъемлемой частью сбалансированной защитной системы клетки, участвует в сигналинге, поддержании редокс-баланса и регуляции

биоэнергетики в норме и при стрессах, вызываемых различными факторами. Предложен алгоритм развития событий при модуляции АП и сопряженных изменениях величины ЭЭД.

Исследование выполнено в рамках бюджетной темы НИР (номер ГР АААА-А17-117033010038-7) и при поддержке РФФИ (грант № 19-04-00476 А).

Список литературы

1. Vanlerberghe G.C., Dahal K., Alber N.A., Chadee A. // Mitochondrion. 2020. 52, 197.
2. Garmash E.V. // Plant Biol. 2021. 23, 221.
3. Гармаш Е.В. // Физиол. раст. 2019. 66, 218.
4. Garmash E.V. Velegzhaninov I.O., Ermolina K.V., *et al.* // Plant Sci. 2020. 291. 110332.
5. Maleva M., Garmash E., Chukina N., *et al.* // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2018. 160, 197.

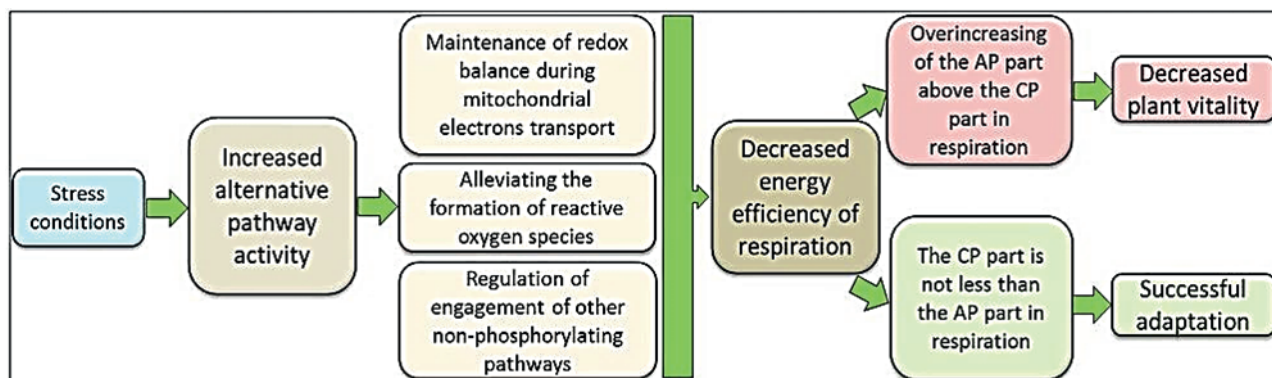
ROLE OF ALTERNATIVE OXIDASE IN REGULATION OF ENERGY AND REDOX BALANCE OF PLANTS

Garmash E.V.

Institute of Biology, Komi Scientific Centre, Ural Branch, Russian Academy of Sciences,
Syktyvkar, Russia

Keywords: adaptation, alternative oxidase, respiratory pathways, stress, energy efficiency of respiration.

The mechanisms of regulation of the alternative (cyanide-resistant) respiratory pathway (AP) of its role during growth and plant adaptation under changing environmental conditions are studied. The key role of AP as an integral part of the balanced defense system of the cell involved in signaling, maintaining redox balance and regulating bioenergetics under stress are shown. Based on the results obtained, a concept considering AP as a necessary component in the quantitative assessment of the energy efficiency of respiration is proposed.



УДК 581.14

**АКТИВНОСТЬ АПОПЛАСТНЫХ И ЦИТОЗОЛЬНЫХ ПЕРОКСИДАЗ
В ПРОРОСТКАХ ЦИННИИ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ****Гудилина А.С.^{*}, Тугбаева А.С., Ермошин А.А., Киселева И.С.**Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,
Екатеринбург, Россия^{*}E-mail: anna.gudilina@mail.ru**Ключевые слова:** окислительный стресс, пероксид водорода, фенолы, хлорид натрия.

Засоление почвы остается актуальной проблемой в сельском хозяйстве, поскольку ограничивает рост и урожайность растений. Активно изучаются биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптации растений к этому фактору. Известно, что растения испытывают осмотический и токсический стресс. Ранее было показано повышение активности пероксидаз III класса, увеличение количества пероксида и фенолов в ответ на воздействие NaCl у *Glycine max* L [1]. Выдвинуто предположение, что апопластные пероксидазы посредством лигнификации клеточных стенок регулируют рост корня в условиях засоления. Наше исследование направлено на изучение воздействия NaCl (5-75 мМ) на активность цитозольной и апопластной гваяколовой пероксидазы (ГПО), содержание пероксида, фенолов в разных органах проростков циннии.

Семена циннии (*Zinnia elegans* Jacq.) проращивали в чашках Петри с добавлением 5, 10, 25, 50 и 75 мМ NaCl (контроль – вода) в течение 7 дней при 24 °С и фотопериоде 16/8. Всхожесть семян определяли на 3 день. На 7 день оценивали биохимические параметры. Активность цитозольной и апопластной ГПО, количество H₂O₂ определяли по стандартной методике в грубом экстракте [2]. Содержание фенолов определяли с использованием реактива Фолина-Чекольтеу в спиртовом экстракте [3]. Статистическую обработку данных проводили в программе Excel и STATISTICA 10 для Windows 10 с применением U-критерия Манна-Уитни.

Проростки циннии отличались низкой устойчивостью к засолению. Так, при обработке 25 мМ замедлялся рост осевых органов, при 50 и 75 мМ NaCl существенно снижалось прорастание семян и затормаживался рост. Растения испытывали стресс, о чем свидетельствует увеличение количества H₂O₂ и в корне, и в гипокотиле при обработке растений 5 и 10 мМ NaCl. Фенолы являются антиоксидантами, субстратами для пероксидаз. В корне наблюдали снижение количества фенолов по сравнению с контролем и при обработке 5 и 10 мМ (на 28% и 14% соответственно). В гипокотиле их количество снижалось при обработке 5 мМ (на 27%), но возрастало при 10 мМ (в 2,8 раз). Корни проростков были более чувствительны к действию стрессора. Обработка циннии 5 и 10 мМ NaCl привела к снижению активности апопластной ГПО в корне (на 34 и 84% соответственно), но разнонаправленно влияла на ее активность в гипокотиле: при обработке 5 мМ отметили увеличение активности относительно контроля на 94%. Активность цитозольной ГПО снижалась в корнях при действии 10 мМ NaCl. В гипокотиле ее активность возрастала в 1,2 и 3,2 раза при обработке 5 и 10 мМ NaCl соответственно.

Таким образом, органы растений отличались по содержанию H₂O₂ и активности ГПО, локализованной в разных компартментах (апопласт и цитозоль) в условиях засоления. Увеличение количества фенолов в гипокотиле может быть связано с их активным участием в нейтрализации активных форм кислорода на данном этапе роста циннии. Снижение активности пероксидаз могло быть вызвано негативными эффектами избытка Na⁺ на конформацию фермента. Как следствие, наблюдали увеличение содержания пероксида, что свидетельствует о чувствительности проростков циннии к засолению.

Список литературы

1. Neves G.Y.S., Marchiosi R., Ferrarese M.L.L., *et al.* // J. Agron. Crop Sci. 2010. 196(6), 467–473.
2. Методы оценки антиоксидантного статуса: учеб.-метод. пособие, под ред. Н.В. Чукиной. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 67 с.
3. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. // Method. Enzymol. 1999. 299, 152–178.

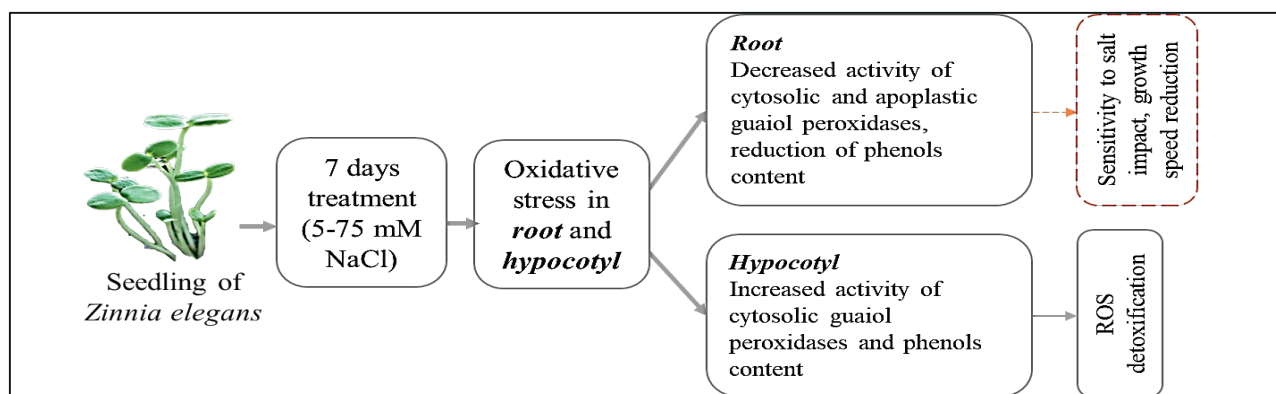
ACTIVITY OF APOPLASTIC AND CYTOSOLIC PEROXIDASES IN ZINIUM SPROUTS UNDER SALINATION

Gudilina A.S., Tugbaeva A.S., Ermoshin A.A., Kiseleva I.S.

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin,
Yekaterinburg, Russia

Keywords: hydrogen peroxide, oxidative stress, phenols, sodium chloride.

Soil salinity is a serious problem in agriculture because limits plant growth and productivity. The response to salinity includes both changes in biochemical, physiological processes and changes in morphology of plant. Previously, an increase in the activity of class III peroxidases, an increase in the amount of peroxide and phenols in response to the action of NaCl in root *Glycine max* L. was shown [1]. Our study is aimed at studying the effect of different concentrations of NaCl (5–75 mM) on the germination of zinnia seeds, the level of stress markers (guaiacol peroxidase activity, peroxide and phenol content, and the amount of lipid peroxidation products) in root in hypocotyl. The zinnia seedlings were sensitive to salt. The growth of root and hypocotyl was reduced under 25–75 mM, the germination was significantly reduced under 50 and 75 mM NaCl. The increase the level of hydrogen peroxide was shown. The activity of cytosolic and apoplastic guaiacol peroxidase, amount of soluble phenols was reduced in roots under 5 and 10 mM NaCl, that confirm barrier function of these organ. The activity of cytosolic guaiacol peroxidase, the content of phenols increased in hypocotyl, that may be altered with their antioxidant function.



УДК 582.29

**ИЗМЕНЕНИЯ ПИГМЕНТНОГО СОСТАВА В ЛИШАЙНИКЕ
LOBARIA PULMONARIA ПРИ УФ-ВОЗДЕЙСТВИИ****Гурьянов О.П.^{1*}, Хабибрахманова В.Р.^{1,2}, Хайруллина А.Ф.³,
Рассабина А.Е.¹, Шелякин М.А.⁴, Минибаева Ф.В.¹**¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия²Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия³Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия⁴Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

*E-mail: gurjanov58@gmail.com

Ключевые слова: *Lobaria pulmonaria*, абиотический стресс, пигменты, УФ-облучение, экстремофилы.

Среди фотосинтезирующих организмов особый интерес представляют лишайники, отличительной особенностью которых является симбиотическая природа и высокая устойчивость к действию неблагоприятных условий среды. Особая роль в защитных механизмах стрессовой устойчивости лишайников принадлежит синтезируемым ими вторичным метаболитам [1]. Так, защиту лишайников от негативного действия УФ лучей обеспечивают экранирующие пигменты – меланин и антрахиноны, а также антиоксидантные пигменты – каротиноиды [2]. Ранее в собственных исследованиях установлено, что различные лишайники содержат меланин, и его синтез активируется в ответ на УФ-В облучение [3]. В связи с этим, актуальным и важным является исследование изменений в составе пигментов лишайников при стрессовом ответе на УФ-В облучение. Это позволит оценить вклад различных пигментов в высокую стрессовую устойчивость лишайников к УФ воздействию.

Талломы лишайника *Lobaria pulmonaria* подвергали УФ-В облучению (280–315 нм, мощность 3 Вт/м², 80 мин ежедневно в течение 14 дней). Экстрагирование пигментов из талломов лишайника проводили ацетоном. В полученных экстрактах методом прямой спектрофотометрии определяли содержание хлорофиллов а и b, каротиноидов, антрахинонов [4]. Состав пигментов в полученных экстрактах исследовали методом инструментальной высокоэффективной тонкослойной хроматографии (CAMAG, Switzerland). После экстрагирования ацетоном из талломов *L. pulmonaria* выделяли меланин щелочной экстракцией. Выход меланина определяли гравиметрически.

Установлено, что состав пигментов в *L. pulmonaria* после УФ-В облучения не изменяется, однако наблюдаются существенные изменения в их количественном содержании. Наибольшие изменения обнаружены в содержании фотосинтетических пигментов хлорофиллов а и b, их содержание в талломах лишайника увеличивается примерно в 2 раза. Содержание каротиноидов, обладающих выраженными антиоксидантными свойствами, в талломах лишайника также возрастает почти в 1,2 раза. Несмотря на то, что антрахиноны являются экранирующими пигментами и способны защищать лишайник от вредного УФ-В облучения, их количество в талломах лишайника после УФ-воздействия находится на уровне контроля. Содержание меланина, темного пигмента полимерной природы, в талломах лишайника при УФ-В облучении увеличивается в 1,2 раза. Известно, что меланин, наряду с фотопротекторными свойствами, обладает выраженной антиоксидантной активностью.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о важной роли пигментов в тонких механизмах стрессового ответа лишайника *L. pulmonaria* на воздействие УФ-В облучения.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также при финансовой поддержке гранта РНФ № 18-14-00198, РФФИ № 20-34-90044.

Список литературы

1. Calcott M.J., Ackerley D.F., Knight A., *et al.* // Chem. Soc. Rev. 2018. 47, 1730–1760.
2. Nguyen K.-H., Chollet-Krugler M., Gouault N., *et al.* // Nat. Prod. Rep. 2013. 30, 1490–1508.
3. Рассабина А.Е., Гурьянов О.П., Бекетт Р.П., *и др.* // Биохимия. 2020. 85(5), 729–735.
4. Дымова О.В., Кузиванова О.А. // Химия растительного сырья. 2018. 2, 137–144.

CHANGES IN PIGMENT COMPOSITION OF LICHEN *LOBARIA PULMONARIA* FOLLOWING UV RADIATION

Gurjanov O.P.¹, Khabibrakhmanova V.R.^{1,2}, Khajrullina A.F.³,
Rassabina A.E.¹, Shelyakin M.A.⁴, Minibayeva F.V.¹

¹Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, Kazan, Russia

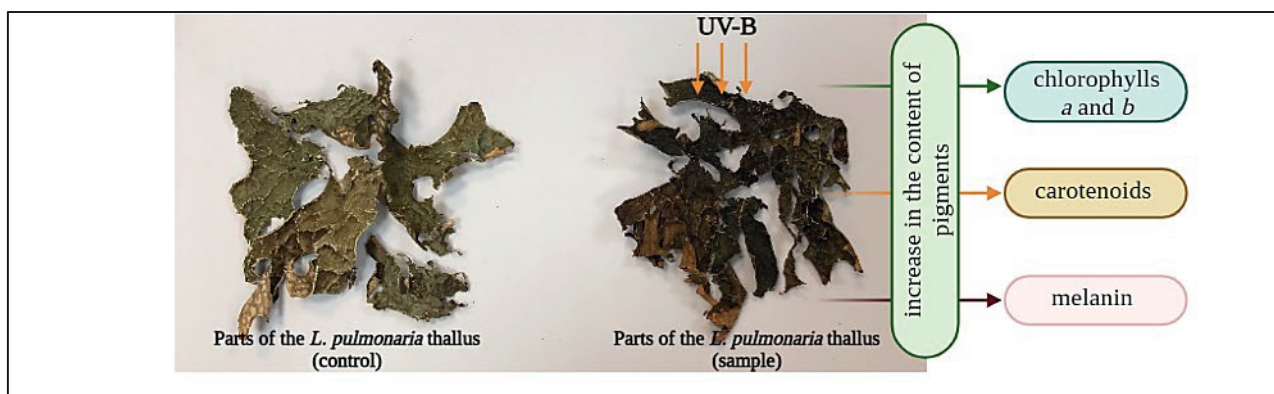
²Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia

³Kazan Federal University, Kazan, Russia

⁴Institute of Biology, FRC Komi SC UB RAS, Syktyvkar, Russia

Keywords: *Lobaria pulmonaria*, abiotic stress, extremophiles, pigments, UV radiation.

UV radiation is a threat for plants; therefore, to preserve the diversity and productivity of the flora it is important to study the mechanisms of adaptation to UV radiation. Lichens are photosynthesizing organisms, which can serve as model species for studying the effects of UV radiation because they can survive in conditions that are extremely unfavorable for other organisms. Secondary metabolites, and especially pigments, play a special role in the protection of lichens from UV radiation. The aim of present work was to study the changes in the pigment composition in the lichen *Lobaria pulmonaria* in response to exposure to the medium-wavelength UV (UV-B). It was found that the composition of pigments in *L. pulmonaria* thalli did not change when exposed to UV-B, but significant quantitative changes were observed. In lichen thalli after UV-B exposure the content of photosynthetic pigments chlorophylls *a* and *b* about doubled, carotenoids increased by 1.2 times. The content of melanin, which has pronounced photoprotective and antioxidant properties, in the lichen *L. pulmonaria* also increased by 1.2 times following UV-B irradiation. Even though anthraquinones are light screening pigments, their amount in UV treated thalli was at the control level. Thus, the results obtained indicate that pigments have significant contribution to the fine mechanisms of the UV-B stress response of the lichen *L. pulmonaria*.



УДК 581.1

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В РАСТЕНИЯХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ДЕФИЦИТА КИСЛОРОДА И ПОСЛЕДУЮЩЕЙ РЕАЭРАЦИИ

Емельянов В.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург

E-mail: bootika@mail.ru

Ключевые слова: аноксия, активные формы кислорода, карбонилирование, перекисное окисление липидов, постаноксия, протеом.

Одним из неблагоприятных факторов, влияющих на растения, является кислородная недостаточность, которая развивается вследствие избыточного увлажнения и затопления. От неё нередко страдают как природные фитоценозы, так и посадки культурных растений, что приводит к существенным потерям урожая. В естественной среде обитания вслед за периодом дефицита кислорода обычно следует восстановление аэробных условий, и растения оказываются в условиях постаноксического окислительного воздействия. Изучение механизмов этого стресса у растений, различающихся по устойчивости к кислородной недостаточности, составляло цель данного исследования.

Эксперименты проводили на проростках пшеницы (*Triticum aestivum* L., неустойчивое к дефициту кислорода растение) и риса (*Oryza sativa* L., устойчивое растение). Продукцию АФК в протопластах из листьев растений оценивали с помощью флуоресцентного зонда CM-H₂DCFDA. Эндогенное содержание H₂O₂ в тканях исследовали с FОх-реагентом. Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по концентрации малонового диальдегида. Карбонилирование белков оценивали по окрашиванию динитрофенилгидразином белковых экстрактов с последующей спектрофотометрией или иммуноблоттингом. Протеом изучали методами двумерной гелевой протеомики с последующим трипсинолизом и MALDI-TOF-MS. Окислительные повреждения, вызванные воздействием аноксии и последующей реэрации, сравнивали с искусственным окислительным стрессом, спровоцированным химическими агентами (метилвиологеном и менадионом - продуцентами супероксидного анион-радикала, перекисью водорода, а также смесью меди и аскорбиновой кислоты для генерации ОН• радикала).

Аккумуляция H₂O₂, ПОЛ и карбонилирование белков у неустойчивого объекта (пшеницы) стимулировались в большей степени, чем у устойчивого (риса) как под действием постаноксии, так и прооксидантов. Постаноксия приводила у менее устойчивого объекта к развитию больших повреждений, чем искусственный окислительный стресс, вызванный прооксидантами. Рис, наоборот, демонстрировал повышенную устойчивость как к постаноксическому, так и химическому окислительному воздействию. Исследование продукции АФК на клеточном уровне выявило большую реактивность протопластов риса по отношению к гипоксии, реэрации и перекиси водорода, тогда как в протопластах пшеницы более интенсивная аккумуляция АФК под действием метилвиологена и менадиона. Бóльшая аккумуляция АФК в протопластах и проростках риса при краткосрочных аноксии и реэрации может быть отражением их активного участия в трансдукции кислородного сигнала.

В протеоме побегов риса было выявлено 72 белка, из которых 31 был идентифицирован. В аноксическом протеоме побегов была характерна работа шаперонов, белков фотосинтеза и ферментов гликолиза. В постаноксию повышалась доля фотосинтетических белков и АТФ-синтазы. В протеоме побегов пшеницы удалось идентифицировать только 4 пятна, которые были представлены большой и малой субъединицами Рубиско. В протеоме корней риса было обнаружено 78 белков, из которых 38 были охарактеризованы. В условиях аноксии и постаноксии в протеоме корня риса преобладали белки, отвечающие за устойчивость к патогенам и абиотическим факторам,

ферменты гликолиза и антиоксидантных систем. Применение метода главных компонент показало, что аноксический и постаноксический протеом и в побегах, и в корнях риса группируются вместе, отдельно от нормоксии. Это позволяет заключить, что реэрация не является самостоятельным стрессором, но её можно считать продолжением воздействия (последствием) аноксии. Таким образом, растение, устойчивое к дефициту кислорода, обладает большей устойчивостью и к постаноксическому, и к искусственному окислительному стрессу, вызванному обработкой прооксидантами. Постаноксический окислительный стресс по силе воздействия на растения, в особенности неустойчивые, превосходит искусственный окислительный стресс.

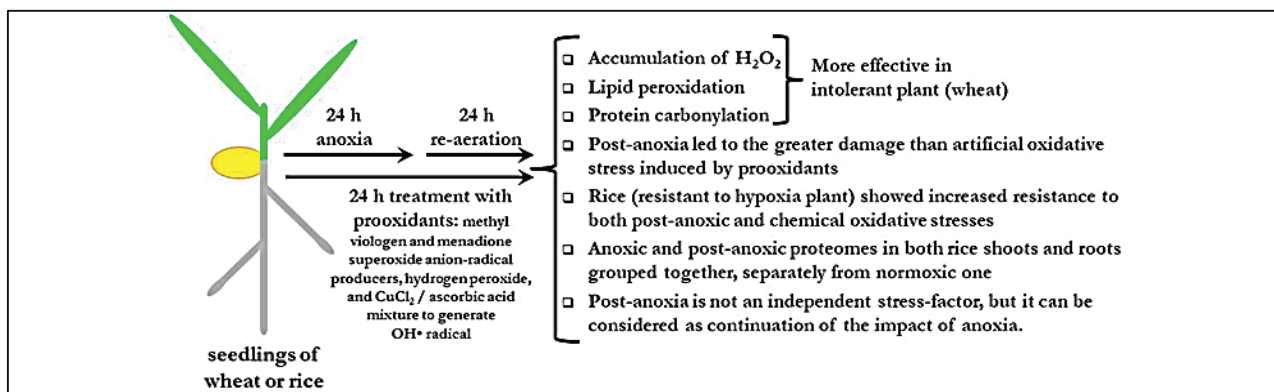
OXIDATIVE STRESS IN PLANTS UNDER OXYGEN LACK AND SUBSEQUENT RE-AERATION

Yemelyanov V.V.

St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Keywords: anoxia, reactive oxygen species, carbonylation, lipid peroxidation, re-aeration, proteome.

In the natural environment, the restoration of a normal oxygen level after oxygen deprivation leads to the fact that the plants face intensive post-anoxic oxidative stress. We studied oxidative damage in seedlings of wheat (non-resistant to hypoxia plant) and rice (resistant one). Oxidative stress was created by plant treatment with anoxia and subsequent re-aeration along with incubation with oxidant agents. The accumulation of H_2O_2 , lipid peroxidation and protein carbonylation in the intolerant object (wheat) were stimulated to a greater extent both under the action of post-anoxia and prooxidants. Post-anoxia led to the greater damage in wheat than artificial oxidative stress induced by prooxidants. Rice showed increased resistance to both post-anoxic and chemical oxidative stresses. The proteome of rice shoots includes 72 proteins, of which 31 were identified. It was found that shoot anoxic proteome were characterized by the presence of chaperones and proteins involved in photosynthesis and glycolysis. In the post-anoxic proteome of shoots, the proportion of photosynthetic proteins and ATP synthases increased. In the proteome of rice roots, 78 proteins were found, of which 38 were identified. PR-proteins, enzymes of glycolysis and antioxidant systems prevailed in the root proteome of rice under conditions of anoxia and post-anoxia. Application of principal component analysis (PCA) for the evaluation of changes in proteomes showed that anoxic and post-anoxic proteomes in both rice shoots and roots were grouped together, separately from normoxia. This proves that post-anoxia is not an independent stress-factor, but it can be considered a continuation of the impact of anoxia.



УДК 581.1+576.311.5 +577.23

**ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА
В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТОЧНОГО УВЛАЖНЕНИЯ И ОБРАБОТКИ
ТЕТРАНИТРОЗИЛЬНЫМ КОМПЛЕКСОМ ЖЕЛЕЗА
С ТИОСУЛЬФАТНЫМИ ЛИГАНДАМИ**

Жигачева И.В.^{1*}, Крикунова Н.И.¹, Генерозова И.П.²

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

²ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

*E-mail: zhigacheva@mail.ru

Ключевые слова: *Pisum sativum*, дефицит воды, доноры оксида азота, жирные кислоты, митохондрии, перекисное окисление липидов.

Оксид азота представляет собой сигнальную молекулу, участвующую в самых разнообразных физиологических процессах в растениях, включая прорастание, развитие, цветение и старение. Различными исследованиями показано наличие положительной корреляции между увеличением содержания NO в органах и тканях растений при различных стрессовых воздействиях и адаптацией растений к изменяющимся условиям внешней среды [1], что свидетельствует о возможности использования экзогенных доноров оксида азота в качестве препаратов, повышающих устойчивость растений к действию стрессовых факторов. Особый интерес вызывает изучение влияния доноров оксида азота на устойчивость растений к дефициту воды, негативно влияющему на рост и развитие растений, тем самым ограничивающего продуктивность сельскохозяйственных культур.

В нашей работе в качестве донора оксида азота мы использовали нитрозильный комплекс железа с тиосульфатом (кристаллический ТНКЖ-тио) [2]. Препарат относительно стабилен при хранении на свету в отсутствие влаги, при растворении в воде происходит генерация NO.

Целью исследования было изучение влияния дефицита воды и ТНКЖ-тио на функциональное состояние митохондрий 5-дневных этиолированных проростков гороха.

Работу проводили на митохондриях 5 дневных этиолированных проростков гороха (*Pisum sativum* L), сорт Флора 2, подвергнутых 2-х дневному дефициту воды (ДВ) и обработанных 10^{-6} М ТНКЖ-тио.

В условиях дефицита воды в мембранах митохондрий проростков наблюдалась активация перекисного окисления липидов (ПОЛ). При этом интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ возрастала в 2 раза. Замачивание семян в 10^{-6} М растворе ТНКЖ-тио предотвращало активацию ПОЛ: интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ снижалась почти до контрольного уровня.

Изменение физико-химических характеристик мембран митохондрий, сопровождалось изменением в содержании жирных кислот (ЖК), содержащих 18 атомов углерода. Так содержание линоленовой кислоты в мембранах митохондрий проростков, снизилось на 15%, а линоленовой – на 14%. При этом ΣC_{18} ненасыщенных ЖК/ $C_{18:0}$ уменьшились с $16,1 \pm 0,12$ до $10,04 \pm 0,23$, что отразилось на биоэнергетических характеристиках митохондрий: в 1,5 раза снижались скорости транспорта электронов на цитохромоксидазном участке дыхательной цепи митохондрий. Введение в среду инкубации митохондрий 5×10^{-6} М цитохрома C приводило к восстановлению этих скоростей до контрольных значений. Можно предположить, что в условиях дефицита воды происходило частичное высвобождение цитохрома C с внешней поверхности внутренней мембраны митохондрий в цитозоль. ТНКЖ-тио, предотвращая окисление ненасыщенных ЖК C_{18} , в основном линолевой и линоленовой кислот, восстанавливал скорости транспорта электронов на цитохромоксидазном участке дыхательной цепи митохондрий. Однако эти показатели были несколько ниже, чем

в контрольной группе. Вероятно, это связано с конкурентными отношениями между NO и O₂ за сайты связывания цитохромоксидазы [3].

Сохраняя функциональное состояние митохондрий, ТНКЖ-тио предупреждал торможение роста проростков в условиях дефицита воды. Предполагается, что адаптогенный эффект препарата, вероятно, определяется его антиоксидантными свойствами.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1201253310).

Список литературы

1. Nabi R.B.S., Tayade R., Hussain A., *et al.* // Environ. Exp. Bot. 2019. 161, 120.
2. Санина Н.А., Алдошин С.М. // Изв. РАН. Сер., хим. 2011. 7, 1199.
3. Srinivasan S., Avadhani N.G. // Free Radic Biol Med. 2012. 53(6), 1252.

FUNCTIONAL STATE OF PEA SEEDLINGS MITOCHONDRIA UNDER CONDITIONS OF INSUFFICIENT WATERING AND TREATMENT WITH TETRANITROSIL COMPLEX OF IRON WITH THIOSULPHATE LIGANDS

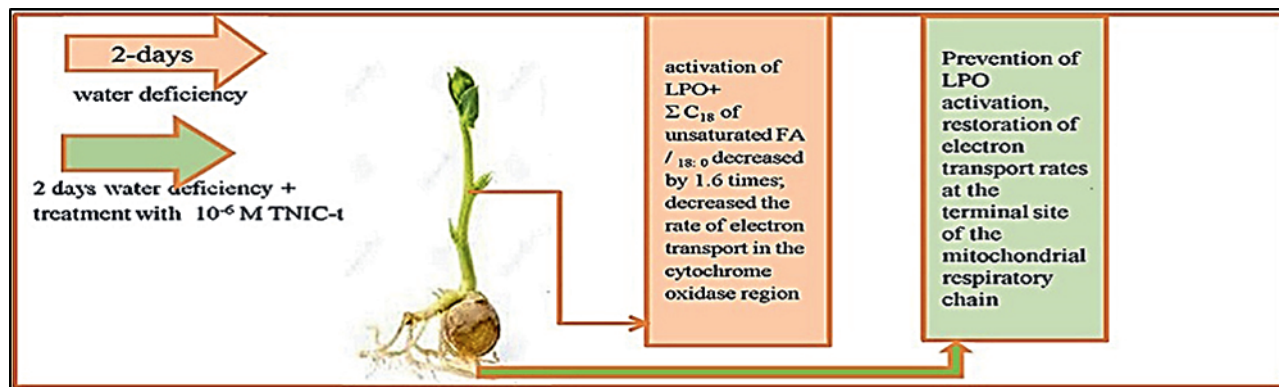
Zhigacheva I.V.¹, Krikunova N.I.¹, Generozova I.P.²

¹N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Keywords: *Pisum sativum*, fatty acids, lipid peroxidation, mitochondria, nitric oxide donors, water deficiency.

The effects of 2-day water deficiency and NO donor (TNIC-thio) on the functional state of mitochondria of 5-day etiolated pea seedlings were studied. Water deficiency led to the activation of lipid peroxidation (LPO) and, due to this activation, a decrease in the content of C₁₈ fatty acids in mitochondrial membranes. Wherein, the content of linolenic acid in the membranes of seedling mitochondria decreased by 15%, linolenic acid – by 14%, and the ΣC₁₈ unsaturated FA/C_{18:0} decreased 1.6 times, which was reflected in the bioenergetic characteristics of mitochondria: 1.5 times decreased the rate of electron transport in the cytochrome oxidase region of the mitochondrial respiratory chain. The introduction of 5×10⁻⁶ M cytochrome C into the incubation medium of mitochondria restored these rates to control rates. Treatment of pea seeds with 10⁻⁶ M TNIC-thio prevented the activation of LPO and the oxidation of linoleic and linolenic acids in the mitochondrial membranes. At the same time, the electron transport rates in the cytochrome oxidase region of the mitochondrial respiratory chain were restored. Preserving the functional state of mitochondria, TNIC-thio prevented the inhibition of seedling growth under conditions of water deficiency. It is assumed that the adaptogenic effect of the drug is probably determined by its antioxidant properties.



УДК 574.24

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЗАЦИИ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ *PSEUDOMONAS EXTREMORIENTALIS* PHS1 НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗ В МОДЕЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР

Зюбанова Т.И.^{1*}, Минаева О.М.^{1,2}, Акимова Е.Е.^{1,2}, Терещенко Н.Н.^{1,2}

¹Томский государственный университет, Томск, Россия

²СибНИИСХиТ – филиал СФНЦА РАН, Томск, Россия

*E-mail: zubanovat.i@gmail.com

Ключевые слова: *Pseudomonas extremorientalis*, *Triticum aestivum*, абиотический стресс, бактеризация, пероксидаза.

К наиболее стрессовым для растений физическим факторам можно отнести низкие температуры и высокую влажность почвы в ранние сроки вегетации [1]. Абиотические стрессы, вызывающие ряд морфологических, физиологических и молекулярных изменений в растениях, влияют на их рост и продуктивность и способны приводить к их гибели [2]. Когда растения подвергаются действию стрессов, а защитные системы не справляются со своими функциями, может нарушаться баланс между образованием и тушением активных форм кислорода (АФК), в результате происходит окислительное повреждение клеток. Под воздействием стресса активируются ферментативные и неферментативные системы защиты от АФК [3]. Пероксидаза (ПО) – один из основных ферментов детоксикации H_2O_2 в растениях, метаболизирующий ее до H_2O [2]. В функции ПО входит защита растительного организма от вредного воздействия АФК, образующихся при фотосинтезе и дыхании [3]. В связи с этим, цель работы – изучение влияния бактеризации семян пшеницы на активность свободных и слабосвязанных гваякол-зависимых пероксидаз в тканях растений в условиях низких температур и повышенной влажности.

Объекты исследования: 12-ти дневные растения пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Ирень) и жидкая 24-часовая культура бактерий (*Pseudomonas extremorientalis* PhS1). Растения культивировали в климатоканнере (Growth Chamber GLK-300, Корея). Интенсивность освещения – 200 мкмоль квантов/(м² сек) ФАР с 16-часовым фотопериодом при 18–20 °С (день) и 14–16 °С (ночь) и влажности 75% на протяжении 12 суток в оптимальных условиях и температурой 14–16 °С и 6–8 °С и влажности 90% в гумидных условиях эксперимента после 6 дней культивирования в оптимальных условиях. Активность пероксидаз в листьях и корнях растений определяли спектрофотометрическим методом ($\lambda = 470$ нм), рассчитывали по Chance and Maehly [4]. Распространенность корневых гнилей учитывали в соответствии с рекомендациями [5]. Оценка статистической значимости различий проведена с учетом критерия Стьюдента для 95% уровня значимости.

Экспериментально установлено, что пониженные температуры вызывали у проростков пшеницы стресс, проявившийся в снижении их длины и увеличении активности пероксидаз в корнях и листьях, что может указывать на один из механизмов тушения АФК. Так, в ответ на воздействие пониженных температур и повышенной влажности отмечено статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение активности ферментов в листьях пшеницы на 14–88% и в корнях в 2,7–4,9 раза. Бактеризация семян в оптимальных условиях способствовала росту пероксидазной активности в листьях на 3–91%, в корнях на 14–121%, в гумидных условиях на 8–73% и 39–97%, соответственно. Распространенность корневых гнилей пшеницы, связанных с наличием возбудителей на поверхности семян, без бактеризации увеличивалась в гумидных условиях до 3,9 раз по сравнению с растениями, выращенными в оптимальных условиях. При обработке семян бактериями *P. extremorientalis* распространенность болезней снизилась на 40% и 13% относительно контроля в оптимальных условиях и стрессовых соответственно.

Таким образом, бактеризация способствовала увеличению пероксидазного отклика в тканях листьев и корнях растений пшеницы как в оптимальных условиях, так и при пониженных температурах и высокой влажности. При этом, увеличение пероксидазной активности наиболее отчетливо прослеживалось в корнях растений. Активация данных ферментных систем под действием бактерий превышала показатели увеличения активности, связанной с холодовым стрессом и способствовала значительному увеличению резистентности проростков к возбудителям корневых гнилей пшеницы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90065.

Список литературы

1. Minaeva O.M., Akimova E.E., Tereshchenko N.N., Zyubanova T.I. // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2019. 45, 128–141.
2. Джавадиан Н., Каримзаде Г., Мафузи С., Ганати Ф. // Физиол. раст. 2010. 57(4), 540–547.
3. Baxter A., Mittler R., Suzuki N. // J. Exp. Bot. 2013. 65(5), 1229–1240.
4. Chance B., Maehly A.C. Assays of catalases and peroxidases. In *Methods in Enzymology*, ed. by S.P. Colowick, N.O. Kaplan. New York: Academic Press, 1955, II, 764–775.
5. Чулкина В.А., Коняева Н.М., Кузнецова Т.Т. Борьба с болезнями сельскохозяйственных культур в Сибири. М.: Россельхозиздат, 1987. 253 с.

EFFECT OF WHEAT SEED BACTERIZATION WITH *PSEUDOMONAS EXTREMORIENTALIS* PHS1 ON PEROXIDASE ACTIVITY UNDER SIMULATED REDUCED TEMPERATURES

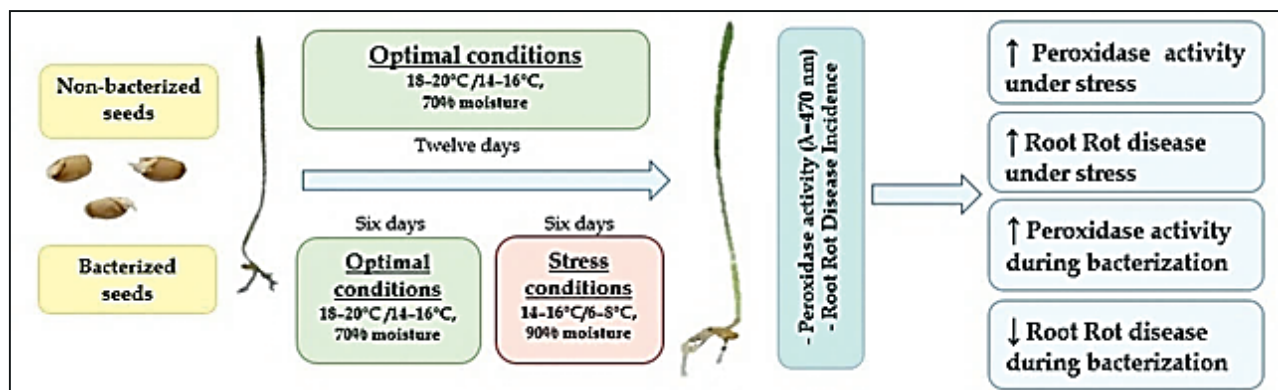
Zyubanova T.I.^{1*}, Minaeva O.M.^{1,2}, Akimova E.E.^{1,2}, Tereshchenko N.N.^{1,2}

¹Tomsk State University, Tomsk, Russia

²Siberian Research Institute of Agriculture and Peat, Branch of the Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Keywords: *Pseudomonas extremorientalis*, *Triticum aestivum*, abiotic stress, bacterization, peroxidase.

We studied the effect of bacterization of wheat seeds on the activity of free and weakly bound guaiacol-dependent peroxidases in the tissues of wheat plants under stress (low temperatures and high moisture). We found that stress factors caused a statistically significant ($p < 0.05$) increase in the activity of enzymes in leaves and roots of wheat seedlings. We established that seed bacterization under optimal conditions promoted the growth of peroxidase activity. There was an increase in root rot disease incidence of non-bacterized seedlings under stress compared to plants under optimal conditions. We noted that root rot disease incidence of bacterized plants decreased both under optimal and stress conditions compared to control. An increase in peroxidase activity during bacterization was more significant in wheat roots.



УДК 581.14

УРАЛ ИНДУСТРИАЛЬНЫЙ: КАК ВЫЖИВАЮТ РАСТЕНИЯ**Киселева И.С.**Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,
Екатеринбург, Россия**E-mail: irina.kiseleva@urfu.ru*

Ключевые слова: генетическая изменчивость, Уральский регион, редокс метаболизм, техногенное загрязнение, фенотипические характеристики.

Урал – регион богатый полезными ископаемыми, разрабатываемыми и перерабатываемыми с 18 века. К настоящему времени Урал – крупнейший индустриальный регион России, территории которого испытывают огромную техногенную нагрузку. Особенности химического состава горных пород Урала и промышленные выбросы предприятий обусловили высокий уровень содержания в почвах и водных ресурсах тяжелых металлов (ТМ), фенолов, нитритов, а также аэротехногенных поллютантов, прежде всего кислых газов и ТМ. В Уральском университете с начала 2000-х годов проводятся исследования особенностей растений индустриальных зон и механизмов их приспособления к техногенным факторам. Изучаются растения диких видов из природной среды (фоновые и импактные территории), а также их семенное потомство, выращенное в лабораторных контролируемых нормальных и стрессовых условиях, модельные для изучения физиологии растений виды (табак, ячмень, циния и другие). Изучено более 20 видов наземных и высших водных растений из природных популяций, обитающих в локалитетах с разным уровнем техногенной нагрузки. Проведено комплексное описание анатомо-морфологических, физиологических, биохимических особенностей растений из импактных зон в сравнении с фоновыми, в том числе, показатели накопления поллютантов в органах растений и устойчивости к стрессорам, такие как перекисное окисление липидов, активность ферментов антиоксидантной защиты, накопление низкомолекулярных антиоксидантов и др. Особое внимание уделено эффектам ТМ, в первую очередь, меди, никеля, кадмия на эти показатели. Для ряда видов проведено изучение генетического разнообразия локальных популяций из местообитаний, различающихся уровнем техногенной нагрузки. В лабораторном эксперименте изучаются процессы восстановления растений после снятия действия стрессоров на фенотипическом (рост, активность антиоксидантных ферментов, изоформы ферментов, содержание АФК в тканях) и генетическом уровнях (изменение экспрессии генов антиоксидантных ферментов и ферментов синтеза лигнина). Изучаются природные биологически активные вещества грибов и растений как фитопротекторы, снижающие у растений уровень стресса. Полученные данные дают возможность моделировать механизмы приспособлений растений к техногенным факторам и выявлять истинные адаптации или акклимации, а также формулировать рекомендации по использованию видов растений для целей фиторемедиации.

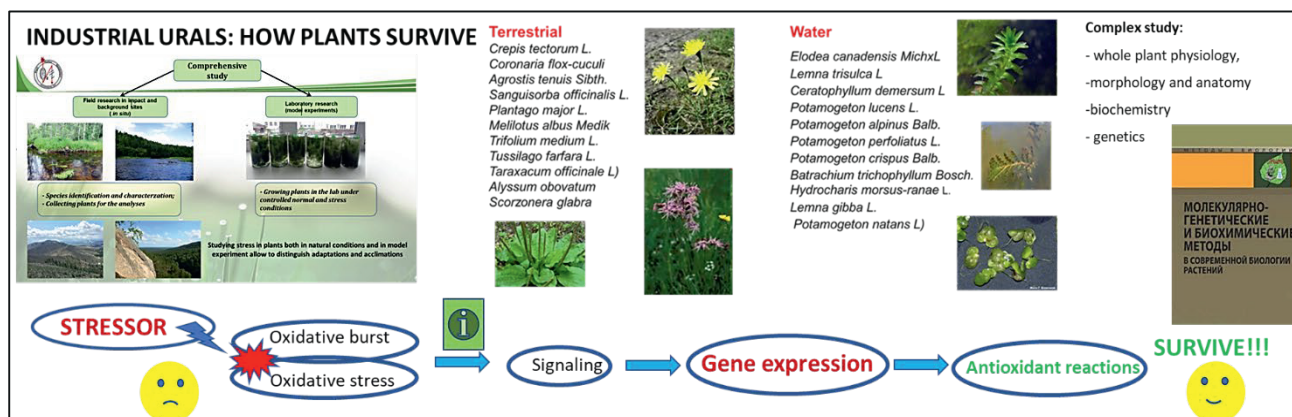
Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 02.А03.21.0006) и грантов РФФИ (№ 20-44-660011, № 19-516-45006).

INDUSTRIAL URALS: HOW PLANTS SURVIVE

Kiseleva I.S.

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin,
Yekaterinburg, Russia**Keywords:** genetic variability, Ural region, redox metabolism, technogenic pollution, phenotypic characteristics.

The Urals is the region rich in minerals that have been developed and processed since the 18th century. To date, the Urals is the largest industrial region in Russia, the territories of which are experiencing a huge technogenic load. The peculiarities of the chemical composition of rocks in the Urals and industrial emissions from enterprises determined a high level of heavy metals (HM), phenols, nitrites in soils and water resources, as well as aerotechnogenic pollutants, primarily acid gases and HMs. Since the beginning of the 2000s, the Ural University has been conducting research on the characteristics of plants in industrial zones and the mechanisms of their adaptation to technogenic factors. Plants of wild species from the natural environment (background and impact territories), as well as their seed progeny grown under laboratory controlled normal and stress conditions, model laboratory species (tobacco, barley, zinnia, and others) are studied. More than 20 species of terrestrial and higher aquatic plants from natural populations inhabiting localities with different levels of technogenic load have been studied. A comprehensive description of the anatomical, morphological, physiological, biochemical characteristics of plants from impact zones in comparison with background ones, including indicators of the accumulation of pollutants in plant organs and stress tolerance, such as lipid peroxidation, the activity of antioxidant enzymes, the accumulation of low molecular weight antioxidants and etc. Particular attention is paid to the effects of HM, first, copper, nickel, cadmium on these indicators. For several species, the genetic diversity of local populations from habitats differing in the level of technogenic load was studied. In a laboratory experiment, the processes of plant recovery after the removal of stressors are studied on the phenotypic (growth, activity of antioxidant enzymes, enzyme isoforms, ROS content in tissues) and genetic levels (changes in the expression of genes of antioxidant enzymes and lignin synthesis enzymes). The natural biologically active substances of fungi and plants are being studied as phytoprotectors that reduce the level of stress in plants. The data obtained make it possible to model the mechanisms of plant adaptations to technogenic factors and to identify true adaptations or acclimations, as well as to formulate recommendations on the use of plant species for phytoremediation purposes.



УДК 577.355

ГЕНЕРАЦИЯ СУПЕРОКСИДНОГО РАДИКАЛА В ХЛОРОПЛАСТАХ: ФОТОСИСТЕМА I, ПУЛ ПЛАСТОХИНОНА, ЦИТОХРОМНЫЙ КОМПЛЕКС?

Козулева М.А.

Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук (ИФПБ РАН),
Обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических
исследований Российской академии наук», Пушкино, Россия
E-mail: kozuleva@gmail.com

Ключевые слова: пул пластохинона, супероксидный анион-радикал, фотосинтетическая электрон-транспортная цепь, фотосистема I, цитохромный b6f комплекс.

Супероксидный анион-радикал ($O_2^{\bullet-}$) является одной из первичных активных форм кислорода (АФК), которые образуются при непосредственном взаимодействии молекулярного кислорода с компонентами фотосинтетического аппарата. Возможность генерации $O_2^{\bullet-}$ с высокими скоростями привела к развитию в хлоропластах растений мощной антиоксидантной системы. Механизм генерации $O_2^{\bullet-}$ в хлоропластах на свету известен – это одноэлектронное восстановление O_2 компонентами фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ФЭТЦ). Эту реакцию можно рассматривать и с другой стороны: O_2 выступает в качестве альтернативного акцептора электронов от компонентов ФЭТЦ, что уменьшает их перевосстановление в стрессовых условиях (например, при повышенной освещенности). К тому же, из $O_2^{\bullet-}$ образуется пероксид водорода, который является важным сигнальным агентом в растительной клетке, и его генерация в хлоропластах в стрессовых условиях важна для запуска акклимационных процессов.

С термодинамической точки зрения целый ряд компонентов ФЭТЦ может восстанавливать кислород до $O_2^{\bullet-}$. С применением динитрофенилового эфира йодонитротимола, ингибитора окисления пластохинола в цитохромном b6f комплексе, показано, что пул пластохинона может генерировать $O_2^{\bullet-}$ с низкими скоростями [1]. С другой стороны, вклад пула пластохинона в образование $O_2^{\bullet-}$ достигает максимума при достаточно низких интенсивностях света, поэтому его сложно рассматривать как существенный источник этой АФК в стрессовых условиях. Образование $O_2^{\bullet-}$ в цитохромном b6f комплексе также было показано в экспериментах с изолированными комплексами [2]; причем скорости этой реакции были существенно выше, чем скорости аналогичной реакции в цитохромном bc1 комплексе из митохондрий. Предполагаемый механизм восстановления O_2 в этом компоненте ФЭТЦ – реакция O_2 с пластосемихиноном, промежуточной формой окисления пластохинола, происходящем в хинол-окисляющем сайте цитохромного b6f комплекса. Однако экстраполяция данных, полученных с изолированными комплексами, на ситуацию в тилакоидах требует осторожности, поскольку выделенные комплексы не подвержены механизмам регуляции электронного транспорта, которые реализуются в тилакоидных мембранах; в частности, в них отсутствует «фотосинтетический контроль». Наши недавние результаты свидетельствуют, что условия срабатывания «фотосинтетического контроля» в тилакоидах ограничивают депротонирование пластосемихинона в хинол-окисляющем сайте, уменьшая вероятность его реакции с O_2 .

Ряд экспериментальных данных позволяет приписать акцепторной стороне фотосистемы I (ФС I) ключевую роль в генерации $O_2^{\bullet-}$. Долгое время ферредоксин рассматривали как основной восстановитель O_2 в хлоропласте. Этот вывод базировался на наблюдении о том, что экзогенная добавка ферредоксина к изолированным тилакоидам, лишенным стромальных компонентов хлоропластов, приводила к увеличению скорости образования $O_2^{\bullet-}$. Однако детальная оценка участия ферредоксина в восстановлении

кислорода показала, что его вклад незначителен в условиях параллельного восстановления НАДФ⁺ [3]; важно, при этом, что часть O₂^{•−} образовывалась внутри мембраны [4].

Кофакторы переноса электронов ФС I обладают достаточно низкими редокс-потенциалами, чтобы рассматривать их в качестве эффективных восстановителей кислорода с точки зрения термодинамики. Действительно, именно ФС I среди всех компонентов ФЭТЦ обеспечивает максимальные скорости восстановления кислорода. Однако вопрос о непосредственных кофакторах, донирующих электроны кислороду, оставался открытым до недавнего времени. В нашей работе было показано, что вклад терминальных кофакторов ФС I в образование O₂^{•−} достигает насыщения при низких интенсивностях света, а увеличение образования O₂^{•−} с ростом освещенности обеспечивается увеличением вклада восстановления O₂ от промежуточных кофакторов ФС I, филлохинонов, причем преимущественно за счет филлохинона в А-ветви ФС I [5]. Именно эта реакция вносит основной вклад в генерацию O₂^{•−} в хлоропластах в условиях повышенной освещенности.

Работа выполнена при частичной поддержке РНФ #17-14-01371n.

Список литературы

1. Khorobrykh S., Ivanov B. // Photosyn. Res. 2002. 71, 209–219.
2. Baniulis D., Hasan S.S., Stofleth J.T., *et al.* // Biochem. 2013. 52, 8975–8983.
3. Kozuleva M., Ivanov B. // Photosyn. Res. 2010. 105, 51–61.
4. Kozuleva M., Goss T., Twachtmann M., *et al.* // Plant Physiol. 2016. 172, 1480–1493.
5. Kozuleva M., Petrova A., Milrad Y., *et al.* // Plant Physiol. 2021, published online.

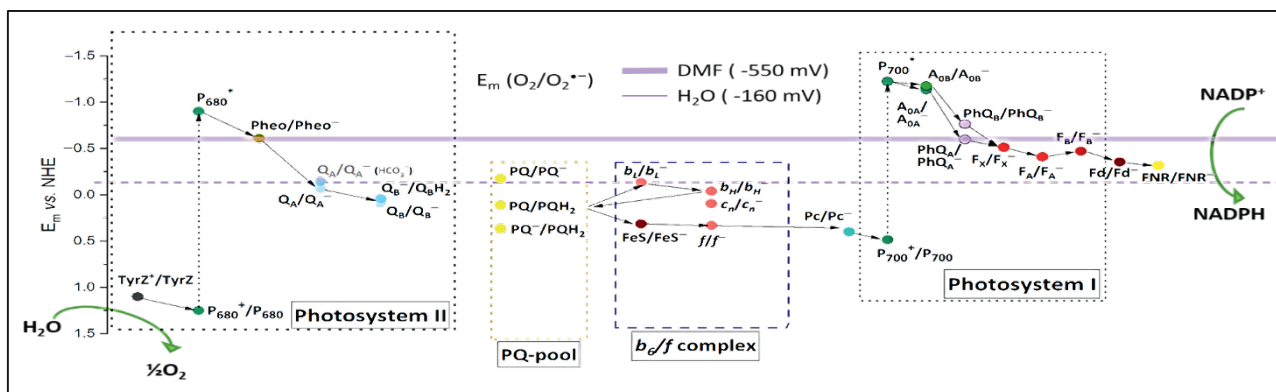
GENERATING SUPEROXIDE RADICAL IN CHLOROPLASTS: PHOTOSYSTEM I, PLASTOQUINONE POOL, CYTOCHROME COMPLEX?

Kozuleva M.A.

Institute of Basic Biological Problems of the Russian Academy of Sciences,
Federal Research Center, Pushchino Scientific Center for Biological Research
of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

Keywords: cytochrome b6f complex, photosystem I, photosynthetic electron transfer chain, plastoquinone pool, superoxide anion radical.

Superoxide radical anion (O₂^{•−}) is one of the ROS that are formed by the direct interaction of O₂ with the photosynthetic apparatus. The mechanism of O₂^{•−} generation in chloroplasts in the light is known to be the one-electron reduction of O₂ by components of the photosynthetic electron-transfer chain (PETC). Here, possible components of the PETC contributing to O₂^{•−} generation are discussed.



УДК 633.521

**МЕЖСОРТОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ПО СОДЕРЖАНИЮ ХЛОРОФИЛЛА
В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ *LINUM USITATISSIMUM* L.
ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕСС-ФАКТОРА**

Королёв К.П.

ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет», Тюмень, Россия

*E-mail: corolev.konstantin2016@yandex.ru

Ключевые слова: Spad-502 Plus, лен-долгунец, лен масличный, стресс.

Использование современных физиолого-биохимических экспресс-методов диагностики устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды является одним из приемов по оптимизации селекционного процесса, сокращению потерь урожая и получению устойчивых генотипов растений [1, 2]. Засухоустойчивость является сложным полигенным признаком, который определяется адаптивными, генетически обусловленными свойствами растения [3]. При этом, следует отметить, что скорость потери воды зависит от анатомического строения, интенсивности метаболических процессов [4, 5]. В Тюменской области в последние годы наблюдается нестабильность выпадения осадков в период вегетации растений льна, что негативно сказывается на уровень реализации биологического потенциала растений льна. Цель исследования – установить влияние засухи на содержание хлорофилла в листьях растений у сортов льна – долгунца и льна масличного.

Исследования выполнены в 2018–2019 гг. в лаборатории микробиологических и биотехнологических исследований Института биологии Тюменского государственного университета. Объект исследования: сорт льна-долгунца (Томич, Маяк, Alizee) и льна масличного (Легур, Северный, Бирюза) Растения льна выращивали на вегетационных стеллажах в сосудах. Объем почвы в каждом – 280 г., освещенность – 5000лк, температура – 25 °С, фотопериод – 16/8 ч. (день/ночь). Уровень влажности почвы (60%) в сосуде поддерживали путем полива дистиллированной водой. Почвенную засуху создавали на 14 сутки опыта (ф. «елочки») прекращением полива и увядания растений. Затем, через пять суток, сосуды увлажняли и растения выращивали в обычных условиях до начала стадии быстрого роста (21 сут). Повторность опытов – четырехкратная. Содержание хлорофилла в листьях растений льна определяли счетчиком хлорофилла Spad-502 Plus (Minolta Camera Co Ltd., Japan). Статистическую обработку экспериментальных данных выполняли по Лакину Г.Ф. [6]. Достоверность различий определяли на основании t-критерия Стьюдента.

Установлены достоверные различия ($p > 0,01$) между сортами по содержанию хлорофилла в листьях. В период появления полных всходов (4–8 сут.) содержание хлорофилла в семядольных листьях масличного льна было в 1,5–2,5 раза долгунцового, при этом, максимум выявлен у сортов Бирюза, Северный. Моделируемый стресс-фактор вызывал снижение содержания хлорофилла в листьях льна от 2,0–6,8 ед. spad (Маяк, Томич) до 10–15 ед. spad (Бирюза, Легур). Эффект полива не приводил к значительным достоверным различиям между сортами на 21 сутки опыта, уровень накопления фотосинтетических пигментов был ниже контроля, что может быть связано с относительной сортовой зависимостью от уровня стресс – фактора на начальном этапе формирования растений льна.

Таким образом, на основании выполненных исследований нами установлено, что изучаемые сорта льна активно реагируют на моделируемый стресс-фактор. Выявлено, что большим содержанием хлорофилла и устойчивостью к засухе характеризовались сорта льна масличного.

Список литературы

1. Neeru K., Kalpna B., Kadambot H.M.S., Harsh N. // Cogent Food Agric. 2016. 2(1), 271–313.
2. Wise R.R., Olson A.J., Schrader S.M., Sharkey T.D. // Plant Cell Environ. 2004. 27(6), 717–724.
3. Fischer R.A. // Crop and Pasture Sci. 2011. 62(2), 95–114.
4. Alves A.C., Setter T.L. // Ann. Bot. 2004. 94, 605–613.
5. Бабенко Л.М., Рожков Р.В., Парш Я.Ф., и др. // Вісник Харків. націон. агр. ун-ту. 2017. 2(41), 92–102.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 295 с.

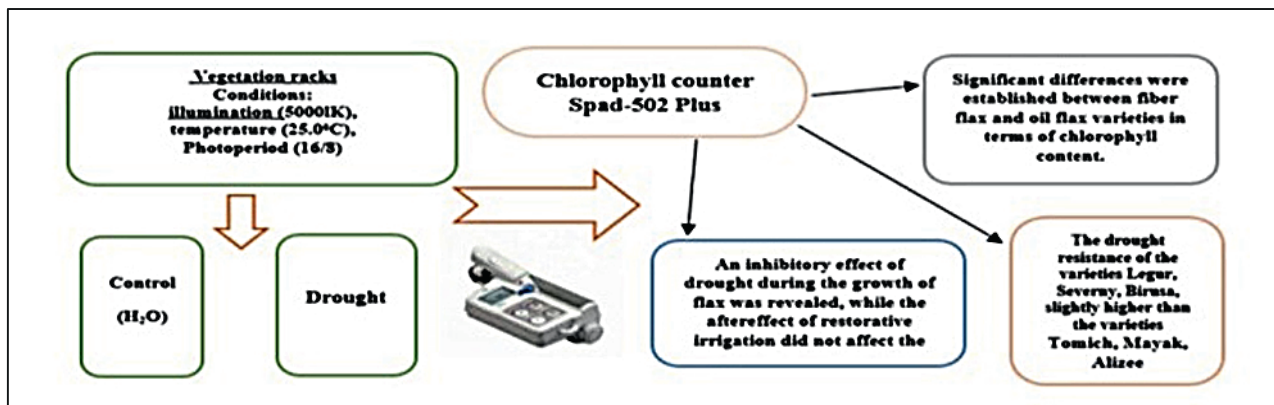
INTERVARIOUS DIFFERENCES IN THE CONTENT OF CHLOROPHYLL IN LEAVES OF *LINUM USITATISSIMUM* L. PLANTS UNDER THE ACTION OF THE STRESS FACTOR

Korolev K.P.

Tyumen State University, Tyumen, Russia

Keywords: Spad-502 Plus, fiber flax, oil flax, stress.

Drought is one of the negative factors affecting the morpho-physiological parameters of plants. In laboratory conditions, the reactions of four cultivars to the effect of drought at the early stage of ontogenesis were studied. The cultivars were diagnosed by the chlorophyll content in flax leaves using a Spad-502 Plus optical chlorophyll counter. The reliability of differences between varieties in the degree of manifestation of the indicator “chlorophyll content” has been established. The variability of the accumulation of photosynthetic pigment in the leaves during the counting period was revealed in flax varieties – fiber and oil flax.



УДК 635.655:632.4

СПОСОБНОСТЬ ПРОАНТОЦИАНИДИНОВ ПОВЫШАТЬ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ СОИ К БИОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

Кузнецова В.А.^{1*}, Блинова А.А.², Иваченко Л.Е.²

¹ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова»,
Дальневосточная опытная станция, отдел генетических ресурсов зерновых культур и сои,
Санкт-Петербург, Россия

²ФГБНУ ФНИЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Благовещенск, Россия
*E-mail: kuzvika3385@yandex.ru

Ключевые слова: *Glycine max*, антиоксиданты, проантоцианидины, церкоспороз.

Соя в период онтогенеза подвергается действию биотических и абиотических стрессоров. К биотическим факторам, значительно снижающим урожайность, относятся различные болезни. Распространенным заболеванием сои, вызываемым возбудителем *Cercospora sojina* Nara, считается одним из самых разрушительных, поражающих растения сои, особенно во время их репродуктивной стадии роста. Процесс повышения устойчивости к этому заболеванию происходит с участием антиоксидантной системы (АОС), включающей низкомолекулярные вещества и высокомолекулярные ферменты [1]. При недостаточной силе АОС актуально вносить антиоксиданты извне. Функция таких антиоксидантов, в том числе проантоцианидинов заключается, прежде всего, в разнообразной, универсальной и эффективной защите растений в стрессовых ситуациях [2]. При этом происходит чаще всего стимулирование синтеза проантоцианидинов, связанное с повышением устойчивости к охлаждению и замораживанию, к загрязнению тяжелыми металлами, к засухе и другим факторам [2]. Проведенное исследование направлено на выявление роли проантоцианидинов в повышении устойчивости растений сои к церкоспорозу с использованием множественных форм пероксидаз в качестве молекулярных маркеров адаптации. Определено содержание малонового диальдегида (МДА) как показателя стресса сои, биометрические показатели проростков сои и активность пероксидаз при воздействии *Cercospora sojina* Nara и после внесения проантоцианидинов.

Объектом для оценки влияния на семена грибковой инфекции *Cercospora sojina* Nara была использована соя (*Glycine max* (L.) Merr). Растения сои проращивали во влажных рулонах по ГОСТ 12044-93 в течение 10 дней. Активность пероксидазы определяли колориметрическим методом А.Н. Бояркина в модификации А.Т. Мокроносова, который основан на определении скорости реакции окисления бензидина до образования бензидинового синего в присутствии пероксида водорода и пероксидазы. [3,4]. При этом выявление зон с ферментативной активностью (форм ферментов) проводили соответствующими гистохимическими методами [3]. Содержание малонового диальдегида определяли фотокolorиметрическим методом [4].

При влиянии *Cercospora sojina* Nara выявлено увеличение содержание МДА в проростках сои, что характеризует возникновение окислительного стресса. Уменьшилась высота и масса проростков, произошло снижение удельной активности и изменение множественных форм пероксидаз. После добавления к пораженным патогеном растениям проантоцианидинов снизилось содержание МДА в растениях, улучшились биометрические показатели, повысилась удельная активность пероксидаз и появились новые множественные формы энзима, способствующие повышению устойчивости сои к изученному заболеванию.

Таким образом, внесение проантоцианидинов в среду для проращивания семян сои, пораженных церкоспорозом, повышают устойчивость к влиянию патогена, снижая содержание МДА и стимулируя биохимические и морфологические процессы.

Список литературы

1. Nascimento K., Debona D., Rezende D., *et al.* // J. Phytopathol. 2018. 166(11–12), 747–760.
2. Левданский В.А., Королькова И.В., Левданский А.В., Кузнецов Б.Н. // Химия растительного сырья. 2020. 4, 227–233.
3. Коничев А.С., Цветков И.Л., *и др.* Молекулярная биология. Практикум: учебное пособие для вузов, под ред. А.С. Коничева. 2-е изд. М.: Юрайт, 2020. 169 с.
4. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. 2016. Практикум по биохимии сельскохозяйств. продукции: учеб. пособие для вузов. СПб.: ГИОРД, 2016. 480 с.

ABILITY OF PROANTOCYANIDINES TO INCREASE THE RESISTANCE OF SOYBEAN PLANTS TO BIOTIC STRESS

Kuznetsova V.A.¹, Blinova A.A.², Ivachenko L.E.²

¹FRC All-Russian Institute of Plant Genetic Resources. N.I. Vavilova, Far Eastern Experimental Station, Department of Genetic Resources of Grain Crops and Soybeans, St. Petersburg, Russia

²FSBSI Federal Research Center “All-Russian Research Institute of Soybeans”, Blagoveshchensk, Russia

Keywords: *Glycine max*, antioxidants, proanthocyanidins, cercospora.

Soybeans are exposed to biotic and abiotic stressors during ontogenesis. Biotic factors that significantly reduce yields include various diseases. The common soy disease caused by the pathogen *Cercospora sojina* Hara is considered one of the most damaging soybean plants, especially during their reproductive growth stage. The process of increasing resistance to this disease occurs with the participation of the antioxidant system (AOS), which includes low molecular weight substances and high molecular weight enzymes. With insufficient AOS, it is important to introduce antioxidants from the outside. It was found that the introduction of proanthocyanidins into the medium for the germination of seeds of soybeans affected by cercosporosis increases the resistance to the influence of the pathogen, reducing the content of malondialdehyde and stimulating biochemical and morphological processes.



УДК 582.29

УФ-ИНДУЦИРОВАННЫЙ СИНТЕЗ МЕЛАНИНА В ЛИШАЙНИКЕ *LOBARIA PULMONARIA*: ИДЕНТИФИКАЦИЯ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ И ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ

Лексин И.Ю.^{1,2*}, Шелякин М.А.³, Минибаева Ф.В.^{1,2}

¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

*E-mail: lecsinilya@mail.ru

Ключевые слова: *Lobaria pulmonaria*, меланины, транскриптомный анализ, УФ облучение.

Лишайники являются экстремофильными организмами и способны выживать под давлением различных абиотических факторов. Важное место среди механизмов высокой стрессовой устойчивости лишайников занимают вторичные метаболиты. К таким метаболитам относится темный пигмент меланин, обеспечивающий комплексную защиту от таких стрессовых воздействий, как УФ-облучение, радиация и АФК. Меланины аскомицетов, в том числе лишенизированных, относят к двум основным группам – алломеланинам с низким содержанием азота (например, DHN-меланин) и эумеланинам с высоким содержанием азота [1]. Синтез меланинов в лишайниках изучен лишь фрагментарно, а информация о генах, контролирующих этот процесс в этих симбиотических организмах, отсутствует. В связи с этим, целью настоящего исследования было изучение экспрессии генов УФ-индуцированного биосинтеза меланинов в лишайнике *Lobaria pulmonaria* с использованием геномных данных в базе JGI (<https://jgi.doe.gov/>).

Для индукции синтеза меланина часть талломов подвергали ежедневному облучению УФ-В радиацией в течение 14 дней, время экспозиции 80 мин. В качестве контроля использовались немеланизированные талломы. Анализ экспрессии генов проводили с помощью транскриптомного анализа и метода ПЦР в реальном времени. Анализ экспрессии проводился с помощью программной среды Rstudio (пакет edgeR).

С помощью данных РНК-секвенирования было показано, что в талломах, подвергнутых УФ-индуцированной меланизации, происходит повышение уровня экспрессии генов, вовлечённых в синтез эумеланина (тирозиназа, мультимедная оксидаза) и DHN-меланина (поликетидсинтазы, сциталондегидратазы и THN-редуктазы) [2]. Представляет интерес значительное увеличение активности генов поликетидсинтаз, предположительно связанных с синтезом аспульвинона или его структурного аналога, который, согласно данным литературы, является мономером меланина в грибе *Aspergillus terreus* [3].

Биоинформатический анализ генома *L. pulmonaria* с использованием программы AntiSMASH выявил, что гены синтеза DHN-меланина организованы в кластер и коэкспрессируются. Данные транскриптомного анализа были верифицированы с помощью метода ПЦР в реальном времени. Полученные нами данные свидетельствуют о сложной генной регуляции процесса меланизации лишайника *L. pulmonaria* и возможном синтезе как эу-, так и DHN-меланинов. Можно полагать, что синтез конститутивного и УФ-индуцируемого меланина может обеспечивать защиту *L. pulmonaria* не только от светового стресса, но и других абиотических стрессов.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-14-00198.

Список литературы

1. Mafole T.C., Solhaug K.A., Minibayeva F.V., *et al.* // Fungal Biol. Rev. 2019. 33(3–4), 159–165.
2. Li X.Q., Guo B.L., Cai W.Y., *et al.* // Stud. Mycol. 2016. 83, 1–18.
3. Geib E., Gressler M., Viediernikova I., *et al.* // Cell Chem. Biol. 2016. 23(5), 587–597.

UV-INDUCED MELANIN SYNTHESIS IN LICHEN *LOBARIA PULMONARIA*: IDENTIFICATION OF KEY GENES AND TRANSCRIPTOME ANALYSIS

Leksin I.Y.^{1,2}, Shelyakin M.A.³, Minibayeva F.V.^{1,2}

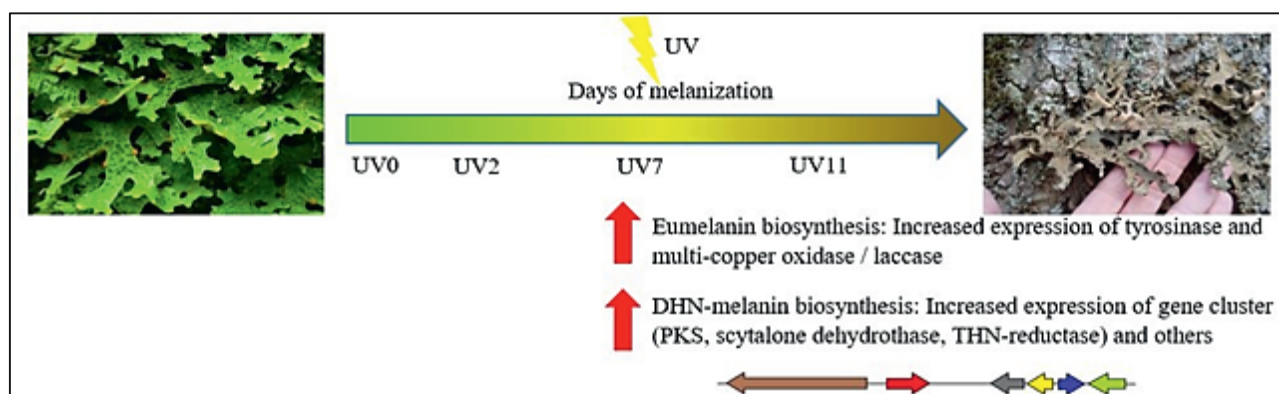
¹Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, Kazan, Russia

²Kazan Federal University, Kazan, Russia

³Institute of Biology, FRC Komi SC UB RAS, Syktyvkar, Russia

Keywords: *Lobaria pulmonaria*, melanins, transcriptome analysis, UV radiation.

Lichens are symbiotic photosynthesizing organisms able to survive in harsh environments. Mechanisms of their high stress tolerance include regulation at the level of gene expression and biosynthesis of secondary metabolites. However, there are only few reports on the transcriptome changes in stressed lichens. In present work, we analyzed gene expression in the lichen *Lobaria pulmonaria* during melanin biosynthesis in response to UV-B exposure using the genomic data from JGI database (<https://jgi.doe.gov/>). The thalli of lichen were daily exposed to UV-B radiation for 14 d. Analysis of gene expression of mycobiont was performed by transcriptome analysis and qPCR. Among differentially expressed genes the genes involved in both eumelanin (tyrosinase, laccase) and DHN-melanin (polyketide synthase, tetrahydroxynaphthalene reductase, scytalone dehydratase) biosynthesis were detected. Bioinformatic analysis of the *L. pulmonaria* genome using the AntiSMASH program revealed that the genes for DHN-melanin synthesis are organized into a cluster and coexpressed. Data obtained by transcriptome analysis were verified using real-time PCR. In conclusion, our data suggest the existence of a complex gene regulation of UV-induced melanization of *L. pulmonaria* and the possibility of synthesis of both eu- and DHN-melanins. It can be assumed that the synthesis of constitutive and UV-induced melanins can protect lichens not only from light stress, but also from other abiotic stresses.



УДК 576.5

ВЫСОКИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ВЫЗЫВАЮТ ОБРАЗОВАНИЕ АФК И НАРУШЕНИЕ ДЫХАНИЯ В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *SACCHARUM OFFICINARUM*

Любушкина И.В.^{1,2*}, Федяева А.В.¹, Степанов А.В.¹, Грабельных О.И.^{1,2}

¹Сибирский институт физиологии и биохимии растений, Иркутск, Россия

²Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*E-mail: ostrov1873@yandex.ru

Ключевые слова: *Saccharum officinarum*, активные формы кислорода, высокотемпературный стресс, дыхание, суспензионная культура.

Температура является одним из наиболее важных факторов окружающей среды, влияющих на рост, развитие и продуктивность растений. В нормальных условиях активные формы кислорода (АФК) являются важными вторичными мессенджерами и участниками сигнальных путей растительных клеток, играющими важную роль в интеграции и регуляции клеточного метаболизма. Однако АФК – это не только молекулы сигнальной трансдукции, но и токсичные, высокоактивные соединения. В неблагоприятных условиях формирование механизмов акклиматизации растений к стрессовым факторам очень часто сопровождается изменениями энергетического статуса клеток и процесса дыхания, что может привести к интенсификации генерации АФК и повреждению внутриклеточных структур.

В работе использовалась суспензионная культура клеток *Saccharum officinarum* (сорт РОJ2878, линия, устойчивая к аноксии, полученная в ИФР РАН и любезно предоставленная к.б.н., с.н.с СИФИБР СО РАН Шмаковым В.Н). Культура клеток выращивалась на среде Мурасиге-Скуга с модификациями [1]. Микроскопический анализ проводился с использованием инвертированного флюоресцентного микроскопа (AxioObserver Z1, Carl Zeiss) с цифровой монохромной камерой (AxioCam MRm3). Долю живых и погибших клеток в культуре определяли методом двойного окрашивания с флюоресцентными зондами: флюоресцеин диацетатом (FDA, 50 мкМ) и пропидий иодидом (PI, 7 мкМ) [2]. Для определения содержания АФК в клетках использовали флюоресцентный зонд 2',7'-дихлорофлюоресцеин диацетат (H₂DCF-DA, 1 мкМ) согласно методу, описанному ранее [1]. Скорость поглощения кислорода клетками суспензионной культуры измеряли при 26 °С с использованием системы «Oxytherm» (Hansatech Instruments, Great Britain). Анализ данных проводили с применением теста на нормальность Шапиро-Уилкса. Парное множественное сравнение проводили с использованием метода Данна.

Установлено, что действие всех изученных повышенных температур (45, 50, 55 и 60 °С в течение 10 и 30 мин) приводило к увеличению уровня АФК в клетках *S. officinarum*, но гибели клеток после действия температуры 45 °С не происходило. Наиболее выраженное увеличение уровня АФК наблюдалось при действии температур 45 и 50 °С. В связи с этим, необходимо было выявить, какие изменения в функционировании митохондрий, сопряженные с увеличением уровня АФК, приводили к гибели клеток. Показано, что для клеток *S. officinarum* важно поддерживать интенсивность дыхания в течение первых суток после стрессового воздействия. Так, после обработки культуры температурой 45 °С скорость клеточного дыхания, хотя и снижалась, но не опускалась ниже 1000 нмоль О₂/мин/г сырой массы, а вклад цитохромного пути (ЦП) достигал 90%. Действие температуры 50 °С приводило к длительному процессу гибели клеток в культуре *S. officinarum*, которому предшествовало значительное снижение дыхательной активности клеток. При этом активность альтернативного пути (АП) дыхания почти не изменялась. Вполне вероятно, что такая стабильность АП была необходима для реализации программы гибели в культуре и контроля за уровнем АФК. Температуры 55 и 60 °С вызывали массовую гибель клеток

в культуре, однако резкое снижение активности дыхания в этих случаях наблюдалось сразу же после температурной обработки. Таким образом, можно заключить, что пока растительные клетки в условиях высокотемпературного стресса способны обеспечивать свои повышенные энергетические потребности и одновременно сдерживать образование АФК, им ничего не угрожает. Однако, как только этот баланс смещается в сторону избыточной продукции АФК, происходит нарушение процесса дыхания, что впоследствии приводит к недостаточной энергообеспеченности клеточного метаболизма и заканчивается гибелью клеток.

Работа выполнена в рамках государственного задания СИФИБР СО РАН (№ гос. регистрации 121031300009-4).

Список литературы

1. Lyubushkina I.V., Fedyaeva A.V., Pobezhimova T.P., *et al.* // J. Stress Physiol. Biochem. 2014. 10, 13–24.
2. Lyubushkina I.V., Grabelnych O.I., Pobezhimova T.P., *et al.* // Protoplasma. 2014. 251, 615–623.

HIGH TEMPERATURES INDUCE ROS GENERATION AND DAMAGE TO RESPIRATORY ACTIVITY IN *SACCHARUM OFFICINARUM* SUSPENSION CELLS

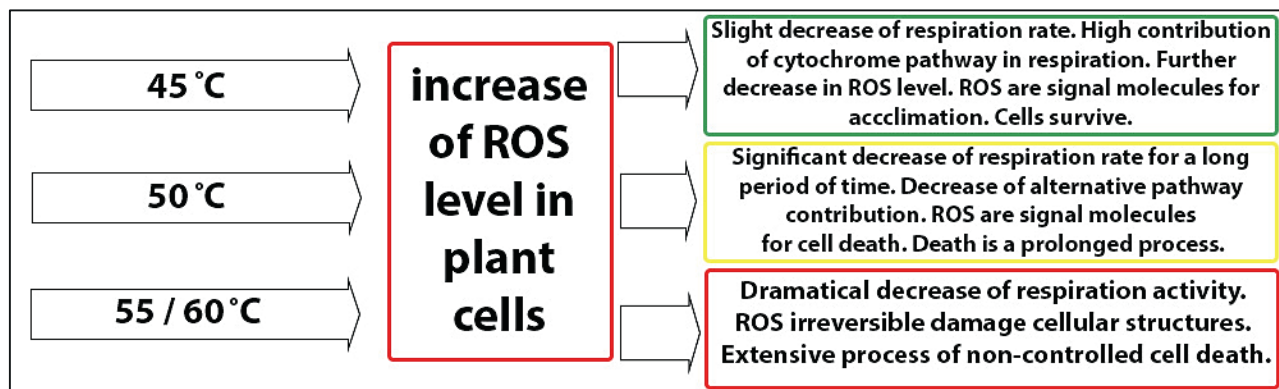
Lyubushkina I.V.^{1,2}, Fedyaeva A.V.¹, Stepanov A.V.¹, Grabelnych O.I.^{1,2}

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Irkutsk, Russia

²Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

Keywords: *Saccharum officinarum*, high temperature stress, reactive oxygen species, respiration, suspension culture.

High temperatures are important abiotic stressor factors affecting plant growth, development and productivity. One of the consequences of their effects on plants is an increase of reactive oxygen species (ROS) generation. At the same time, ROS role in the plant cell depends on many external and internal factors. The aim of this study was to identify the relationship between ROS content and mitochondrial function in the cells of a *Saccharum officinarum* suspension culture under different high temperatures. We found the most significant increase in ROS content in *S. officinarum* cells during high temperature treatments was at 45 and 50 °C. We stated the ROS level was largely determined by mitochondrial activity. It is shown that it is important for *S. officinarum* cells to maintain the respiration rate during the first day after stress exposure. The decrease in the respiratory activity of cells under high temperatures treatments was defined by the decrease of the cytochrome pathway contribution. It should be noted that the contraction in respiration rate at a temperature of 50 °C preceded the death of cells in the culture, and was not a consequence of it. Temperatures of 55 and 60 °C caused extensive cell death in the culture, but a great decrease in respiratory activity in these cases was observed immediately after temperature treatment.



УДК 581.198

СПЕРМИН-ИНДУЦИРОВАННАЯ АУТОФАГИЯ В КОРНЯХ *TRITICUM AESTIVUM***Мазина А.Б.^{1,2*}, Дмитриева С.А.², Пономарева А.А.²,
Рахматуллина Д.Ф.², Минибаева Ф.В.^{1,2}**¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия²Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

*E-mail: abmazina@gmail.com

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, аутофагия, полиамины, спермин.

Аутофагия – это высококонсервативный катаболический процесс внутриклеточной деградации поврежденных, окисленных или избыточных макромолекул и органелл. Аутофагия принимает участие в онто- и органогенезе, старении и программируемой гибели клеток. На данный момент актуальным становится поиск физиологических индукторов аутофагии для предотвращения и удаления токсичных последствий стрессового состояния клеток. Такими индукторами могут являться полиамины – большая группа низкомолекулярных азотсодержащих соединений, универсальных органических поликатионов, обладающих высокой биологической активностью. Показано, что экзогенное применение полиаминов может продлевать жизнь различных модельных организмов за счет активации в клетках аутофагии, а генетическая инактивация аутофагических (*ATG*) генов снимает эффект «долгожителя» [1]. В связи с этим, целью настоящего исследования было изучение индукции и регуляции аутофагии в клетках корней пшеницы при действии полиамина спермина.

Интактные корни 4-дневных проростков пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Казанская юбилейная выдерживали в растворах спермина в концентрациях 1, 10, 100 мкМ в течение 3 ч. Было показано, что спермин в физиологических концентрациях (1 и 10 мкМ) индуцировал образование аутофагосом в клетках корней и способствовал увеличению уровня транскриптов *ATG4/ATG6/ATG8* генов, но не приводил к снижению жизнеспособности клеток. Воздействие спермином приводило к повышению в клетках уровня оксида азота (NO), что подтверждалось характерным триплетным ЭПР спектром и интенсивным свечением специфического флуоресцентного красителя DAF-FM, а также значительному повышению уровня H₂O₂. Интересно, что уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) не изменялся. Спермин в высокой концентрации 100 мкМ индуцировал образование LysoTracker-положительных конгломератов, падение индекса мембранной стабильности, повышение в 4 раза уровня H₂O₂, а также повышение уровня ПОЛ почти в 2 раза. Всё это способствовало снижению жизнеспособности клеток.

Важным механизмом регуляции аутофагии у растений при стрессовом воздействии является активация АМФ-зависимой протеинкиназы SnRK1, которая фосфорилирует киназу TOR и некоторые аутофагические белки, запуская каскады аутофагических реакций [2]. Интересно, что в корнях пшеницы спермин в концентрациях 1 и 10 мкМ индуцировал аутофагию без снижения энергообеспеченности клеток, о чем свидетельствует высокий уровень $\Delta\Psi_m$, наличие энергизованных митохондрий и низкий уровень транскриптов *SnRK1*. В то же время 100 мкМ спермин вызывал падение уровня $\Delta\Psi_m$, что сопровождалось изменением ультраструктуры митохондрий и снижением уровня поглощения кислорода. Можно полагать, что аутофагия, индуцированная спермином, опосредуется метаболическими событиями, как зависящими, так и не зависящими от уровня АТФ. Полученные нами данные свидетельствуют о возможной вовлеченности спермина в процесс аутофагии у растений, а также двойственности его эффекта, проявляющегося, в зависимости от концентрации спермина, как адаптивный клеточный ответ на стрессовое воздействие или индуктор гибели клеток.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН и РФФИ № 20-04-00721.

Список литературы

1. Madeo F., Eisenberg T., Pietrocola F., Kroemer G. // Science. 2018. 359, 63–74.
2. Baena- González E., Hanson J. // Curr. Opin. Plant Biol. 2017. 35, 152–157.

SPERMINE-INDUCED AUTOPHAGY IN ROOTS OF *TRITICUM AESTIVUM*

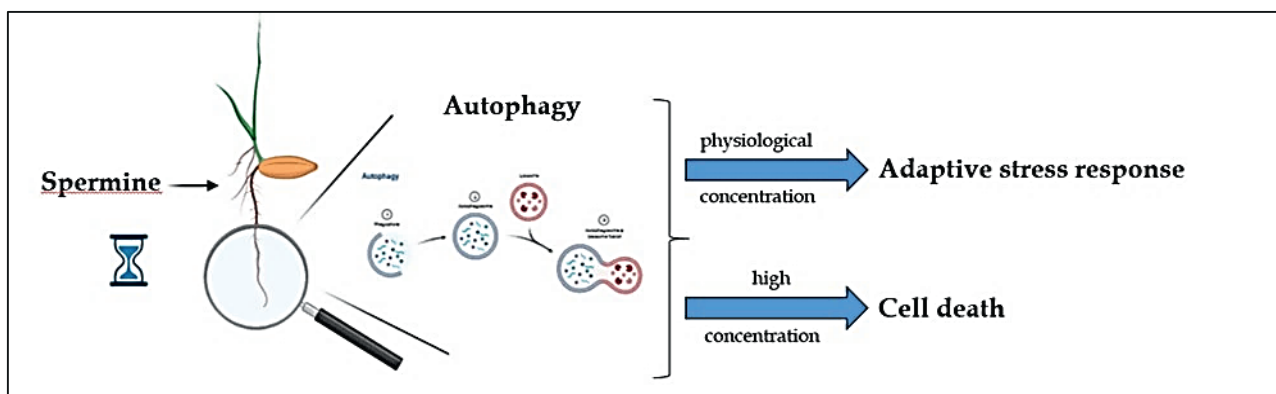
Mazina A.B.^{1,2}, Dmitrieva S.A.², Ponomareva A.A.²,
Rakhmatullina D.F.², Minibayeva F.V.^{1,2}

¹ Kazan Federal University, Kazan, Russia

²Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
FRC Kazan Scientific Center of the RAS, Kazan, Russia

Keywords: *Triticum aestivum*, autophagy, polyamines, spermine.

Autophagy, a highly conserved catabolic process, is considered as a non-specific stress response, which contributes to the programmed death of individual cells and the survival of the whole organism. The search for the physiological inducers of autophagy for the prevention and removal of toxic effects of stresses became an important problem. Nitrogen containing compounds polyamines can be among such inducers. The aim of present work was to study the induction and regulation of autophagy in the cells of wheat roots following exogenous application of polyamine spermine. We showed that treatment of intact roots with spermine in concentrations of 1 and 10 μM induced the formation of autophagosomes and increased the expression of autophagic genes (*ATG4/ATG6/ATG8*) but did not lower cellular viability. Spermine-induced autophagy was accompanied by an increase in the level of H_2O_2 and the level of NO but not lipid peroxidation (except 100 μM spermine). Autophagy is an energy dependent process. Spermine at low concentrations increased the mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$), while 100 μM spermine decreased $\Delta\Psi_m$ and inhibited the rates of respiration, while the expression of *SnRK1* subunits was upregulated. Our data indicate the possible involvement of spermine in autophagy in plants. The role of this process can directly depend on the concentration of spermine and be manifested as an adaptive stress response or inducer of cell death.



УДК: 577.152.1:632.938.1

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ ОТ БИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Максимов И.В.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия

E-mail: igor.mak2011@yandex.ru

Ключевые слова: активные формы кислорода (АФК), фитоиммунитет.

Кислород и его свободно-радикальные формы (активные формы кислорода, АФК) – уникальное явление природы, формирующее жизнь на Земле. Эволюционно растения приспособились использовать свободно-радикальные формы кислорода для своей защиты от различного рода стрессов, связанных с механическим повреждением, в том числе и повреждения патогенами и вредителями, где важное место, занимает окисление фенольных соединений с образованием лигнина и суберина, обладающих уникальными свойствами водонепроницаемости, устойчивости к деградации, а также высокой биоцидности.

Особый интерес представляют АФК в связи их активным вовлечением совместно с ферментами про-/антиоксидантной системы во взаимодействие растений с различными формами фитопатогенов и вредителей. Различные стрессы, нарушая балансовое соотношение в уровне АФК в растениях, приводят либо к некрозу тканей в зоне повреждений, либо к сверхчувствительной реакции (СВЧ-реакции), которые необходимо отличать друг от друга. Первый в растениях вызывается патогеном, связан с неблагоприятными условиями среды и приводит к болезни, а вторая реакция также инициируется чужеродным патогенным организмом, но ее протекание запрограммировано в геноме хозяина и направлено на преодоление стрессового состояния и изоляцию вредного организма от живых тканей растения. Высокая окислительная способность АФК создает угрозу для компонентов живых клеток, поэтому в них существует естественная система регуляции их уровня, поддерживающая гомеостаз объединяемая под термином «про-/антиоксидантная система, где процессы генерации АФК тесно связаны с процессами их утилизации.

Функциональная роль АФК в растениях при формировании их взаимоотношений с растениями имеет две противоречивые стороны: 1) интенсивность их продукции (негативное накопление) коррелирует с развитием патологического процесса и 2) активность ингибиторов их деградации (позитивное накопление) или, напротив, наличие антиоксидантов (позитивная утилизация) связана с защитной реакцией. Продукция АФК имеет двухфазный характер. Первый всплеск их уровня, наблюдаемый через 15–20 мин после действия стрессора, сопряжен с сигнальной системой растений. Второй проявляется не всегда, а только в несовместимой с клетками патогена системе в пределах 3–6 часов после первого и выражается в виде сильной и длительной локальной их продукции в зоне инфицирования и сопровождается защитной реакцией.

Включение АФК в систему элиситорной сигнальной трансдукции, несомненно, связано с их способностью к миграции или с быстрым включением в определенные сигнальные системы. Такими свойствами в первую очередь, обладает молекула перекиси водорода, так как является неионизированной и довольно стабильной. Например, установлено, что H_2O_2 может активировать киназы MAP киназы. Второй сигнальной молекулой может быть гидроксипероксильный радикал ($HO_2\cdot$). Являясь высокоактивными соединениями, АФК могут выщеплять олигосахариды с поверхности клеточных стенок патогена посредством перекисного гидролиза хитина и, тем самым, способствовать выработке и олигосахаридных элиситоров. Этот эффект может усиливаться в присутствии пероксидазы.

Соответственно, можно определить АФК как «инструмент» двойного назначения, позволяющий растению, при эффективной организации защитного эффекта, уничтожить

патоген посредством окислительного взрыва, а также, вызывая СВЧ-реакцию, формировать вокруг него зону из мертвых растительных клеток, насыщенных антимикробными соединениями и таким образом изолировать его от живых тканей. Резкие и многократные изменения уровня АФК в растениях, подвергнутых инфицированию фитопатогенами, вероятно, являются эффективными только при направленном их воздействии в точки проникновения инфекционного агента, чего довольно сложно добиться, если учитывать их повреждающую активность и мобильность.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № АААА-А21-121011990120-7).

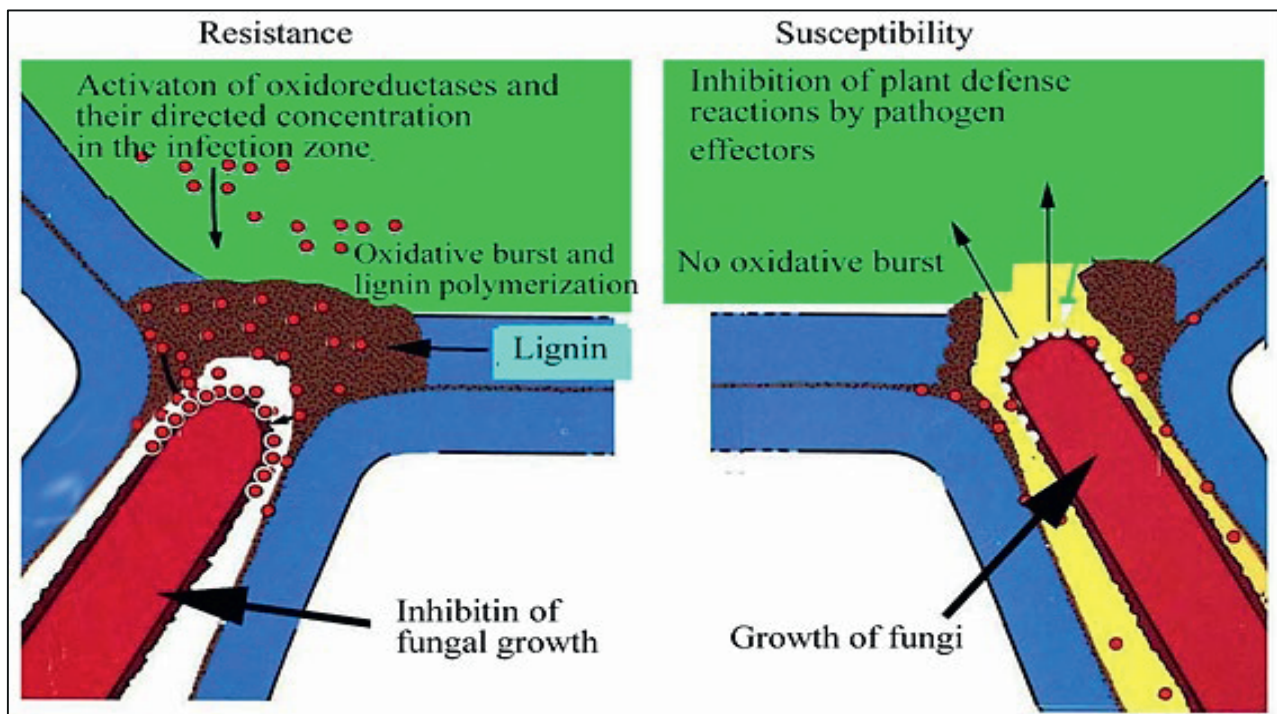
REACTIVE OXYGEN SPECIES IN THE DEFENSE OF PLANTS TO BIOTIC STRESS

Maksimov I.V.

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Keywords: reactive oxygen species (ROS), phytoimmunity.

Reactive oxygen species (ROS) are a unique natural phenomenon that forms life on Earth. They are of particular interest due to their involvement in the pro-/antioxidant system involved in the interaction of plants with pathogens and phytophages. The functional role of the ROS has two contradictory sides: 1) the intensity of their production correlates with the development of diseases and 2) the activity of inhibitors of their degradation or, conversely, the presence of antioxidants is associated with a protective reaction. Accordingly, ROS can be defined as a dual-purpose “tool” that allows a plant to destroy a pathogen through an oxidative explosion.



УДК 574.24

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ *PLATANATHERA BIFOLIA* ИЗ ЕСТЕСТВЕННОЙ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ОРХИДЕИ**Малева М.Г.* , Чукина Н.В., Борисова Г.Г., Филимонова Е.И.,
Новиков П.Е., Елькина А.В., Климова В.Н.**Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина,
Екатеринбург, Россия

*E-mail: maria.maleva@mail.ru

Ключевые слова: Orchidaceae, возрастная структура популяции, зольные субстраты, редокс-баланс, флавоноиды.

Представители семейства Orchidaceae Juss. нередко являются источником природных антиоксидантов, к числу которых относятся фенольные соединения, играющие важную роль в формировании устойчивости растений к стрессовым факторам [1]. *Platanthera bifolia* (L.) Rich. с древних времен используется в народной медицине, поскольку обладает ярко выраженными лечебными свойствами [2]. Эта орхидея является охраняемым видом, занесенным как «редкий» (III категория) во многие региональные Красные книги России, в то время как в Свердловской области ей присвоена V категория – «восстанавливающая численность» [3]. В последние годы достаточно многочисленные ценопопуляции *P. bifolia* были обнаружены на промышленно нарушенных территориях Свердловской области, включая золоотвалы тепловых электростанций (ГРЭС) [4].

Цель исследования – оценка содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и растворимых фенольных соединений в листьях генеративных особей *P. bifolia*, произрастающих в естественной (лесопарк) и трансформированных (золоотвалы ГРЭС) экосистемах Среднего Урала, а также содержания флавоноидов у орхидеи на разных стадиях ее развития. Растительный материал отбирали в середине июля в период цветения орхидей в естественном лесном сообществе (Юго-Западный лесопарк г. Екатеринбурга), а также в двух лесных фитоценозах, сформировавшихся на золоотвалах Среднеуральской и Верхнетагильской ГРЭС. Содержание продуктов ПОЛ, растворимых фенольных соединений и флавоноидов измеряли спектрофотометрически, согласно стандартным методам [5, 6].

Обнаружено, что в нарушенных местообитаниях *P. bifolia* способна формировать ценопопуляции с высокой численностью и значительным вкладом в возрастную структуру генеративных особей. При этом цветущие орхидеи содержали в среднем на 20% больше продуктов ПОЛ, что свидетельствует о сдвиге редокс-баланса в сторону окислительных процессов. Кроме того, у растений, произрастающих в трансформированных экосистемах, наблюдалось увеличение содержания фенольных соединений, в частности, флавоноидов (в среднем в 2,4 раза), на всех изученных стадиях. Независимо от условий произрастания виргинильные особи характеризовались минимальным содержанием флавоноидов, вероятно, из-за метаболических перестроек в период закладки генеративных органов. В период цветения количество флавоноидов в листьях орхидеи снова увеличивалось на всех участках. При этом доля флавоноидов от общего содержания фенольных соединений возрастала от 42% в естественном фитоценозе до 66%, в среднем, в трансформированных экосистемах. Сделано заключение, что флавоноиды участвуют в защитно-приспособительных реакциях *P. bifolia*, обеспечивая не только выживание этой орхидеи, но и способствуя реализации ее онтогенетической программы.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ и Правительства Свердловской области (проект № 20-44-660011) и Министерства науки и высшего образования РФ в рамках ГЗ УрФУ (FEUZ-2020-0057).

Список литературы

1. Gutierrez R.M.P. // J. Med. Plants Res. 2010. 4, 592–638.
2. Шретер А.И. Лекарственная флора Советского Дальнего Востока. М.: Медицина, 1975. 328 с.
3. Красная книга Свердловской области: животные, растения, грибы. Екатеринбург: ООО «Мир», 2018. 450 с.
4. Филимонова Е.И., Лукина Н.В., Глазырина М.А. // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2014. 11, 68–75.
5. Методы оценки антиоксидантного статуса растений: уч.-метод. пособие. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 72 с.
6. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. // Meth. Enzymol. 1999. 299, 152–178.

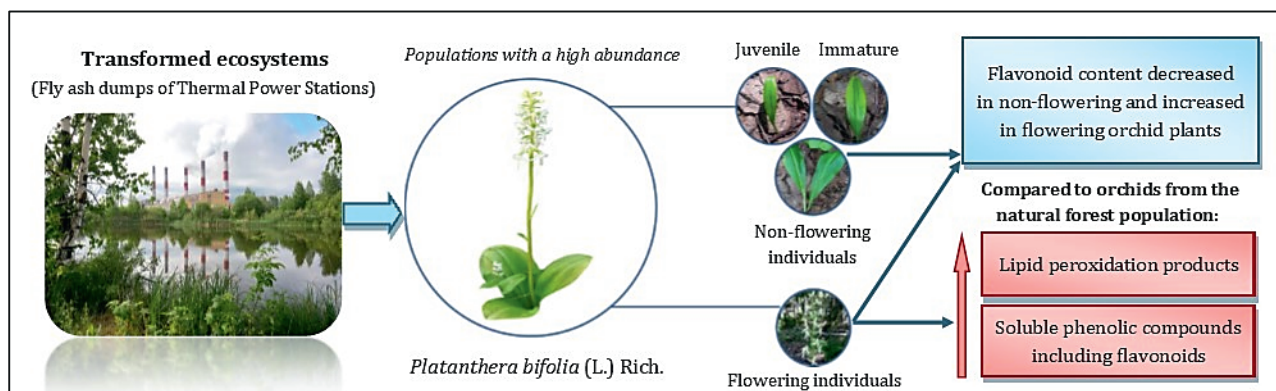
**FOLIAR PHENOLIC COMPOUNDS CONTENT IN ORCHID *PLATANTHERA BIFOLIA*
FROM NATURAL AND TRANSFORMED ECOSYSTEMS
AT DIFFERENT STAGES OF DEVELOPMENT**

**Maleva M.G., Chukina N.V., Borisova G.G., Filimonova E.I.,
Novikov P.E., El'kina A.V., Klimova V.N.**

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin,
Ekaterinburg, Russia

Keywords: Orchidaceae, age structure of population, fly ash substrates, redox balance, flavonoids.

The content of soluble phenolic compounds in generative individuals of *Platanthera bifolia* (L.) Rich. growing in natural (forest park) and transformed (fly ash dumps of Thermal Power Stations) ecosystems of the Middle Urals, Russia, as well as the content of flavonoids at different stages of orchid development were studied. It was found that in disturbed habitats, *P. bifolia* is capable of forming coenopopulations with a high abundance and significant contribution to the age spectrum by flowering individuals. Additionally, flowering orchids contained more lipid peroxidation products (on average by 20%), which indicate a shift in the redox balance towards oxidative processes. An increase in the content of phenolic compounds, particularly flavonoids (on average, 2.4 times), was observed at all development stages of the plants growing in the transformed ecosystems. Regardless to the growing conditions, the non-flowering mature individuals were characterized by a minimum content of flavonoids, probably due to pre-generative metabolic restructuring. Whereas, in the period of orchid blooming, the flavonoid content in their leaves was increased over again in all studied sites. At the same time, flavonoid content in the total amount of soluble phenolic compounds was increased significantly from 42% in natural habitat up to 66% on average in transformed ecosystems. It was concluded that flavonoids are involved in the protective adaptive reactions of *P. bifolia*, ensuring not only the survival of this orchid, but also contributing to the implementation of their ontogenetic program.



УДК 582.32

МЕЛАНИНЫ: ТЕМНАЯ СТОРОНА РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМА**Минибаева Ф.В.^{1*}, Бекетт Р.П.²**¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия²Университет Квазулу-Натал, Питермарицбург, Южная Африка**E-mail: minibayeva@kibb.knc.ru***Ключевые слова:** архитектура, меланины, полифенольные полимеры, функции.

Меланины (от греческого *Melano*, что означает темный или черный) представляют собой семью структурно сложных, темно-пигментированных полимеров, которые представлены во всех биологических царствах. Несмотря на природную универсальность, это одни из наиболее загадочных биополимеров биосферы. Естественные меланины являются гетерогенными полимерами, образующимися в результате окисления фенольных/индольных предшественников и последующей полимеризации промежуточных фенолов и хинонов. В зависимости от структуры, элементного состава и источника, меланины подразделяются на различные типы, такие как эумеланин, феомеланин, нейромеланин, алломеланин и пиомеланин. Эти пигменты выполняют разнообразные функции, в том числе тушение свободных радикалов, защита от светового стресса, перенос энергии, терморегуляция, хелатирование металлов, камуфляж, иммунный ответ и вирулентность [1]. В некоторых случаях эти пигменты, словно обоюдоострый меч, могут проявлять как защитные, так и токсичные свойства, в связи с чем иногда необходимо ингибирование меланогенеза. Недавние исследования продемонстрировали, что небольшие вариации в структуре мономера меланина могут вызвать значительные изменения в их редокс-характеристиках, антиоксидантных свойствах, металл-хелатирующей активности, а также влиять на морфологию естественных меланиновых гранул [2]. Микроструктура меланинов довольно подробно изучена для некоторых патогенных грибов и меланосом человека, однако информация о структуре и физико-химических свойствах меланинов фотосинтетических организмов чрезвычайно ограничена. В настоящем сообщении обсуждаются свойства и функции меланинов из растений и лишайников. Для лишайников формирование меланинового слоя на поверхности слоевища в ответ на ультрафиолетовое воздействие является одним из ключевых механизмов их высокой стрессовой устойчивости. В ходе меланизации таллома происходит активация генов, контролирующих не только биосинтез меланина, но и разнообразные стрессовые ответы. Свойства меланина делают этот естественный полимер перспективным объектом для фундаментальных и прикладных исследований с широким спектром применения в биотехнологии, медицине, ремедиации и нанотехнологии.

Работа выполнена в рамках госзадания ФИЦ КазНЦ РАН и поддержана грантом РНФ № 18-14-00198.

Список литературы

1. Solano F. // New J. Sci. 2014. Article ID 498276.
2. Micillo R., Panzella L., Koike K., *et al.* // Int. J. Mol. Sci. // 2016. 17, 746.

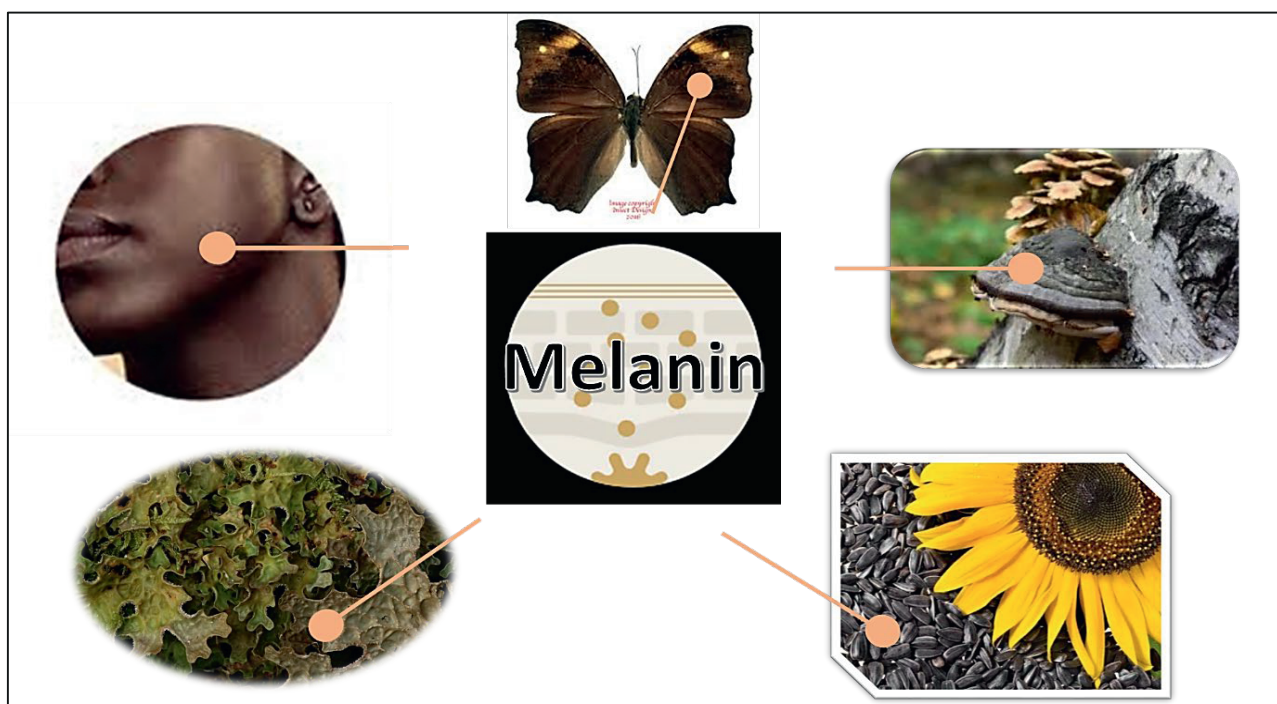
MELANINS: THE DARK SIDE OF REDOX METABOLISM

Minibayeva F.V.¹, Beckett R.P.²

¹Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
FRC Kazan Scientific Center of the RAS, Kazan, Russia
²University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa

Keywords: architecture, melanins, polyphenolic polymers, functions.

Melanins (Greek melano, meaning dark or black) are a family of structurally complex, darkly pigmented polymers that are present in all biological kingdoms. Despite being ubiquitous in nature, they are among the most puzzling biopolymers in the biosphere. Natural melanins are heterogeneous polymers derived by the oxidation of phenolic/indolic precursors and subsequent polymerization of intermediate phenols and their resulting quinones. Depending on their structure, elemental composition, and source, melanins are divided into several types such as eumelanin, pheomelanin, neuromelanin, allomelanin, and pyromelanin. These pigments carry out a vast array of functions, including radical scavenging, photoprotection, energy transduction, thermoregulation, metal chelating, camouflage, immunity, and virulence [1]. These pigments sometimes behave as a double-edged sword, and inhibition of melanogenesis could be desirable in some cells. Recent studies have shown that slight variations in the monomer structure of melanin can cause significant differences in its redox characteristics, antioxidant capacity, and metal-chelating activity, and it can also affect the morphology of the natural melanin granule [2]. The microstructure of melanins has been well studied for some pathogenic fungi and human melanosomes, however, the information about the structure and physico-chemical properties of melanins from photosynthesizing organisms is extremely limited. In this review, the properties and functions of melanins from plants and lichens will be discussed. For lichens, melanization of the thallus in response to UV radiation is one of the key mechanisms of their high stress tolerance. During melanization of the lichen thallus, upregulation of the genes controlling not only melanin biosynthesis but also of diverse stress responses takes place. The properties of melanin make this natural polymer a fascinating subject for fundamental and applied research with applications in biotechnology, medicine, remediation, and nanotechnologies.



УДК 581.14

РЕДОКС РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ЦИАНОБАКТЕРИЙ**Миронов К.С.^{1*}, Федуряев П.В.², Лось Д.А.¹**¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия²Институт живых систем ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. И. Канта»

*E-mail: ksmironov@ifr.moscow

Ключевые слова: *Synechocystis*, пероксид водорода, редокс-регуляция, экспрессия генов.

У цианобактерий в ходе системного анализа выявлено большое число генов, экспрессия которых индуцируется при действии абиотических стрессов: теплового, солевого, осмотического, кислотного, действия света высокой интенсивности или ультрафиолета. Гены белков теплового шока (БТШ) активируются при воздействии всех перечисленных факторов и формируют универсальную группу генов общего стрессового ответа. Наличие подобной группы генов подразумевает также возникновение группы универсальных триггеров стрессового ответа, к которым по всей видимости могут относиться активные формы кислорода (АФК) и, в частности, пероксид водорода H_2O_2 , а также изменения редокс-статуса элементов фотосинтетической электрон-транспортной цепи [1].

Нами был сконструирован двойной мутант *Synechocystis* sp. PCC 6803 по генам каталаза-пероксидазы (*katG*) и теоредоксин-пероксидазы (*tpx*), который был неспособен расти при внесении в среду H_2O_2 . Данный мутант весьма полезен в отношении исследования роли данной АФК в клетках цианобактерий, так как в клетках дикого типа H_2O_2 быстро инактивируется пероксидазами. Нам удалось продемонстрировать с использованием данного мутанта, что экспрессия генов холодового стресса регулируется со стороны эндогенного пероксида водорода на уровне как восприятия, так и передачи сигнала [2]. Кроме того, возникновение АФК в клетках цианобактерий тесно связано с редокс-статусом фотосинтетических мембран, на которую оказывает влияние вязкость/текучесть клеточных мембран, связанное со степенью ненасыщенности жирных кислот либо с температурой [3].

Мы считаем, что «пересечение» сигналов о вязкости и температуре, освещенности и редокс-статусе происходит с участием гистидиновой киназы Hik33, сенсора низких температур у цианобактерий. Эта протеинкиназа характеризуется наличием PAS-домена, который может быть связан с восприятием редокс-сигнала, что делает данный белок кандидатом на роль универсального белкового триггера, регулирующего экспрессию генов при абиотических стрессах в клетках цианобактерий.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда в рамках проектов № 19-74-10100 и 21-74-30003.

Список литературы

1. Mironov K.S., Sinetova M.A., Shumskaya M., Los D.A. // // Life. 2019. 9 (3), 67.
2. Fedurayev P.V., Mironov K.S., Gabrielyan D.A., et al. // Plant Cell Physiol. 2018. 59(6), 1255–1264.
3. Maksimov E.G., Mironov K.S., Trofimova M.S., et al. // Photosynth. Res. 2017. 133(1), 215–223.

REDOX REGULATION OF GENE EXPRESSION IN CYANOBACTERIA

Mironov K.S.¹, Fedurayev P.V.², Los D.A.¹

¹K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Science, Moscow, Russia

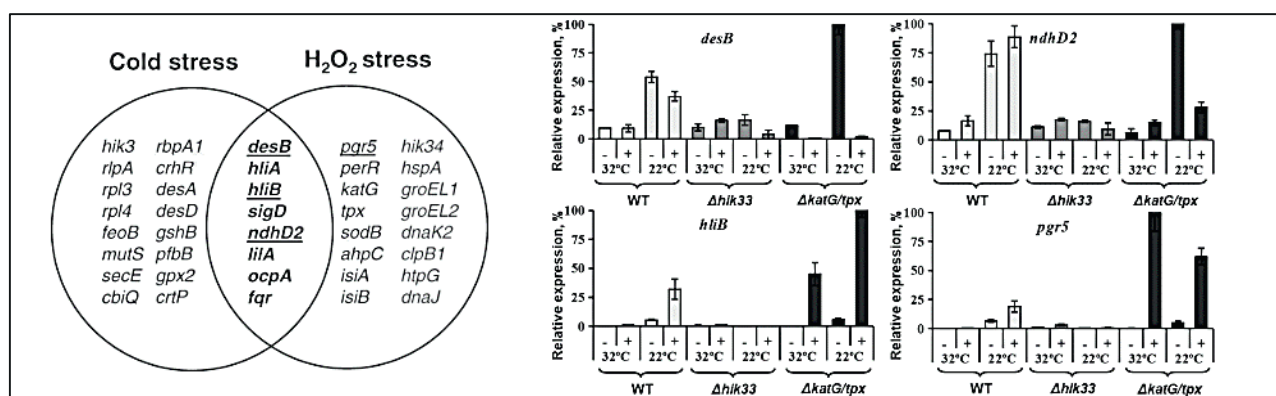
²Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Keywords: *Synechocystis*, hydrogen peroxide, redox regulation, gene expression.

In cyanobacteria, systemic analysis revealed a large number of genes whose expression is induced under the action of abiotic stresses: heat, salt, osmotic, acid, high light or ultraviolet. Heat shock protein (HSP) genes are activated under the influence of all these factors and form a universal group of general stress response genes. The presence of such a group of genes also implies the emergence of a group of universal stress response triggers, which apparently may include reactive oxygen species (ROS) and, in particular, hydrogen peroxide H_2O_2 as well as changes in the redox status of photosynthetic electron-transport chain elements [1].

We constructed a double mutant of *Synechocystis* sp. PCC 6803 by the catalase-peroxidase (*katG*) and thioredoxin-peroxidase (*tpx*) genes disruption, which was unable to grow when H_2O_2 was introduced into the medium. This mutant is very useful with respect to investigating the role of this ROS in cyanobacterial cells because H_2O_2 is rapidly inactivated by peroxidases in wild-type cells. Using this mutant, we demonstrated that the expression of cold stress genes is regulated by endogenous hydrogen peroxide at the level of both perception and signal transduction [2]. In addition, the occurrence of ROS in cyanobacterial cells is closely related to the redox status of photosynthetic membranes, which is influenced by the viscosity/fluidity of cell membranes related to the degree of unsaturated fatty acids or to the temperature [3].

We believe that the “intersection” of viscosity and temperature, illumination and redox status signals occurs with the participation of histidine kinase Hik33, a low temperature sensor in cyanobacteria. This protein kinase is characterized by the presence of the PAS domain, which can be associated with the perception of the redox signal, which makes this protein a candidate for the role of a universal protein trigger regulating gene expression under abiotic stresses in cyanobacteria cells.



УДК 581.037

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ ШУМАНОВСКОГО ДИАПАЗОНА НА КОМПОНЕНТЫ РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМА РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И ГОРОХА

Мшенская Н.С.* , Сеницына Ю.В., Кальясова Е.А.

ННГУ им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*E-mail: tasya.mshanka@yandex.ru

Ключевые слова: *Pisum sativum*, *Triticum aestivum*, антиоксидантные ферменты, малоновый диальдегид, резонанс Шумана, электромагнитные поля.

Геомагнитное поле – важный фактор окружающей среды, его неотъемлемой частью являются низкочастотные возмущения – электромагнитные излучения шумановского диапазона (ШЭМИ). Любой представитель биосферы Земли постоянно в течение жизни находится под воздействием электромагнитных полей данного частотного диапазона, и изучение особенностей восприятия подобных излучений различными организмами является актуальным. Одним из универсальных механизмов ответа растительных организмов на внешнее воздействие является изменение в системе компонентов редокс-метаболизма. В связи с этим, исследовали ответ со стороны антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и каталазы) и системы липопероксидации (содержание малонового диальдегида) растений на продолжительное воздействие магнитных полей с частотами, совпадающими с первыми тремя гармониками резонанса Шумана – 7,8 Гц, 14,3 Гц, 20,8 Гц.

Исследования проводили на растениях пшеницы мягкой яровой (*Triticum aestivum* L.) сорта Злата и гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Альбумен. Семена опытной группы располагали в генераторе магнитного поля. Для создания переменного магнитного поля (частоты: 7,8 Гц или 14,3 Гц или 20,8 Гц, напряженность 18 мкТл) использовали два соосно расположенных кольца Гельмгольца. Растения контрольной группы располагались в идентичных условиях на аналогичной деревянной конструкции, но не имевшей колец Гельмгольца. Растения культивировали в режиме 16/8 ч (день/ночь) при температуре около 23 °С до возраста 18 дней с момента замачивания.

После окончания экспозиции определяли содержание малонового диальдегида (МДА) и активность антиоксидантных ферментов, а именно каталазы и супероксиддисмутазы. Содержание МДА регистрировали по реакции с тиобарбитуровой кислотой [1], активность каталазы определяли по [2], супероксиддисмутазы согласно [3]. О влиянии электромагнитных полей с частотами резонанса Шумана на активность отдельных изоформ СОД судили по результатам нативного электрофореза в полиакриламидном геле.

В образцах, выделенных как из опытных, так и контрольных растений гороха, обнаружены 4 характерные зоны, соответствующие Mn-, Fe и двум Cu/Zn-изоформам супероксиддисмутазы. Дополнительно были выявлены две белковые фракции с СОД-активностью с Rf 0,42 и 0,50 в листьях гороха, выращенного при частотах 14,3 Гц и 20,8 Гц, а при частоте 7,8 Гц данные фракции не определялись. Электрофореграммы СОД, выделенной из листьев пшеницы как опытных, так и контрольных групп, не различались. В растениях обоих видов суммарная активность СОД ни в одном из вариантов опыта не изменялась. В растениях пшеницы было зарегистрировано повышение активности каталазы при воздействии переменного магнитного поля с частотой 20,8 Гц, у растений гороха отмечено снижение данного параметра при частоте 14,3 Гц. Содержание малонового диальдегида не изменялось при выращивании растений пшеницы и гороха в переменных магнитных полях трех первых частот ШЭМИ. Таким образом, учитывая, что исследованные переменные магнитные поля схожи по своим характеристикам (имитируют) естественные возмущения

геомагнитного поля, наблюдаемые незначительные изменения редокс-метаболизма вероятнее всего носили адаптивный характер.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках Соглашения с Правительством РФ № 075-15-2019-1892.

Список литературы

1. Kumar G.N.M., Knowles N.R. // Plant. Physiol. 1993. 102, 115–124.
2. Patterson B.D., Payne L.A., Chen Y., Graham D. // Plant Physiol. 1984. 76, 1014–1018.
3. Giannopolitis C.N., Ries S.K. // Plant Physiol. 1977. 59(2), 309–314.

EFFECT OF ELECTROMAGNETIC FIELDS OF SHUMAN RESONANCE FREQUENCIES ON THE COMPONENTS OF REDOX METABOLISM OF WHEAT AND PEA PLANTS

Mshenskaya N.S., Sinitsyna Yu.V., Kaly'asova E.A

Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

Keywords: *Pisum sativum*, *Triticum aestivum*, antioxidant enzymes, malonic dialdehyde Schumann resonance, electromagnetic fields.

Any living thing of the Earth's biosphere is constantly under the influence of electromagnetic fields of the Shuman resonance frequencies during its life. The response from antioxidant enzymes and the lipoperoxidation system of plants to prolonged exposure of magnetic fields with Schumann resonance harmonics frequencies – 7.8 Hz, 14.3 Hz, 20.8 Hz – was investigated. In samples isolated from both experimental and control pea plants 4 characteristic zones corresponding to Mn-, Fe and two Cu/Zn isoforms of superoxide dismutase were found. The appearance of two additional protein fractions with SOD activity (Rf 0.42 and 0.50) in pea leaves at frequencies 14.3 Hz and 20.8 Hz was detected, but at a frequency of 7.8 Hz these fractions were not determined. Electrophoregrams of SOD isolated from wheat leaves of both test and control groups did not differ. In plants of both species the total activity of SOD in either of the experimental variants did not change. In wheat plants an increase in catalase activity was recorded when exposed to an alternating magnetic field with a frequency of 20.8 Hz, in pea plants there was a decrease in this parameter at a frequency of 14.3 Hz. The content of malonic dialdehyde in wheat and pea plants did not change under the alternating magnetic fields influence. Thus, considering that the alternating magnetic fields in our study are similar in their characteristics to natural disturbances of the geomagnetic field the minor changes in redox metabolism observed were most likely adaptive.

INFLUENCE	CONSEQUENCES		
 Electromagnetic fields Schumann resonance frequencies <u>7.8 Hz; 14.3 Hz; 20.8 Hz</u> <i>18 μT; 18 days</i>	PEAS	WHEAT	
	Isoforms of SOD	Appearance of minor isoforms of SOD	no change
	Total SOD activity	no change	no change
	Catalase activity	Decrease at 14.3 Hz	Increase at 20.8 Hz
	MDA content	no change	no change

УДК 57.052/.053

ЭТИЛЕН: МАЛЕНЬКАЯ МОЛЕКУЛА – БОЛЬШИЕ ВОПРОСЫ**Новикова Г.В., Мошков И.Е.***

ФБГУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

E-mail: ie.moshkov@mail.ru*Ключевые слова:** рецепторы, сигнальная трансдукция, фитогормон.

Жизнь клеток любых многоклеточных организмов, в том числе растений, зависит от быстроты и адекватности их реакций на изменения интенсивности воздействий факторов внешней среды, а также сложившейся внутриклеточной ситуации. В качестве главных проводников таких реакций действуют фитогормоны. Исследования процессов восприятия гормональных сигналов, усиления этих сигналов, путей их передачи и преобразований в конечные физиологические ответы остаются актуальными и интенсивно развиваются в современной экспериментальной биологии растений. Центральное место в этих исследованиях занимают вопросы специфического узнавания гормона его рецепторами, в результате чего инициируется цепь биохимических реакций необходимых для осуществления конечного эффекта гормона на клетку.

Простейший по химической структуре газообразный фитогормон этилен является мощным регулятором физиологических процессов в растениях как в нормальных условиях, так и при действии стрессоров различной природы. Этилен контролирует прорастание семян, созревание климактерических плодов, растяжение клеток, ответы на патогены, образование корневых волосков, старение и опадение листьев, цветков, плодов и другие процессы. Этилен и ингибиторы его действия широко применяются в растениеводстве и пищевой индустрии, что является одной из причин постоянного интереса к исследованию механизма действия этого фитогормона.

В последние три десятилетия были достигнуты значительные успехи в изучении рецепции этилена, передачи и функционализации его сигнала. Именно эти аспекты будут рассмотрены в докладе.

ETHYLENE: A SMALL MOLECULE – BIG QUESTIONS**Novikova G.V., Moshkov I.E.**

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology of RAS, Moscow, Russia

Keywords: phytohormone, receptors, signal transduction.

The gaseous phytohormone ethylene, the simplest in chemical structure, is a powerful regulator of physiological processes in plants both under normal conditions and under the action of stressors of various nature. Ethylene controls seed germination, ripening of climacteric fruits, elongation of cells, responses to pathogens, formation of root hairs, aging and shedding of leaves, flowers, fruits, and other processes. Ethylene and inhibitors of its action are widely used in plant growing and food industry, which is one of the reasons for the constant interest in the study of the mechanism of action of this phytohormone. In the past three decades, significant advances have been made in the study of ethylene reception, transmission and functionalization of its signal.

УДК 633.161:58.036.1:577.355

**РЕДОКС-СОСТОЯНИЕ ПЕРЕНОСЧИКОВ ЭЛЕКТРОНОВ В ХЛОРОПЛАСТАХ
ПРИ ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ****Пшибытко Н.Л.^{1*}, Крук Ю.², Стржалка К.², Демидчик В.В.¹**¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь²Ягелонский университет, Краков, Польша

*E-mail: pshybytko@bsu.by

Ключевые слова: *Hordeum vulgare*, пластохиноны, тепловой стресс, транспорт электронов в хлоропластах.

Температура является одним из основных факторов окружающей среды, регулирующим фотосинтетическую активность растений. Природа стрессочувствительности фотосинтеза определяется как сложным строением пигмент-белковых комплексов тилакоидных мембран, так и тонкими механизмами регуляции электронных потоков в хлоропластах, метаболической и редокс-регуляцией. Реакция фотосинтетического аппарата на высокие температуры многофазна и выражается в модификации структуры тилакоидных мембран и протекания фотохимических реакций [1, 2]. В данной работе с использованием ряда биохимических, биофизических и молекулярных методов исследованы механизмы термоинактивации тилакоидных мембран *Hordeum vulgare*. При тепловой обработке интактных проростков ячменя уже через 30 мин теплового воздействия (40 °C) наблюдалось изменение редокс-состояния подвижных переносчиков электронов, пластохинонов, а также повышение транстилакоидного протонного градиента. После 3 ч нагревания проростков ячменя перераспределение пластохиноновых молекул между фотоактивным и нефотоактивным пулами сопровождало снижение уровня активных реакционных центров ФС2 и являлось ограничивающим фотосинтетическую активность фактором. Резкое возрастание уровня окисленности пластохиноновых молекул в первые 15–30 мин нагревания проростков ячменя коррелировало с повышением уровня генерации АФК. Обнаруженные термоиндуцированные изменения функционирования фотосинтетического аппарата сопровождались активацией таких протекторных механизмов, как перераспределение светособирающего пигмент-белкового комплекса от фотосистемы (ФС) II к ФС I и повышением вклада альтернативных потоков электронов, что, по-видимому, предотвращало перевосстановление электрон-транспортной цепи. Следует отметить, что высокотемпературная обработка существенно повышала поток электронов, катализируемый НАДН-дегидрогеназа-подобным комплексом, и подавляла линейный электронный транспорт через ферредоксин:НАДФ-оксидоредуктазу и циклический электронный поток, катализируемый ферредоксин:пластохион-редуктазой. С использованием искусственных редокс-медиаторов показана регуляторная роль пластохинонового пула и ферредоксина в ответной реакции электрон-транспортной цепи хлоропластов на тепловое воздействие. Оценка состояния пула аскорбата и глутатиона показала, что данные агенты не участвуют в термоиндуцированном изменении редокс-статуса хлоропластов. Сделан вывод, что редокс-регуляция ответной стрессовой реакции фотосинтетического аппарата при умеренном тепловом воздействии осуществляется подвижными переносчиками электронов и редокс-агентами.

Список литературы

1. Posch B.C., Kariyawasam B.C., Bramley H., *et al.* // J. Exp. Bot. 2019. 70(19), 5051–5069.
2. Mathur S., Agrawal D., Jajoo A. // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. 2014. 137, 116–1263.

EFFECT OF HEAT STRESS ON REDOX STATE OF ELECTRON CARRIERS IN CHLOROPLASTS

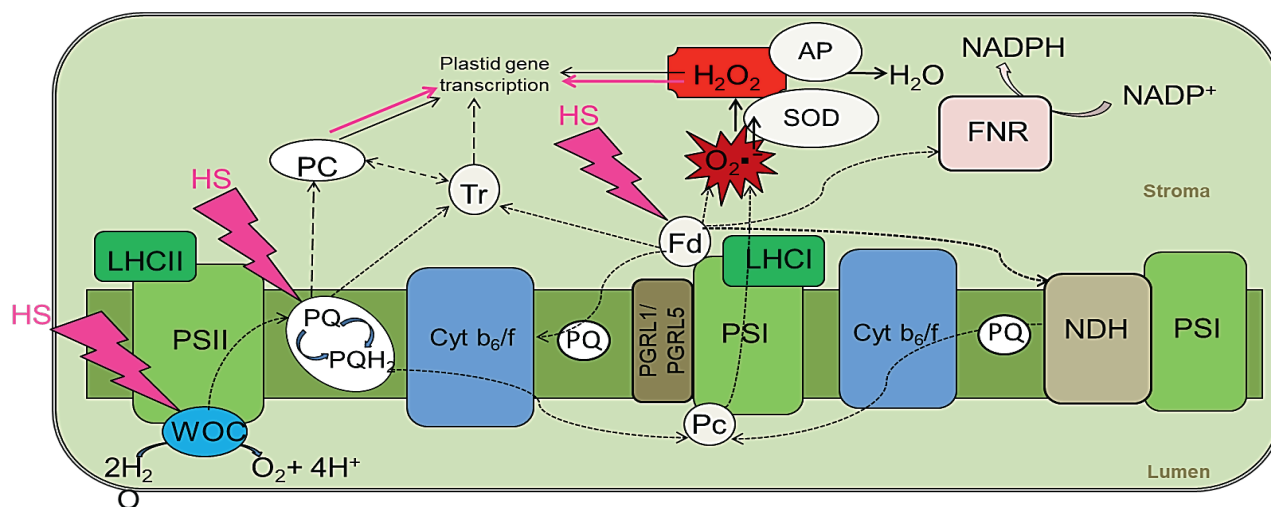
Pshybytko N.L.¹, Kruk J.², Strzalka K.², Demidchik V.V.¹

¹Belarusian State University, Minsk, Belarus

²Jagiellonian University, Kraków, Poland

Keywords: *Hordeum vulgare*, electron flows in chloroplast, heat stress, plastoquinone.

Temperature is a critical environmental factor modulating the photosynthetic activity. Here, the effect of heat stress (40 °C) on the photosynthetic electron flows of important crop *Hordeum vulgare* has been examined. Heat-induced inhibition of the linear electron flow due to impairment of the water oxidizing complex and the increase in the extent of Q_A^- reoxidation by $Tyr_{Z_{ox}}$ was showed by measurements of oxygen evolution and Q_A^- reoxidation kinetics in the absence and presence of exogenous electron acceptors. Using HPLC analysis, the decrease in size of the photoactive PQ-pool and a change in the proportions of oxidized and reduced PQ under heat treatment were observed. An increase in the level of oxidized plastoquinones in the first 15–30 min of heating correlated with an increase in ROS level. Analysis of light induced $P700^+$ kinetics showed limitation of electron flow to ferredoxin – $NADP^+$ oxidoreductase under heating. On the other hand, the decrease in the PGRL1/PGRL5-dependent electron flow was observed while the alternative electron flow provided by the NADH dehydrogenase like complex was accelerated by high temperature. Using artificial oxidizing agents, the regulatory role of the plastoquinone pool and ferredoxin in the response of the electron transport chain of chloroplasts to the heating was showed.



УДК 582.29

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЛАНИНА ЛИШАЙНИКА *LEPTOGIUM FURFURACEUM*

Рассабина А.Е.^{1*}, Хабибрахманова В.Р.^{1,2}, Бекетт Р.П.³, Миннибаева Ф.В.¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

²Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия

³Университет Квазулу-Натал, Питермарицбург, Южная Африка

*E-mail: AERassabina@yandex.ru

Ключевые слова: *Leptogium furfuraceum*, антирадикальная активность, меланин, физико-химические свойства.

Среди многообразия экстремофильных организмов особое внимание уделяется лишайникам. Их высокая стрессовая устойчивость обусловлена наличием в составе лишайников уникальных вторичных метаболитов. По результатам современных исследований, наряду с лишайниковыми веществами в адаптации лишайников к неблагоприятным условиям среды важную роль играет меланин [1]. Известно, что меланины способны защищать от интенсивного УФ излучения, проявлять антирадикальную, антимутагенную, антибактериальную активности, связывать ионы металлов и различные органические соединения. По химической природе меланины представляют собой высокомолекулярные полимеры, которые в зависимости от структуры мономерного звена классифицируют как эумеланины, алломеланины, феомеланины и др. [2]. В живых организмах, в частности, в высших грибах, меланин локализуется в клеточной стенке, связываясь со структурными полисахаридами и белками. Это обуславливает сложность выделения меланинов для изучения их физико-химических свойств и биологической активности. Учитывая, что меланины лишайников практически не изучены [3], важным является проведение исследований по подбору эффективных условий выделения меланинов из талломов и последующий анализ их физико-химических свойств и биологической активности.

В работе для исследований был выбран лишайник *Leptogium furfuraceum*. Экстрагирование измельченного таллома осуществляли раствором гидроксида натрия, выделение меланинов из полученного щелочного экстракта проводили при смене pH среды и природы растворителя. Выход меланинов определяли гравиметрическим методом. Исследование физико-химических свойств меланина включало определение элементного состава, анализ УФ- и ИК-спектров. Определение антирадикальной активности меланина проводили спектрофотометрическим методом в отношении радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ).

Из таллома *L. furfuraceum* получены два образца меланина: первый образец с выходом 3,2% получен при подкислении щелочного экстракта лишайника до pH 1–2, второй – с выходом 3,9% получен при добавлении этанола к остатку щелочного экстракта после подкисления. Исследование элементного состава первого образца меланина показало, что он содержит в среднем 49% С, 6,7% Н и около 10,8% N, что позволяет отнести его к эумеланинам. С помощью рентгенофлуоресцентного анализа установлено наличие в первом образце меланина металлов с парамагнитными свойствами – Fe (4%) и Cu (1%). УФ- и ИК-спектры первого образца меланина сопоставимы со спектрами коммерческого препарата меланина из *Sepia officinalis*. Анализ антирадикальной активности в отношении ДФПГ показал, что коэффициент IC₅₀ составил 310 мкг×мл⁻¹. Исследование второго образца меланина проводится в настоящее время.

Работа выполнена в рамках госзадания ФИЦ КазНЦ РАН и поддержана грантами РНФ (№ 18-14-00198) и РФФИ «Аспиранты» (№ 20-34-90044).

Список литературы

1. Nguyen K.-H., Chollet-Krugler M., Gouault N., *et al.* // Nat. Prod. Rep. 2013. 30, 1490–1508.
2. Багманян И.А., Мямин В.Е., Гигиняк Ю.Г., *и др.* // Успехи медицинской микологии. 2004. 3, 156–158.
3. Mbonyirivuze A., Mwakikunga B., Dhlamini S., Maaza M. // Mater. Chem. Phys. 2015. 3, 25–29.

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF MELANIN OF LICHEN *LEPTOGIUM FURFURACEUM*

Rassabina A.E.¹, Khabibrakhmanova V.R.^{1,2}, Beckett R.P.³, Minibayeva F.V.¹

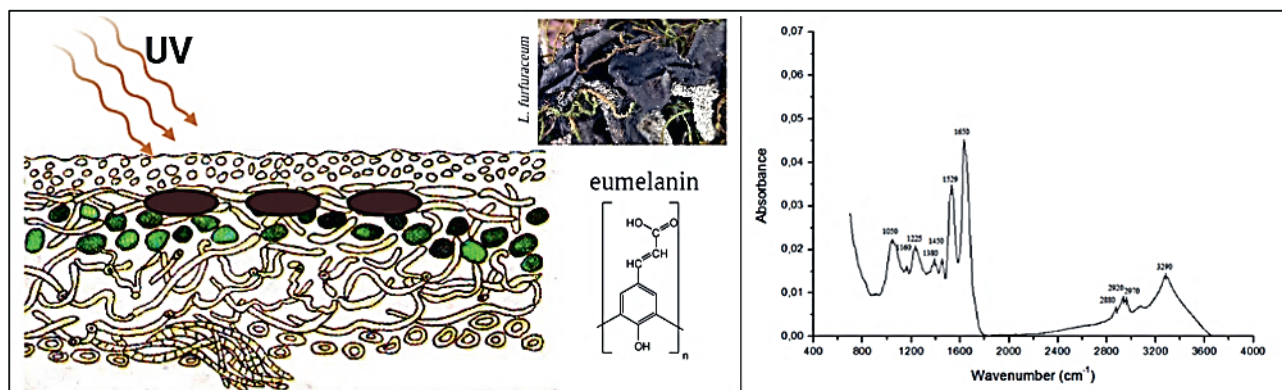
¹Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, Kazan, Russia

²Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia

³University KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa

Keywords: *Leptogium furfuraceum*, antiradical activity, melanin, physico-chemical properties.

The physicochemical properties of melanin isolated from the lichen *Leptogium furfuraceum* were studied. Melanin was isolated by alkaline extraction followed by acid precipitation. It was found that the isolated melanin contains on average 49% C, 6.7% H and ca. 10.8% N and belongs to the type of eumelanin. Using the IR spectroscopy, hydroxyl and carboxyl groups were found in the structure of melanin. The photo-absorbing ability was confirmed by UV spectroscopy. The analysis of antioxidant activity of melanin isolated from *L. furfuraceum* showed that the IC₅₀ was 310 µg×mL⁻¹. Using X-ray fluorescence analysis, the presence in lichen melanin the metals with paramagnetic properties such as Fe (4%) and Cu (1%) was detected. This suggests the sorption abilities of the melanin from *L. furfuraceum*.



УДК 581.1

**СТЕРИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ МХА *HYLOCOMIUM SPLENDENS*:
ИДЕНТИФИКАЦИЯ, ИЗМЕНЕНИЯ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ
И АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ**

Ренкова А.Г.^{1*}, Хабибрахманова В.Р.^{1,2}, Мухитова Ф.К.¹, Валитова Ю.Н.¹, Минибаева Ф.В.¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение ФИЦ
«Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

²ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет»,
Казань, Россия

*E-mail: renkova@kibb.knc.ru

Ключевые слова: *Hylocomium splendens*, гены стеринового биосинтеза, стресс, стерины.

Мхи являются одними из древнейших наземных организмов и представляют собой ветвь эволюции высших растений. Основной интерес к исследованию мхов обусловлен их высокой стрессовой устойчивостью. Абиотические стрессоры, такие как засуха, засоление, экстремальные температуры, ксенобиотики и прооксиданты, являются серьезными угрозами для природных экосистем. Чтобы выжить в суровых условиях, мхи выработали эффективные механизмы устойчивости, среди которых особое место занимают мембранные стерины. Интересно, что соотношение основных молекулярных видов стеринов у мхов отличается от такового высших сосудистых растений, например, доля стигмастерина у мхов выше [1]. Физиологический смысл такого отличия остается неясным, однако в последние годы появилась информация о том, что стигмастерин является «стрессовым» стеринном растений. Было показано, что количество стигмастерина заметно возрастает в клетках растений при действии различных стрессовых факторов [2, 3]. Можно полагать, что такие отличия в соотношении основных молекулярных видов стеринов обусловлены специфическими функциями этих соединений во мхах. В связи с этим, настоящая работа посвящена изучению изменения стеринового профиля лесного мха *Hylocomium splendens* (Hedw.) при действии стрессовых факторов. Нами был разработан эффективный способ экстракции стеринов из мха *H. splendens*, обеспечивающий их максимальный выход. Изменения в составе стеринов были проанализированы при действии низкой отрицательной (-20 °C) и повышенной (+30 °C) температур, а также обезвоживании/регидратации. Кроме того, нами была проведена оценка антиоксидантной активности экстрактов мха *H. splendens*. Можно полагать, что немалую роль в антиоксидантный потенциал вносят стерины, в частности, стигмастерин. Мониторинг изменений состава и соотношения стеринов при действии низкой отрицательной и повышенной температур, обезвоживания/регидратации показал, что стерины, в частности, стигмастерин, участвуют в формировании устойчивости мхов к неблагоприятным воздействиям окружающей среды. Одним из механизмов изменения количества «стрессового» стерина – стигмастерина при стрессовых воздействиях является активация гена *HsCYP710A*, кодирующего C22-стерин десатуразу – ключевой фермент биосинтеза стигмастерина. Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что стерины могут вносить вклад в формирование устойчивости мха *H. splendens* к действию абиотических стрессовых факторов.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 20-04-00988 и гранта Президента РФ МК-264.2020.4.

Список литературы

1. Morikawa T., Saga H., Hashizume H., et al. // Planta. 2009. 229(6), 1311–1322.
2. Griebel T., Zeier J. // Plant J. 2010. 63, 254–268.

3. Senthil-Kumar M., Wang K., Mysore K.S. // Plant Signal Behav. 2013. 8(2), e23142-1–e23142-5.

STEROL PROFILE OF THE MOSS *HYLOCOMIUM SPLENDENS*: IDENTIFICATION, CHANGES UNDER STRESS CONDITIONS AND ANTIOXIDANT POTENTIAL

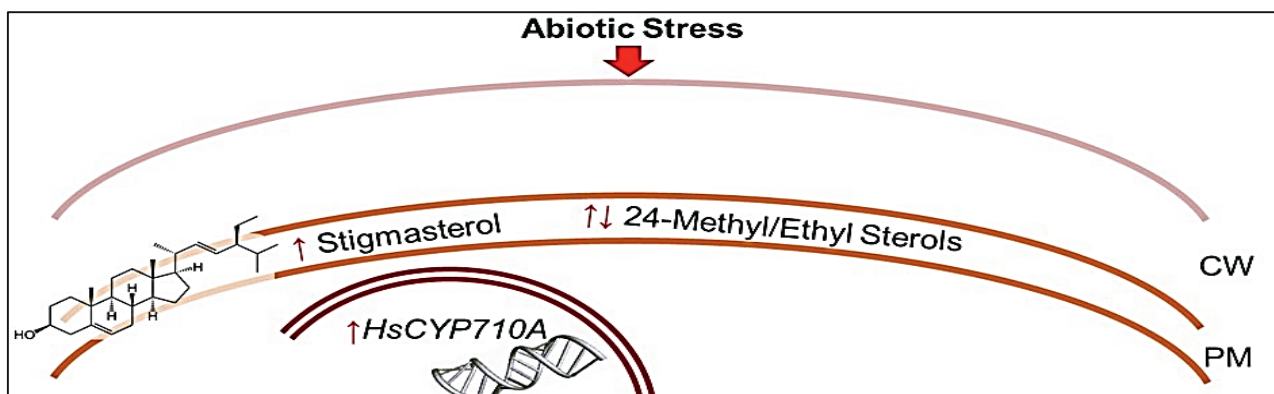
Renkova A.G.¹, Khabibrakhmanova V.R.^{1,2}, Mukhitova F.K.¹, Valitova J.N.¹, Minibayeva F.V.¹

¹Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Federal Research Center Kazan Scientific Center,
Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia

²Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia

Keywords: *Hylocomium splendens*, genes of sterol biosynthesis, stress, sterol.

Mosses are among the most ancient land plants and represent a branch of the evolution of higher plants. The main interest in the studies of the mosses is caused by their high stress resistance. To survive in harsh conditions, mosses have developed effective resistance mechanisms, among which membrane sterols play special roles. In this regard, present work is devoted to the study of the changes in sterol profile of the forest moss *Hylocomium splendens* (Hedw.) following stress treatments. We have developed an efficient method of sterol extraction from *H. splendens*, ensuring their maximum yield. Changes in the sterol composition of moss thalli treated with low negative (-20 °C) and elevated (+30 °C) temperatures, as well as dehydration / rehydration were analyzed. In addition, the antioxidant activity of extracts from the moss *H. splendens* was assessed. Results obtained indicate that sterols, in particular stigmasterol, play significant role in the antioxidant potential. Changes in the expression of *HsCYP710A* encoding C22-sterol desaturase, a key enzyme of stigmasterol biosynthesis, can contribute to the regulation of stigmasterol level under stresses. Thus, our data demonstrate that the changes in sterols, in particular stigmasterol, can increase stress tolerance of the moss *H. splendens*.



УДК 581.1

ОКИСЛЕНИЕ АУКСИНА ПРИ НАРУШЕНИИ РЕЦЕПЦИИ**Романюк Д.А.^{1,3}, Пузанский Р.К.^{2,3}, Емельянов В.В.³, Шишова М.Ф.^{3*}**¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,
Санкт-Петербург, Россия²Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: mshishova@mail.ru

Ключевые слова: ауксин, баланс фитогормона, окисление, рецепция, убиквитинирование.

Многообразие реакций растительных организмов на действие ауксина определяется такими факторами, как чувствительность к фитогормону и его активная концентрация. Общепринятая точка зрения предполагает, что рецепция фитогормона происходит с участием убиквитин-лигазного комплекса с участием рецептора TIR1. Уровень природного ауксина контролируется разветвленной многокомпонентной системой, которая включает в себя несколько систем локального синтеза, несколько систем конъюгирования, достаточно сложную многокомпонентную систему транспорта гормона и, наконец, систему деградации. Роль последней в специфичной модуляции уровня гормона в растительных тканях до сих пор изучена не полностью. Достаточно длительное время в качестве ферментов, отвечающих за окисление индолилуксусной кислоты (ИУК) – природного ауксина, рассматривали пероксидазы. Однако с 70х годов не удалось доказать их субстратную специфичность к гормону. С 2016 г. в качестве основного фермента деградации ауксина рассматривается диоксигеназа ауксина (Dioxygenase for Auxin Oxidation 1/2, DAO). Именно этот фермент отвечает за образование OxIAA – наиболее широко представленной в растительных тканях формы окисленного ауксина. К сожалению, в настоящее время данные, раскрывающие участие обеих систем в механизме действия фитогормона весьма фрагментарны. Данное исследование сфокусировано на выяснение роли окислительной деградации ИУК с участием пероксидаз и диоксигеназ у проростков арабидопсиса при условии нарушения рецепции гормона. Для этого в качестве модельного объекта были использованы мутантные растения арабидопсиса *axr1-3* дефектные по кодированию убиквитин-3-лигазы.

Эксперименты проводили на проростках арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) дикого типа, экотип Columbia и мутантов *axr1-3*, выращенных в стерильных условиях на ½ среды Мурасиге и Скуга. Концентрацию ИУК в тканях листьев определяли с помощью иммуно-ферментной детекции после соответствующей очистки тканевых гомогенатов. Активность ИУК-оксидаз оценивали методом Гамбурга. Интенсивность экспрессии генов, кодирующих DAO1/2, определяли с применением ОТ-ПЦР-РВ.

Чувствительность растительных клеток к ауксину зависит от SCF^{TIR1}-убиквитин лигазного комплекса, относящегося к мультисубъединичным кулин-RING E3-лиазамам. Белок TIR1, являющийся частью комплекса, выполняет функции рецептора ауксина. Связывание TIR1 с гормоном приводит к убиквитинированию Aux/IAA белков – репрессоров транскрипционных факторов (AUXIN RESPONSE FACTORS, ARFs) и индуцирует активацию экспрессии генов раннего ауксинового ответа. К числу генов, входящих в эту группу, относятся ферменты конъюгации, обеспечивающие снижение концентрации ауксина и, тем самым, возвращение всей системы к исходному состоянию. Возможность участия в этом систем окисления ИУК неизвестна. Тем самым, возникает вопрос, каким образом изменится концентрация ауксина в тканях проростков арабидопсиса при нарушении работы E3-лигазного комплекса? Данная задача была решена при использовании проростков с нарушением кодирования белка AXR1. Полученные данные свидетельствуют, что концентрация ИУК в листьях мутантов *axr1-3* была почти в 5 раз выше таковой у растений дикого типа. Следовательно, можно было ожидать нарушение систем не только конъюгации,

связанное с нарушением E3-лигазного комплекса, но и систем окисления. Тем не менее, в тканях *axr 1-3* мутантов активность апопластных пероксидаз - малоспецифичных ИУК-оксидаз возрастала в 1,5 раза. О возможном изменении активности ауксиновых диоксигеназ судили по изменению экспрессии генов *DAO1/2*. Показано, что экспрессия обоих генов возрастала более чем в 50 раз. Таким образом, нарушение чувствительности растительных клеток к ауксину приводит к повышению уровня гормона, но это не сопровождается ингибированием окислительной деградации ИУК.

Работа поддержана грантом РФФИ (Проект № 19-04-00655).

AUXIN OXIDATION AT ALTERED HORMIONE PERCEPTION

Romanyuk D.^{1,3}, Puzanskiy R.^{2,3}, Yemelyanov V.³, Shishova M.³

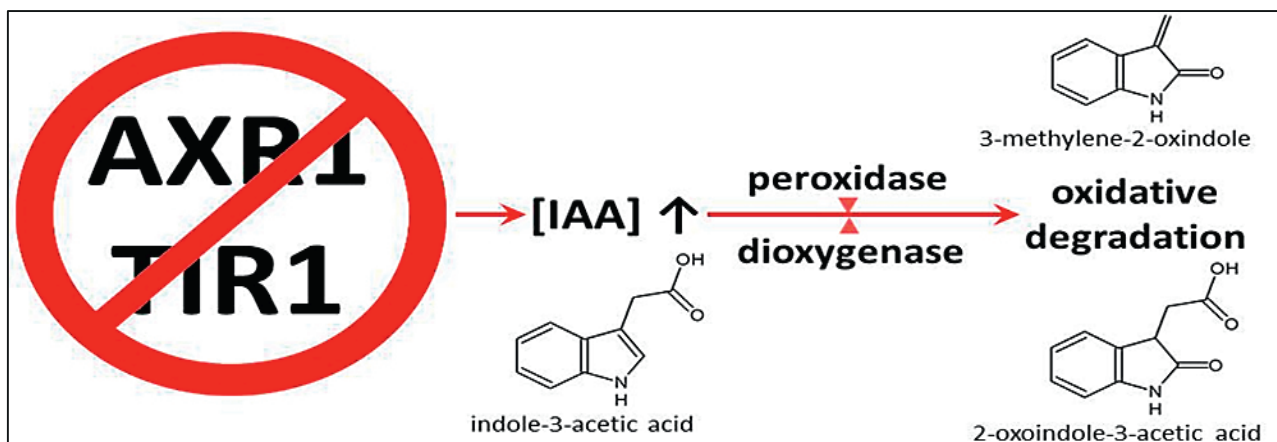
¹All-Russia Research Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Russia

²Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

³St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Keywords: auxin, phytohormone balance, oxidation, perception, ubiquitination.

The variety of reactions of plant organisms to auxin is determined by sensitivity to phytohormone and its active concentration. The generally accepted point of view suggests that IAA reception occurs with the participation of the ubiquitin ligase complex with the participation of the TIR1 receptor. But hormone concentration regulated by different systems including oxidative degradation. This one is still not fully investigated. This study is focused on elucidation of the role of oxidative IAA degradation provided by peroxidases (IAA-oxidases) and deoxygenases in *Arabidopsis* seedlings. Special interest was directed on mutants *axr1-3* defected in coding of ubiquitin 3 ligase and thus in hormone perception. The data obtained indicate that the IAA concentration in the leaves of *axr 1-3* mutants was almost 5 times higher than that of wild-type plants. Consequently, one could expect disruption of not only conjugation systems associated with disruption of the E3-ligase complex, but also of oxidation systems. Nevertheless, in the tissues of *axr 1-3* mutants, the activity of apoplastic low-specific peroxides – IAA-oxidases increased by 1.5 times. A possible change in the activity of auxin dioxygenases was judged by a change in the expression of the *DAO1/2* genes. It was shown that the expression of both genes is increased by more than 50 times. Thus, a violation of the sensitivity of plant cells to auxin leads to an increase in the level of the hormone, but this is not accompanied by inhibition of the oxidative degradation of IAA.



УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ОБИТАНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ И СОДЕРЖАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ АСКОРБАТ-ГЛУТАТИОНОВОГО ЦИКЛА В ЛИСТЬЯХ *PLANTAGO MEDIA*

Силина Е.В.^{*}, Головки Т.К.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

^{*}E-mail: silina@ib.komisc.ru

Ключевые слова: *Plantago media*, антиоксидантные ферменты, аскорбат-глутатионовый цикл, метаболиты, свет, условия среды.

Устойчивость растительных организмов к окислительному стрессу, индуцированному высокой интенсивностью солнечной радиации, определяется балансом между генерацией активных форм кислорода (АФК) и их нейтрализацией антиоксидантной системой (АОС). Важным компонентом АОС является аскорбат-глутатионовый цикл (АГЦ) – метаболический путь детоксификации H_2O_2 , присутствующий в цитозоле, митохондриях, пластидах и пероксисомах [1]. Несмотря на многочисленные исследования, функционирование и защитная роль АГЦ в адаптивных реакциях растений природной флоры исследована недостаточно.

Цель работы – выявить изменения активности ферментов и содержания метаболитов АГЦ в листьях *Plantago media* L. в зависимости от условий местообитания и фазы развития растений. Для этого изучали суточную динамику содержания аскорбата (Asc), глутатиона (GSH) и активности ферментов, связывающих эти метаболиты. Выбор объекта обусловлен тем, что виды рода *Plantago* характеризуются высокой пластичностью и способностью формировать фенотипы, хорошо адаптированные к различным условиям. Растения *P. media* (подорожник средний) произрастали на пойменном лугу: на слабо покрытой растительностью песчаной бровке ближе к реке (участок 1) и в травостое в центре луга (участок 2). На участке 1 растения получали вдвое больше света, чем растения на участке 2. Количество H_2O_2 , активность ферментов и содержание метаболитов АГЦ определяли по стандартным методикам [2–7] в грубом экстракте из листьев, зафиксированных жидким азотом сразу после отбора образцов.

Выявлены закономерности функционирования АГЦ в листьях в зависимости от световых условий произрастания и внутренних факторов (фаза развития). Листья хорошо освещенных растений накапливали в 2–3 раза больше общего Asc и GSH, чем листья затененных растений. Основная доля метаболитов АГЦ (70–90%) была представлена восстановленной формой. Наибольшее содержание окисленной формы Asc отмечали в листьях растений с участка 1. Содержание окисленной формы GSH, напротив, было выше в листьях с участка 2. В течение суток наибольшие значения исследуемых показателей наблюдались в полуденные и послеполуденные часы, когда освещенность и температура среды повышались, а относительная влажность воздуха снижалась. Уровень активности аскорбатпероксидазы, дегидроаскорбатредуктазы и глутатионредуктазы изменялся комплементарно содержанию метаболитов. В результате хорошо освещенные и затененные растения существенно не различались по накоплению H_2O_2 в листьях. Активность компонентов АГЦ была выше в период массового цветения, чем в фазу бутонизации растений. Полученные данные показывают, что повышенная активность АГЦ в листьях хорошо освещенных растений является характерной особенностью их метаболизма и важным компонентом адаптивного ответа. Участие АГЦ в поддержании окислительно-восстановительного баланса фотосинтетических клеток способствует успешной реализации жизненной стратегии растений в условиях высокой инсоляции и напряженного водного режима.

Список литературы

1. Foyer C.H., Noctor G. // Plant Physiol. 2011. 155, 2–18.
2. Bellincampi D., Dipierro N., Salvi G., *et al.* // Plant Physiol. 2000. 122, 1379–1386.
3. Foyer C., Halliwell B. // Planta. 1976. 13, 21–25.
4. Hossain M.A., Asada K. // Plant and Cell Physiol. 1984. 25, 85–92.
5. Kampfenkel K., Vanmontagu M., Inze D. // Anal. Biochem. 1995. 225, 165–167.
6. Nakano Y., Asada K. // Plant Cell Physiol. 1981. 22, 867–880.
7. Queval G., Noctor G. // Anal. Biochem. 2007. 363, 58–69.

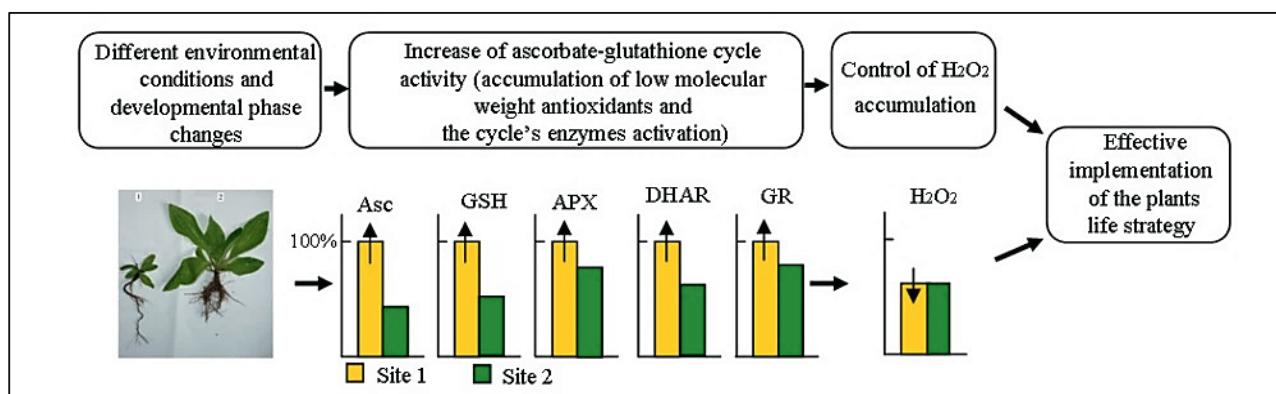
EFFECT OF ENVIRONMENTAL CONDITIONS ON THE ASCORBATE-GLUTATHIONE CYCLE ENZYMES ACTIVITY AND METABOLITES CONTENT IN *PLANTAGO MEDIA* LEAVES

Silina E.V., Golovko T.K.

Institute of Biology, Komi Scientific Centre of Ural Branch of RAS, Syktyvkar, Russia

Keywords: *Plantago media*, antioxidant enzymes, ascorbate-glutathione cycle, metabolites, light, environmental conditions.

The ascorbate-glutathione cycle (AGC) is a metabolic pathway that detoxifies H_2O_2 , which is a reactive oxygen species produced as a waste product in metabolism. The cycle involves the antioxidant metabolites – ascorbate (Asc), glutathione (GSH) and NADPH, as well as enzymes linking them. We studied the patterns of changes in the enzymes activity and the content of AGC metabolites in the *Plantago media* leaves, depending on the light conditions and the development phase of plant. The experimental plants grew on the floodplain meadow: on the sparsely vegetated coastal edge (site 1) and in the grass stand in the central part of the meadow (site 2). Hoary plantain plants growing in site 1 received twice more light than in site 2. Asc and GSH concentrations in leaves of well lighting plants were 2–3 times higher than in shaded plants. The maximal levels of these metabolites observed in midday, when light intensity and air temperature were increased, and relative humidity of air was decreased. The activity of AGC enzymes was changing similarly to the metabolite contents. The AGC activity during the mass flowering period was higher than during the budding phase of plants. As a result, the leaves of plantain plants from areas with different levels of illumination did not differ significantly in the concentration of hydrogen peroxide. Our data show that the functioning of AGC, which is involved in maintaining the redox state of photosynthetic cells, depends on environmental conditions and internal factors (developmental phase). AGC controls H_2O_2 accumulation in the leaves, participates in protection against photo-oxidative stress, and contributes to the implementation of the life strategy of plants.



УДК 581.19+57.047

**РЕДОКС-ИЗМЕНЕНИЯ В КОРЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ДЕРЕВЬЕВ
ПРИ ПОРАЖЕНИИ ОМЕЛОЙ БЕЛОЙ (*VISCUM ALBUM* L.)****Скрышник Л.Н., Масленников П.В.^{*}, Федураев П.В., Пунгин А.В., Белов Н.С.**Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта,
Калининград, Россия^{*}E-mail: PMaslennikov@kantiana.ru**Ключевые слова:** *Acer platanoides*, *Populus nigra*, *Tilia cordata*, антиоксидантные ферменты, окислительный стресс.

Омела белая (*Viscum album* L.) является полупаразитическим растением, которое развивает устойчивые гаустории в дереве-хозяине. Ранее авторами впервые было проведено исследование распространения омелы белой на территории города Калининграда. Основными видами деревьев, подверженными заражению омелой, являлись *Tilia cordata*, *Acer platanoides* и *Populus nigra* [1]. На физиологическом уровне влияние омелы на деревья связывают с возникновением водного дефицита, нарушением минерального питания, извлечением углеводов из ксилемного сока дерева-хозяина [2]. Такие изменения наряду с действием других неблагоприятных факторов городской среды могут приводить к развитию в клетках деревьев окислительного стресса.

В настоящей работе исследовалось накопление активных форм кислорода, малонового диальдегида и активности некоторых антиоксидантных ферментов в коре деревьев липы сердцевидной (*Tilia cordata* Mill.), клена остролистного (*Acer platanoides* L.) и тополя черного (*Populus nigra* L.) на поражение их омелой белой (*Viscum album* L. subsp. *album*). Для каждого вида отбор проб проводился с деревьев, сильно пораженных омелой (более 50 кустов омелы на дерево), с деревьев с низкой степенью поражения (менее 10 кустов на дерево) и с деревьев без поражения (контроль). Для исследования использовали кору, включающую камбий, внутренний слой коры и корку. Отобранные пробы гомогенизировали в жидком азоте и до анализа хранили при температуре –80 °С. Определение содержания пероксида водорода, супероксидного анион-радикала, малонового диальдегида и активности ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы и гваякол-пероксидазы) проводили согласно [3]. Статистический анализ данных проводили в программе Excel и OriginPro 2019b с применением теста Тьюки для оценки достоверности различий.

В образцах *T. cordata* и *P. nigra* более высокий уровень пероксида водорода был зафиксирован только при сильном поражении деревьев, тогда как в *A. platanoides* повышение H_2O_2 наблюдалось уже при низкой степени зараженности. Достоверно более высокий уровень супероксидного анион-радикала по сравнению с контролем установлен только в коре *A. platanoides*. В целом, изменение содержания малонового диальдегида в коре веток всех исследованных видов при поражении их омелой было схожим с изменением содержания H_2O_2 . Для деревьев *T. cordata* и *P. nigra* с низкой степенью поражения омелой наблюдалось повышение активности каталазы по сравнению с контролем; при сильном поражении деревьев активность этого фермента была ниже. Для деревьев *A. platanoides* при низкой степени инфицированности активность каталазы снижалась, а при высокой степени поражения омелой – достоверно не изменялась по сравнению с контрольными деревьями. Реакция супероксиддисмутазы была менее выраженной. Достоверно более низкая активность выявлена в коре *A. platanoides*, в образцах двух других видов деревьев активность фермента не отличалась от контроля. Активность пероксидазы значительно увеличивалась только в образцах коры *A. platanoides* (в 1,6–1,9 раз по сравнению с контролем). Таким образом, полученные в данном исследовании результаты свидетельствуют об интенсификации окислительных процессов в коре деревьев *T. cordata*, *A. platanoides* и *P. nigra*, особенно при

сильном поражении омелой белой. Изменение активности антиоксидантных ферментов как ответ на развитие окислительного стресса было видоспецифичным. У *T. cordata* и *P. nigra* более выраженной была реакция каталазы, у *A. platanoides* – пероксидазы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Калининградской области в рамках научного проекта № 19-44-390004 п_а.

Список литературы

1. Skrypnik L., Maslennikov P., Feduraev P., *et al.* // Plants. 2020. 9, 394.
2. Hu B., Sakakibara H., Takebayashi Y., Peters F.S., *et al.* // Tree Physiol. 2017. 37, 676.
3. Методы оценки антиоксидантного статуса: учеб.-метод. пособие, под ред. Н.В. Чукиной. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 67 с.

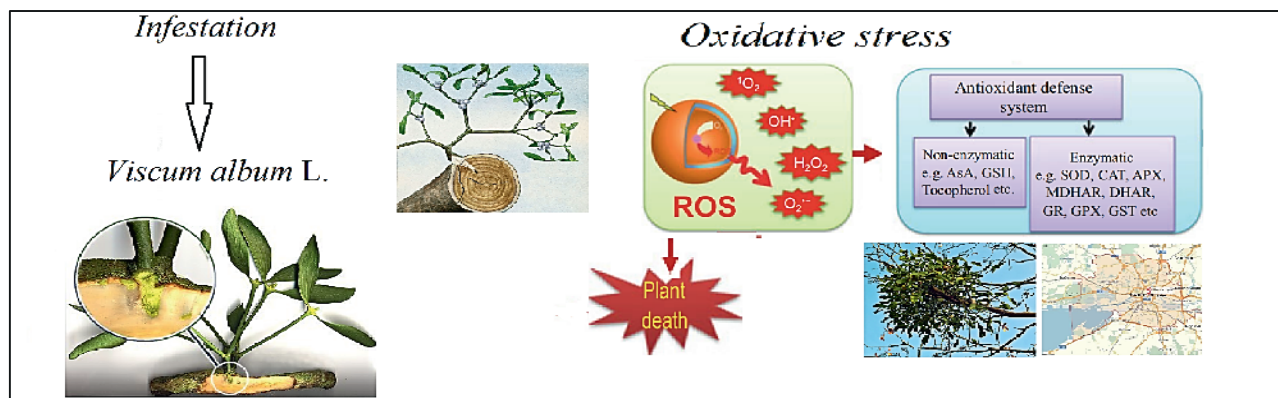
REDOX CHANGES IN THE BARK OF VARIOUS TREE SPECIES CAUSED BY WHITE MISTLETOE (*VISCUM ALBUM* L.) INFESTATION

Skrypnik L.N., Maslennikov P.V., Feduraev P.V., Pungin A.V., Belov N.S.

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Keywords: *Acer platanoides*, *Populus nigra*, *Tilia cordata*, antioxidative enzymes, oxidative stress.

The accumulation of reactive oxygen species, malondialdehyde and the activity of some antioxidant enzymes in the bark of *Tilia cordata*, *Acer platanoides* and *Populus nigra* under varying degrees of mistletoe white (*Viscum album* L. subsp. *album*) infestation were investigated. Sampling was carried out from trees with high degree of mistletoe infestation (more than 50 bushes per tree), from trees with a low degree of infestation (less than 10 bushes per tree) and from trees without mistletoe (control). Significant higher levels of hydrogen peroxide and malondialdehyde were revealed in the bark of *T. cordata* and *P. nigra* by high degree of infestation in comparison with the control. In the bark of *A. platanoides* H_2O_2 and malondialdehyde accumulated already at the initial level of mistletoe infestation. A significantly higher level of superoxide anion radical was determined only in the bark of *A. platanoides*. In the bark of *T. cordata* and *P. nigra* an increase in catalase activity by low degree of infestation and decrease in activity by high degree of infestation were observed. In the bark of *A. platanoides* the activity of catalase decreased under low degree of infection. Under high degree of infestation the activity of catalase did not change significantly in comparison with the control. The response of superoxide dismutase to mistletoe infestation was not significant. The peroxidase activity significantly increased with increasing the tree infestation by mistletoe only in the bark of *A. platanoides*. Thus, the change in the activity of antioxidant enzymes depended on tree species.



УДК 58.071

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ С ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ РОДА *BACILLUS*

Сорокань А.В.^{*}, Бурханова Г.Ф., Благова Д.К., Максимов И.В.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение УФИЦ РАН,
Уфа, Россия

^{*}E-mail: fourtyanns@googlemail.com

Ключевые слова: *Bacillus*, перекись водорода, супероксид радикал, сурфактин, эндофиты.

Реакция растений на контакт с эндофитными бактериями и механизмы, позволяющие эндофитам проникать во внутренние ткани растений, не вызывая иммунного ответа, и микробных детерминант, обеспечивающих этот процесс, представляют большой интерес. Роль активных форм кислорода в защитных реакциях растений при действии патогенных микроорганизмов хорошо изучена, однако информации об их участии во взаимодействии с эндофитами практически отсутствует. Было продемонстрировано, что генерация активных форм кислорода, НАДФ-Н оксидазой эндофита *Epichloë festucae*, необходима для инактивации защитных реакций растений-хозяев [1].

Для исследования роли липопептида сурфактина во взаимодействии с растением-хозяином использовали штаммы *Bacillus subtilis* 26Д (синтезирующий сурфактин), полученные на его основе линии *B. subtilis* Sn и *B. subtilis* SFP с нарушенным синтезом сурфактина. Суспензии наносили на листья стерильных пробирочных растений картофеля сорта Ранняя Роза, выращенных на среде Муросиге-Скуга. Через 15 и 60 минут после контакта с бактериями была исследована локализация супероксид-радикала (путем окрашивания листьев нитросиним тетразолием) и перекиси водорода (по отложению окрашенного диаминабензида в присутствии пероксидазы хрена). Использовали микроскоп Biozero BZ 8100E. Концентрацию перекиси водорода измеряли с использованием красителя ксиленоловый оранжевый [2], количество КОЕ бактерий во внутренних тканях растений исследовали через 24 часа, как описано [2]. Статистическая обработка проводилась компьютерными программами фирмы StatSoft (Statistica 6.0) и Excel.

Было показано, что наиболее высокой способностью проникать во внутренние ткани растений обладал продуцирующий сурфактин штамм *B. subtilis* 26Д. Клеток рекомбинантного штамма, не продуцирующего сурфактин *B. subtilis* Sn содержалось в 4 раза меньше, чем *B. subtilis* 26Д, *B. subtilis* SFP – вдвое меньше, чем исходного штамма. В растениях картофеля, инокулированных суспензией клеток *B. subtilis* Sn и *B. subtilis* SFP, происходило повышение концентрации перекиси водорода в течение 60 минут после инокуляции, чего не наблюдалось после контакта с *B. subtilis* 26Д. В последнем случае наблюдалось слабое окрашивание нитросиним тетразолием преимущественно сосудистых пучков в месте контакта листьев с эндофитом, в то время как бактерии с нарушенным синтезом сурфактина способствовали окрашиванию так же клеток мезофилла. Под действием линий *B. subtilis* Sn и *B. subtilis* SFP наблюдалось окрашивание, свидетельствующее о генерации перекиси водорода, в замыкающих клетках устьиц и близлежащих клетках эпидермиса, через которые бактерии могут проникать в ткани растений.

Таким образом, продукция сурфактина обуславливает эффективную колонизацию растений картофеля бактериями *B. subtilis* 26Д, ингибируя развитие окислительного взрыва в растениях, который развивается в ответ на контакт с патогенными микроорганизмами.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ «Физиологические основы формирования симбиотических взаимоотношений растений картофеля с эндофитными бактериями рода *Bacillus*», No. 20-76-00003.

Список литературы

1. Tanaka A., Christensen M.J., Takemoto D., *et al.* // Plant Cell. 2006. 18, 1052.
2. Sorokan A.V., Burhanova G.F., Maksimov I.V. // Plant Pathol. 2018. 67, 349.

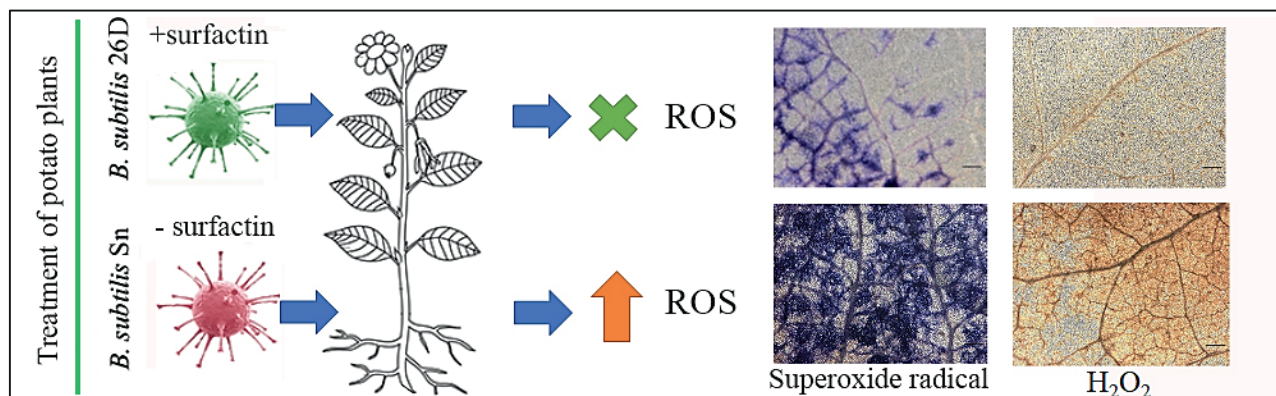
REACTIVE OXYGEN SPECIES IN THE INTERACTION OF POTATO PLANTS WITH ENDOPHYTIC BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS*

Sorokan A.V., Burkhanova G.F., Blagova D.K., Maksimov I.V.

Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Center
of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Keywords: *Bacillus*, hydrogen peroxide, superoxide radical, surfactin, endophytes.

The response of plants to contact with endophytic bacteria and the mechanisms that allow endophytes to penetrate into the internal tissues of plants without causing an immune response, and the microbial determinants that provide this process, are of great interest. To study the role of lipopeptide surfactin in interaction with the host plant (potato), we used strains of *Bacillus subtilis* 26D (synthesizing surfactin) and obtained on its basis lines *B. subtilis* Sn and *B. subtilis* SFP with impaired surfactin synthesis. The number of cells of the recombinant *B. subtilis* Sn strain was 4 times less than that of *B. subtilis* 26D; *B. subtilis* SFP – half that of the original strain. In potato plants inoculated with a suspension of *B. subtilis* Sn and *B. subtilis* SFP cells, there was a systemic increase of the concentration of hydrogen peroxide, and local generation of hydrogen peroxide and superoxide radical in leaves, on which a suspension of endophytic bacteria was sprayed, which was not observed after contact with *B. subtilis* 26D. Thus, the production of surfactin determines the effective colonization of potato plants by *B. subtilis* 26D bacteria, inhibiting the development of an oxidative burst, that occurs in pathogenic microorganisms attacks in potato plants.



УДК 581.14

АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗ III КЛАССА В УСЛОВИЯХ ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ ИОНОВ МЕДИ В РАСТЕНИЯХ *NICOTIANA TABACUM*

Тугбаева А.С.^{1*}, Ермошин А.А.¹, Киселева И.С.¹, Вируянган Х.²

¹Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

²Университет Внутренней Монголии, Хух-Хото, Китайская Народная Республика

*E-mail: anastasia.tugbaeva@urfu.ru

Ключевые слова: *Nicotiana tabacum*, акклимация, окислительный стресс, тяжелые металлы.

Адаптация растений к избытку тяжелых металлов в среде и их восстановление после элиминации стрессора представляет интерес в связи с масштабным загрязнением экосистем. Физиологические и морфологические реакции растений при действии стрессовых факторов хорошо изучены, однако информации о восстановлении растений после снятия действия стрессора значительно меньше. Сообщалось о рециркуляции ионов меди из стареющих органов в молодые, что может способствовать развитию окислительных процессов в разных органах даже после снятия действия стрессора [1]. Наше исследование направлено на изучение последствий ионов меди (100 и 300 μM) в растениях табака. Оценивался уровень маркеров стресса растений (содержание пероксида водорода, активность пероксидаз III класса – бензидиновой и гваяколовой, их изоформы) в период их восстановления после удаления ионов меди из среды.

Растения *Nicotiana tabacum* L. культивировали на субстрате – смесь перлит : вермикулит (1 : 1) на среде Кнопа с добавлением 0 (контроль), 100 и 300 $\mu\text{M}/\text{л}$ CuSO_4 в течение первых 20 дней после появления всходов, с последующим культивированием на среде Кнопа до достижения возраста 40 дней. Активность цитозольных и ассоциированных с клеточной стенкой гваяколовой (ГПО) и бензидиновой (БПО) пероксидазы, количество H_2O_2 определяли по стандартной методике в грубом экстракте [2, 3]. Белковый электрофорез проводили в неденатурирующих условиях в 10% полиакриламидном геле, изоформы пероксидаз выявляли по Lee и др. [4]. Анализ данных проводили в программе Excel и STATISTICA 10 для Windows 10 с применением *U*-критерия Манна-Уитни.

Выявлено увеличение концентрации пероксида водорода в тканях корня, стебля и листьев. Реакции корня и побега в условиях последствий стрессора отличались. Активность цитозольных ГПО и пероксидаз, ассоциированных с клеточной стенкой, повышалась на фоне увеличения содержания H_2O_2 в тканях корня. Увеличение активности пероксидаз III класса, ассоциированных с клеточной стенкой, в стебле, изоформ БПО в листьях наблюдали у растений, предобработанных более низкой концентрацией меди. Предварительная обработка высокой концентрацией меди, наоборот, приводила к снижению активности пероксидаз в период восстановления растений. Выявлены универсальные и специфичные изоформы пероксидаз для тканей корня, стебля и листьев. В случае предобработки растений 300 μM Cu^{2+} показано снижение ферментативной активности отдельных изоформ.

Таким образом, органы растений отличались по содержанию H_2O_2 и активности пероксидаз III класса, локализованных в разных компартментах (апопласт и цитозоль) и по способности восстанавливаться после снятия действия стрессора. Последствие избытка ионов меди привело к увеличению содержания пероксида водорода в тканях корня и побега, что свидетельствует о чувствительности *N. tabacum* к этому стрессору и неполному восстановлению растений в послестрессовый период.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № FEUZ-2021-0014).

Список литературы

1. Printz B., Lutts S., Hausman J.F., Sergeant K. // Front. Plant Sci. 2016. 7, 601.
2. Методы оценки антиоксидантного статуса: учеб.-метод. пособие, под ред. Н.В. Чукиной. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 67 с.
3. Goldfischer S., Essner R. // J. Histochem. Cytochem. 1969. 17, 681–685.
4. Lee B.-R., Kim K.-Y., Jung W.-J., *et al.* // J. Exper. Bot. 2007. 58(6), 1271–1279.

ACTIVITY OF CLASS III PEROXIDASES UNDER THE AFTEREFFECT OF COPPER IONS IN *NICOTIANA TABACUM* PLANTS

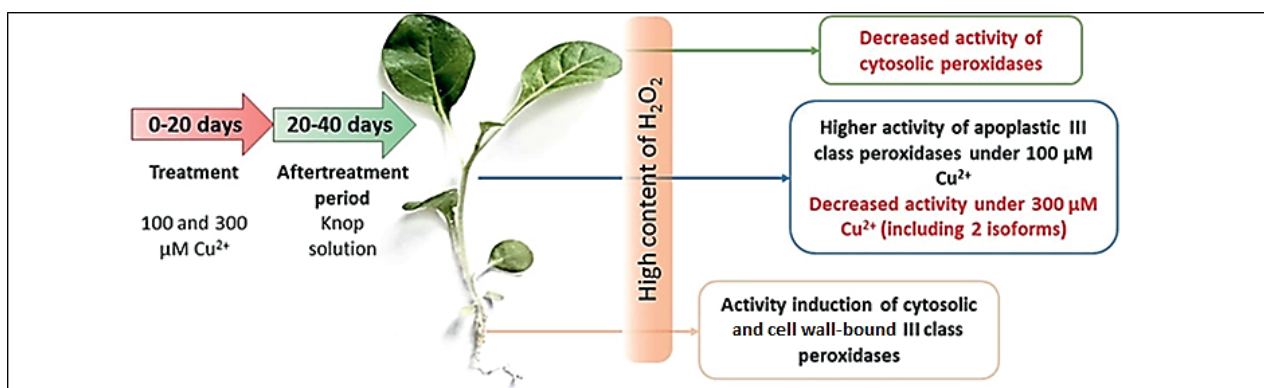
Tugbaeva A.S.¹, Ermoshin A.A.¹, Kiseleva I.S.¹, Viruyangan H.²

¹Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

²University of Inner Mongolia, Hohhot, China

Keywords: *Nicotiana tabacum*, acclimation, oxidative stress, heavy metals.

The adaptation of plants to an excess of heavy metals in the environment and their recovery after elimination of the stressor is of interest in connection with the large-scale pollution of ecosystems and their remediation. The study is aimed at the aftereffect of copper ions (100 and 300 μM) in plants of *Nicotiana tabacum* L. The level of plant stress markers (concentration of hydrogen peroxide, activity of class III peroxidases – benzidine and guaiacol, their isoforms) during recovery period after removal of copper ions from the environment was evaluated in pretreated by copper ions of different concentration and control plants. During the recovery period the concentration of hydrogen peroxide in plant organs (root, stem, and leaves) was high compared to the control. The responses of the roots and shoots under the aftereffect of the stressor was different. The activity of cytosolic guaiacol peroxidase and cell wall-bound isoforms in root tissues increased accordingly to the rise of H_2O_2 amount. In plants pretreated with a lower copper concentration in leaves the activity of cell wall-bound peroxidases in the stem, isoforms of benzidine peroxidases increased. Pretreatment with a high copper concentration, on the contrary, led to a decrease in the activity of peroxidases during the period of plant recovery. Thus, plant organs differed in the content of H_2O_2 and the activity of class III peroxidases localized in different compartments (apoplast and cytosol) and in their ability to recover after the removal of the stressor.



УДК 581.198

СУБСТРАТНОЕ СТИМУЛИРОВАНИЕ PAL КАК ПОДХОД К ИНТЕНСИФИКАЦИИ НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В РАСТЕНИЯХ *TRITICUM AESTIVUM*

Федураев П.В.^{*}, Пунгин А.В., Рябова А.В., Токупова Э.В., Скрыпник Л.Н., Масленников П.В.

Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

^{*}E-mail: pavel.feduraev@gmail.com

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., PAL, тирозин, фенилаланин, фенольные соединения.

Одной из принципиальных сельскохозяйственных культур, как в нашей стране, так и во всем мире, является пшеница (*Triticum aestivum* L.). Однако, наиболее типичной агротехнической практикой при культивировании пшеницы остается монокультурное выращивание. Такой тип культивирования сопряжен с рядом негативных эффектов, и в первую очередь со снижением устойчивости растений по отношению к факторам среды. Таким образом, остается актуальным поиск способов, направленных на увеличение устойчивости растений, который может быть реализован через интенсификацию биосинтеза регуляторных, в том числе, низкомолекулярных редокс-активных молекул.

Фенилаланин-аммиак-лиазы (PAL) является первым и ключевым регуляторным ферментом метаболизма фенилпропаноидов [1]. Ароматические аминокислоты, такие как фенилаланин и тирозин, являющиеся конечными звеньями шикиматного пути, выступают в качестве субстратов для PAL и играют для данного фермента роль своеобразных эффекторов, стимулируя синтез вторичных метаболитов [2]. Фактически, PAL осуществляет «переключение» от первичного метаболизма растения ко вторичному метаболизму, приводя к образованию широкого спектра вторичных метаболитов фенольной природы [3]. PAL может активироваться при различных воздействиях окружающей среды, что делает его отличным индуктором, запускающим реакции, направленные на синтез веществ, в конечном итоге влияющих на устойчивость растений. Таким образом в нашем исследовании оценивалась роль ароматических протеиногенных аминокислот, таких как фенилаланин и тирозин, на накопление фенольных соединений, через PAL опосредованный метаболический путь.

Для проведения лабораторных экспериментов семена *Triticum aestivum* L. проращивали в дистиллированной воде. Проростки в возрасте 3–4 дней пересаживали на перлит, пропитанный 50% питательным раствором Хогланда. Растения выращивали под люминесцентными лампами при плотности потоков квантов ФАР 200 мкмоль/(м² с), 16-часовом фотопериоде и температуре +25°C.

Для исследования отдельного влияния тирозина и фенилаланина на растения, использовались растворы аминокислот в концентрациях: 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800 мкМ. Растения в возрасте 30 дней (соответствует 4, 5 стадии по шкале Фики) переносили на экспериментальные растворы, с добавлением соответствующих аминокислот. Растения экспонировались на указанных субстратах с добавлением действующих веществ в течение 1, 2, 4 и 8 часов. В качестве контроля использовали 50% раствор Хогланда. В растениях измерялся эндогенный уровень аминокислот, а также уровень фенольных соединений различных классов. Далее, для уменьшения количества вариантов эксперимента, были выбраны такие концентрации аминокислот и время экспонирования, которые наилучшим образом влияли на накопление фенольных соединений, а также оказывают влияние на суммарный пул свободного тирозина и фенилаланина в экспериментальных растениях. Так, активность PAL и уровень экспрессии генов ассоциированных с синтезом фенольных соединений (*PAL6*, *CHS*, *CHI*, *F3H*, *DFR*) оценивался при 500 мкМ тирозина и фенилаланина, и 4 часовой экспозиции на соответствующих питательных растворах.

Количественный анализ фенольных соединений у экспериментальных растений пшеницы подтвердил положительное влияние фенилаланина и тирозина на накопление биологически активных компонентов тканей растений. Наблюдалось достоверное ($p \leq 0.05$) увеличение активности PAL в образцах пшеницы, экспонированных на фенилаланин- и тирозин-обогащенных средах.

Был также оценен уровень экспрессии генов, отвечающих за синтез фенольных соединения (*PAL6*, *CHS*, *CHI*, *F3H*, *DFR*). Количество транскриптов данной группы генов, после обработки аминокислотами увеличивалось в 1,5–7 раза, по сравнению с контролем. Наибольший уровень экспрессии был отмечен у генов *CHS* и *CHI*, отвечающих за раннюю стадию биосинтеза флавоноидов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Министерства экономического развития, промышленности и торговли Калининградской области (в рамках соглашения №28-с/2020) по проекту № 19-44-393001.

Список литературы

1. Kong J.Q. // RSC Advances. 2015. 5(77), 62587–62603.
2. Qian Y., Lynch J.H., Guo L., *et al.* // Nature communications. 2019. 10(1), 1–15.
3. Rohde A., Morreel K., Ralph J., *et al.* // The Plant Cell. 2004. 16(10), 2749–2771.

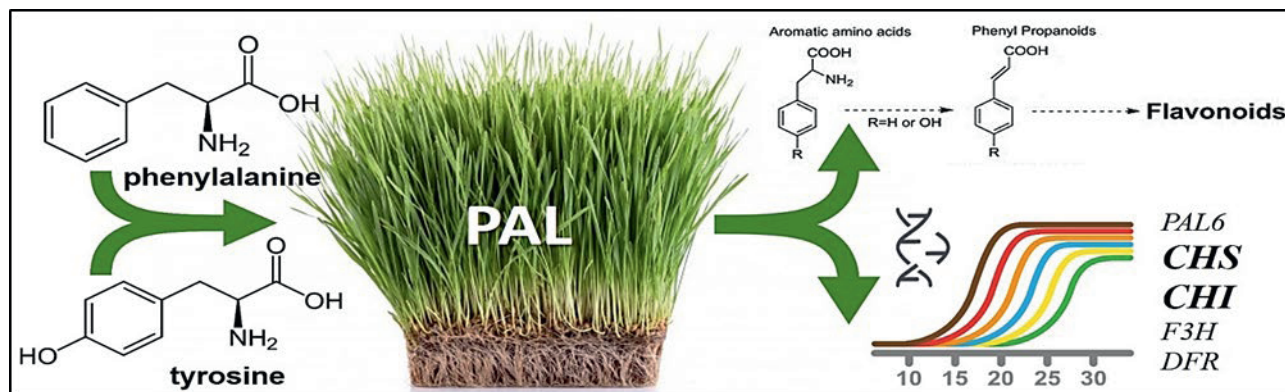
PAL SUBSTRATE STIMULATION AS AN APPROACH TO INTENSIFICATION OF PHENOLIC ANTIOXIDANTS ACCUMULATION IN TRITICUM AESTIVUM PLANTS

Feduraev P.V.*, Pungin A.V., Riabova A.V., Tokupova E.V., Skrypnik L.N., Maslennikov P.V.

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Keywords: *Triticum aestivum* L., PAL, tyrosine, phenylalanine, phenolic compounds.

The search for methods aimed at increasing the resistance of agricultural cereal plants, and in particular *Triticum aestivum* L., remains relevant. This approach can be implemented through the intensification of the biosynthesis of regulatory, including low-molecular-weight redox-active, molecules. PAL is a key regulatory enzyme in the metabolism of phenylpropanoids. Aromatic amino acids such as phenylalanine and tyrosine act as substrates for PAL and play the role of specific effectors for this enzyme, stimulating the synthesis of phenolic secondary metabolites. So it was shown that the introduction of aromatic amino acids into the nutrient medium led to a significant increase in the content of phenolic compounds. In addition, it was shown that the concentration of 500 μM phenylalanine and tyrosine in the nutrient medium, after four hours of exposure, also led to an increase in genes transcripts (*PAL6*, *CHS*, *CHI*, *F3H*, *DFR*), the enzymatic products of which are involved in the synthesis of flavonoids.



УДК 581.14

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ СОЕДИНЕНИЙ КОБАЛЬТА НА РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМ ПШЕНИЦЫ

Федяев В.В.^{1,2*}, Хаматдинова Г.И.¹, Сигова К.М.¹, Гарипова М.И.¹, Фархутдинов Р.Г.¹

¹Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

²Уфимский Институт биологии Российской академии наук, Уфа, Россия

*E-mail: vadim.fedyaev@gmail.com

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, адаптация, антиоксидантная система, кобальт.

Кобальт (Co) в высоких концентрациях оказывает повреждающее действие на большинство видов растений. Присутствие Co в почве может быть обусловлено как естественными геохимическими особенностями географического региона, так и антропогенными причинами: внесением удобрений, эксплуатацией авто- и авиатранспорта [1]. Токсическое влияние высоких концентраций Co на растения связано с целым рядом физиологических механизмов, таких как нарушение фотосинтеза, водного обмена, минерального питания (из-за изменения поглощения ионов кальция и железа) и т.д. [2]. Как переходный элемент, кобальт может находиться в почве в формах Co^{2+} и Co^{3+} . Например, комплексное соединение Co(II)ЭДТА в почве может превращаться в более стабильную и подвижную форму – Co(III)ЭДТА [3].

Одним из ведущих повреждающих эффектов, возникающим у растений под влиянием высоких концентраций тяжелых металлов и, в частности, кобальта, является изменение окислительно-восстановительных процессов проявляющегося как в повышении содержания активных форм кислорода (АФК), так и изменении активности соответствующих ферментов [4].

Целью данной работы было изучение некоторых параметров про-/антиоксидантной системы корней растений пшеницы в условиях повышенного содержания различных форм кобальта.

Объектами исследования были 10-суточные растения *Triticum aestivum* L. сорта Казахстанская 10. Растения выращивали методом гидропоники на питательной среде Хогланда-Арнона без добавления источника железа и микроэлементов. Кобальт в концентрации 250 мкМ вносили в виде CoCl_2 , Co(II)ЭДТА или Co(III)ЭДТА . Co(III)ЭДТА синтезировали по методу Taylor и Jardine [3]. Определение параметров про-/антиоксидантной системы проводили описанными ранее методами [5].

Показано значительное снижение ростовых параметров растений под влиянием CoCl_2 . В тоже время уменьшение сухой массы и длины побегов и корней в присутствии Co(III)ЭДТА и особенно Co(II)ЭДТА было менее выражено по сравнению с контролем.

По результатам определения параметров про-/антиоксидантной системы был сделан вывод о наибольшем повреждающем воздействии CoCl_2 на корни растений, чему соответствовало самое значительное увеличение содержания супероксид-аниона и пероксида водорода и минимальная активность супероксиддисмутазы, гваякорпероксидазы и каталазы, по сравнению с растениями остальных вариантов.

Сравнение воздействия на корни растений Co(II) - и Co(III)ЭДТА позволило выявить больший негативный эффект Co^{3+} -соединения, проявлявшийся в более низкой активности вышеперечисленных ферментов и относительно более высоком уровне содержания АФК.

Таким образом, показано снижение токсичности кобальта в составе ЭДТА-комплексов, а также различие реакции растений на воздействие кобальта с разной степенью окисления в составе таких комплексов.

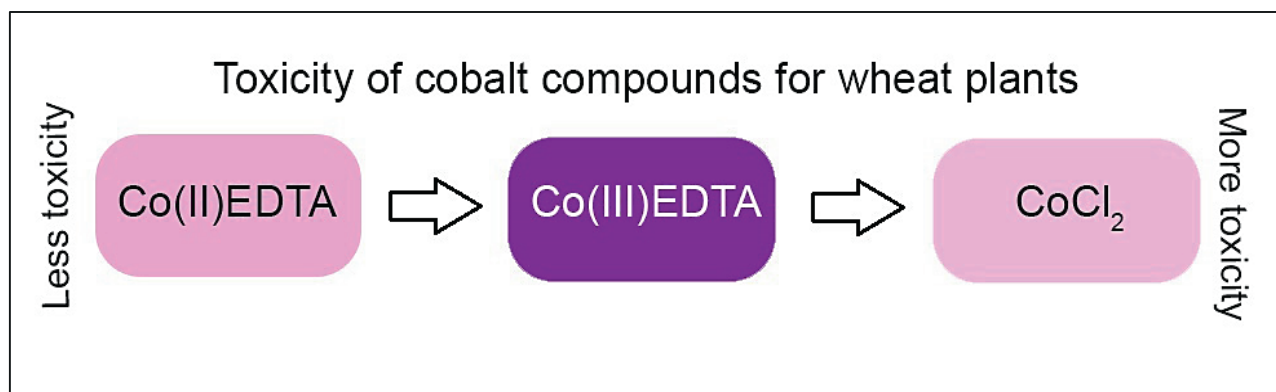
Список литературы

1. Lwalaba J.L.W., Zvogbo G., Mulembo M., *et al.* // J. Plant Nutrit. 2017. 40(15), 2192–2199.
2. Akeel A., Jahan A. Role of cobalt in plants: its stress and alleviation. *In Contaminants in Agriculture*, ed. by Naeem M., Ansari A., Gill S. Springer, Cham., 2020, 339–360.
3. Taylor D.L., Jardine P.M. // J. Environ. Qual. 1995. 24, 789–792.
4. Shahid M., Pourrut B., Dumat C., *et al.* Heavy-metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. ed. by Whitacre D. Vol. 232. Springer, Cham. 2014, 1–44.
5. Федяев В.В., Фархутдинов Р.Г., Массалимов И.А., *и др.* // Изв. ВУЗ. Приклад. хим. и биотехнол. 2018. 8(2), 55–62.

EFFECT OF HIGH CONCENTRATIONS OF COBALT COMPOUNDS ON WHEAT REDOX METABOLISM

Fedyayev V.V.^{1,2}, Khamatdinova G.I.¹, Sigova K.M.¹, Garipova M.I.¹, Farkhutdinov R.G.¹¹Bashkir State University, Ufa, Russia²Ufa Institute of Biology, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia**Keywords:** *Triticum aestivum*, adaptation, antioxidant system, cobalt.

Cobalt (Co) in high concentrations is harmful to most plant species. The toxic effect of high concentrations of Co on plants is associated with a number of physiological mechanisms, such as impaired photosynthesis, water metabolism, mineral nutrition (due to changes in the absorption of calcium and iron ions), etc. As a transition element, cobalt can be found in the soil in the forms Co^{2+} and Co^{3+} . For example, the complex compound Co(II)EDTA in soil can be converted into a more stable and mobile form – Co(III)EDTA . Based on the results of determining the parameters of the pro / antioxidant system, it was concluded that the greatest damaging effect of CoCl_2 on plant roots, which corresponded to the most significant increase in the content of superoxide anion and hydrogen peroxide and the minimum activity of superoxide dismutase, guaiacol peroxidase, and catalase, in comparison with plants of other variants. Comparison of the effect on plant roots of Co(II) - and Co(III)EDTA revealed a greater negative effect of the Co^{3+} -compound, which manifested itself in a lower activity of the above enzymes and a relatively higher level of ROS. Thus, a decrease in the toxicity of cobalt in the composition of EDTA-complexes was shown, as well as a difference in the response of plants to the action of cobalt with different oxidation states in the composition of such complexes.



УДК 582.32

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ МХОВ

Хабибрахманова В.Р.^{1,2*}, Гурьянов О.П.¹, Ренкова А.Г.¹, Валитова Ю.Н.¹, Минибаева Ф.В.¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

²Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия

*E-mail: venerakhabirakhmanova@gmail.com

Ключевые слова: антирадикальная активность, вторичные метаболиты, мхи.

Бриофиты представляют особый интерес для исследования, так как являются растениями-экстремофилами. Высокая стрессоустойчивость мхов определяется наличием в их составе уникальных вторичных метаболитов, среди которых присутствуют разнообразные по структуре терпены, необычные жирные кислоты, фенольные соединения и др. [1–3]. В связи с этим, актуальным является исследование метаболомного состава бриофитов, в частности, определение соединений, которые обладают антиоксидантной активностью и обеспечивают эффективную защиту мхов от последствий окислительного стресса, возникающего при действии различных неблагоприятных факторов биотической и абиотической природы. Целью исследования являлось выделение и идентификация вторичных метаболитов мхов, проявляющих выраженные антиоксидантные свойства. Лесные мхи, такие как *Dicranum scoparium*, *Pleurozium schreberi* и *Hylocomium splendens*, а также болотный мох *Sphagnum magellanicum*, часто составляют 65% растительности лесной подстилки, что обусловило выбор этих мхов для исследования метаболомного состава.

Образцы мхов измельчали и проводили последовательное исчерпывающее экстрагирование гексаном, хлороформом, этилацетатом и этанолом. Выход экстрактивных веществ определяли гравиметрически. Антирадикальную активность экстрактов из мхов определяли спектрофотометрическим методом по реакции восстановления свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ). Состав метаболитов в экстрактах мхов исследовали методом инструментальной высокоэффективной тонкослойной хроматографии (CAMAG, Switzerland). Для дериватизации использовали общий неспецифический проявитель – 5% раствор серной кислоты в этаноле и 0,05% раствор ДФПГ в этаноле для обнаружения соединений, обладающих антирадикальной активностью.

Установлено, что наибольшее количество экстрактивных веществ извлекается при экстрагировании органическими растворителями мха *D. scoparium*. Всего было получено 13,9% экстрактивных веществ, наибольшую долю в них занимают вещества, извлекаемые этанолом и гексаном – 44 и 28%, соответственно. Оценка антирадикальных свойств полученных экстрактов в отношении ДФПГ показала, что во всех мхах самую высокую активность проявляют гексановые экстракты. Исследование их состава с помощью тонкослойной хроматографии позволило установить, что они содержат различные липофильные соединения, в т.ч. жирные кислоты, терпеноиды, стеринны и углеводороды. Наибольшее количество жирных кислот (около 22%) содержит гексановый экстракт мха *D. scoparium*. Отличительной особенностью гексанового экстракта *H. splendens* являлось самое высокое содержание терпеноидов и стериннов – 17,1% и 5,6% соответственно. Дериватизация ТСХ пластин раствором ДФПГ показала, что основной вклад в антирадикальную активность гексановых экстрактов мхов вносят каротиноиды. Их наибольшее количество обнаружено в гексановом экстракте мха *H. splendens*, проявляющего самую высокую антирадикальную активность среди полученных экстрактов мхов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-04-00988, гранта Президента РФ МК-264.2020.4

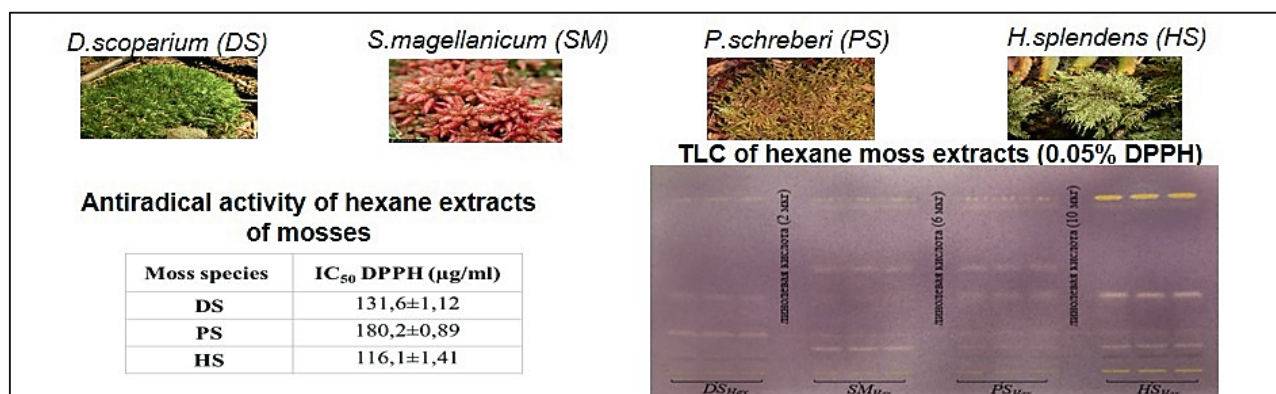
Список литературы

1. Asakawa Y., Ludwiczuk A. // J. Nat. Prod. 2016. 12, 1046–1086.
2. Xie C.F., Lou H. X. // Chem. Biodivers. 2009. 6, 303–312.
3. Asakawa Y., Ludwiczuk A., Nagashima F. // Phytochemistry. 2013. 91, 52–80.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT POTENTIAL OF SECONDARY METABOLITES FROM MOSSES

Khabibrakhmanova V.R.^{1,2}, Gurjanov O.P.¹, Renkova A.G.¹, Valitova J.N.¹, Minibayeva F.V.¹¹Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, Kazan, Russia²Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia**Keywords:** antiradical activity, mosses, secondary metabolites.

Bryophytes are of particular interest for research since they are extremophilic plants. Their high stress resistance is facilitated by the presence of unique secondary metabolites. A study of the metabolomic composition of bryophytes can help to discover the compounds that possess antioxidant activity and provide protection of mosses from oxidative stress induced by adverse factors. The aim of current study was to isolate and identify secondary metabolites from of the mosses *Dicranum scoparium*, *Pleurozium schreberi*, *Hylocomium splendens* and *Sphagnum magellanicum*, and assess their antioxidant properties. It was found that, regardless of the moss species, the lipophilic compounds extracted by hexane display the highest antiradical activity against the free radical of DPPH. Using thin-layer chromatography (TLC) it was found that the lipophilic compounds of hexane extracts from all moss species are similar in composition but differ in their quantitative content. Hexane extract from the moss *D. scoparium* contains the largest amount of fatty acids (about 22%). A distinctive feature of the hexane extract from *H. splendens* was the highest content of terpenoids and sterols – 17.1% and 5.6%, respectively. The derivatization of TLC plates with DPPH solution showed that among the lipophilic compounds extracted from mosses by hexane, carotenoids exhibit pronounced antiradical activity. The highest level of carotenoids was found in the hexane extract from the moss *H. splendens*, which displayed the highest anti-radical activity among the other moss extracts.



УДК 581.1

УЧАСТИЕ ФОТОДЫХАНИЯ В АДАПТАЦИИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ К НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Холопцева Е.С.^{*}, Игнатенко А.А., Таланова В.В.

Институт биологии – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр
Российской академии наук», Петрозаводск, Россия

^{*}E-mail: holoptseva@krc.karelia.ru

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., антиоксидантная система, низкая температура, окислительный стресс, фотодыхание.

В последние годы некоторыми авторами рассматривается вопрос об участии фотодыхания в защите клеток растений от окислительного стресса, развивающегося в ответ на действие неблагоприятных факторов окружающей среды. В условиях Севера одним из основных стресс-факторов является низкая температура. Однако, исследования, посвященные участию фотодыхания в защите растений от охлаждения немногочисленны [1] и недостаточно полно раскрывают его роль в регуляции уровня окислительного стресса. В связи с этим, целью данной работы явилось изучение участия фотодыхания в адаптации растений пшеницы к условиям низкой температуры.

Опыты проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе. По достижении недельного возраста проростки в течение 7 суток подвергали действию низкой температуры (4 °C). О холодоустойчивости судили по температуре, вызывающей гибель 50 % палисадных клеток (LT₅₀) [2]. Уровень перекисного окисления липидов оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) [3]. Активность гваякол-зависимой пероксидазы (ГПО) анализировали, используя в качестве субстрата гваякол [4]. Устьичную проводимость и содержание CO₂ в межклетниках изучали с помощью портативной фотосинтетической системы HSM-1000. Интенсивность видимого фотодыхания рассчитывали как разность между максимальным выходом CO₂ в течение 3 мин после выключения света и темновым дыханием (по установившемуся уровню CO₂ через 7–10 мин после выключения света) [5].

Установлено, что холодоустойчивость растений пшеницы повышалась уже в начальный (1–24 ч) период действия температуры 4 °C, в дальнейшем она также продолжала возрастать, достигая максимума на 7 сут. В клетках пшеницы, подвергнутой охлаждению, наблюдалось увеличение уровня окислительного стресса, о котором судили по накоплению МДА, однако к концу закаливания его содержание снижалось. Выявлено, что уже через 1 ч от начала действия температуры 4 °C происходило уменьшение устьичной проводимости, содержания CO₂ в межклетниках листьев и интенсивности фотодыхания. С увеличением продолжительности низкотемпературного закаливания интенсивность фотодыхания постепенно повышалась и к концу опыта (5–7 сут) превышала исходные значения, тогда как устьичная проводимость и содержание CO₂ в межклетниках оставались на пониженном (относительно исходного) уровне в течение всего опыта. Кроме того, в условиях действия низкой температуры, в листьях озимой пшеницы наблюдалось повышение активности ГПО.

На основании полученных данных, сделан вывод о том, что активизация работы АОС и поддержание повышенного уровня фотодыхания в листьях пшеницы под влиянием низкой температуры на фоне снижения устьичной проводимости и содержания CO₂ в межклетниках может содействовать защите клеток растений от развивающегося в этих условиях окислительного стресса, что в конечном итоге приводит к увеличению холодоустойчивости.

Исследования выполнены на научном оборудовании ЦКП ФИЦ КарНЦ РАН. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (тема № 0218-2019-0074).

Список литературы

1. Voss I., Sunil B., Scheibe R., Raghavendra A.S. // Plant Biol. 2013. 15, 713–722.
2. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию: методическая разработка. Составители: Балагурова Н.И., Дроздов С.Н., Хилков Н.И. Петрозаводск: Кар. фил. АН СССР, 1982. 6 с.
3. Stewart R.R.C., Bewley J.D. // Plant Physiol. 1980. 65, 245–248.
4. Maehly A.C., Chance B. // Meth. Biochem. Anal. 1954. 1, 357–424.
5. Балаур Н.С., Воронцов В.А., Клейман Э.И., и др. // Физиол. раст. 2009. 56(3), 466–470.

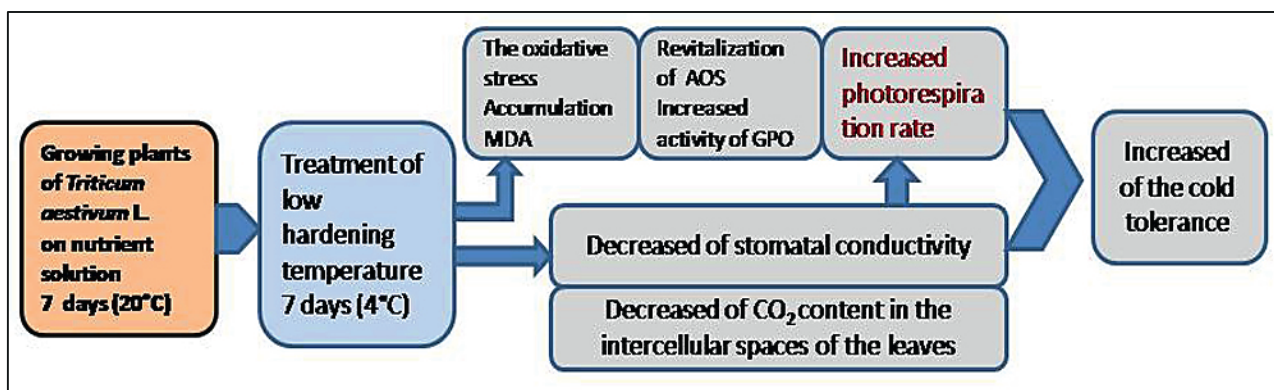
INVOLMENT OF THE PHOTORESPIRATION IN ADAPTATION OF WHEAT SEEDLINGS TO LOW TEMPERATURE

Kholoptseva E.S., Ignatenko A.A., Talanova V.V.

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences,
Petrozavodsk, Russia

Keywords: *Triticum aestivum* L., antioxidant system, low temperature, oxidative stress, photorespiration.

We studied the effect of low temperature (4 °C) on the tolerance, antioxidant system (AOS) and visible photorespiration intensity of leaves winter wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). It was established that the cold tolerance of wheat plants increased in the initial (1–24 hours) period of temperature action, further it also continued to increase, reaching a maximum on the 7 day. In wheat cells subjected to cold exposure, an increase in the oxidative stress level was observed, which was defined by the malondialdehyde (MDA) accumulation, but by the end of hardening its content decreased. It was revealed that through 1 h from the onset of the temperature of 4 °C the stomatal conductivity, content of CO₂ in the intercellular spaces of the leaves and photorespiration intensity decreased. With an increase in the duration of low temperature hardening, the photorespiration rate gradually increased and exceeded the initial values by the end of the experiment (5–7 days), while the stomatal conductivity and CO₂ content in the intercellular spaces remained at a lower level throughout the entire experiment. In addition, at low temperature conditions, an increase in the activity of guaiacol-specific peroxidase was observed in the wheat leaves. It was concluded that the AOS activation and the maintenance of an increased level of photorespiration in wheat leaves under low temperature conditions against the background of a decrease in stomatal conductivity and CO₂ content in intercellular spaces can promote the cells protect from oxidative stress developing at these conditions and leads to an increase plant cold tolerance.



УДК 581.14

ПРООКСИДАНТНЫЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ РЕАКЦИИ *PINUS SYLVESTRIS* L. НА ЗОЛЬНЫХ СУБСТРАТАХ

Чукина Н.В.^{*}, Климова В.Н., Елькина А.В.

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,

Екатеринбург, Россия

^{*}E-mail: nady_dicusar@mail.ru

Ключевые слова: *Pinus sylvestris* L., антиоксидантная система, низкомолекулярные антиоксиданты, техногенные субстраты.

В настоящее время активная деятельность человека приводит к возникновению техногенных ландшафтов, оказывающих неблагоприятное влияние на биосферу и здоровье человека. Наиболее опасными являются золоотвалы тепловых электростанций, субстрат которых не благоприятен для произрастания на нем растений из-за высокого содержания тяжелых металлов, недостатка биогенных элементов [1, 2]. Существование растений в данных техногенных местообитаниях неизбежно приводит их к стрессовому состоянию, и как следствие, в растительных клетках усиливается процесс образования активных форм кислорода (АФК) [3]. Для предотвращения негативных сдвигов редокс-баланса клетки, растения способны синтезировать антиоксиданты, различной природы, способные как непосредственно инактивировать АФК, так и участвовать в процессах репарации поврежденных макромолекул [4]. Цель нашего исследования – изучение про- и антиоксидантных реакций растений *Pinus sylvestris* L., произрастающих на золоотвале Верхнетагильской тепловой электростанции (ВТГРЭС) и в естественном местообитании.

Исследование проводилось на золоотвале ВТГРЭС (г. Верхний Тагил, Свердловская область) в двух ценопопуляциях. Нерекультивированный участок (возраст растительного сообщества более 35 лет), представлен смешанным лесом, сомкнутость крон древесных составляла 0,5–0,6 (ЦП 1). Рекультивированный участок золоотвала ВТГРЭС (возраст около 45 лет), на котором проводилась частичная биологическая рекультивация, путем нанесения глины, также представлен смешанным лесом (ЦП 2). Сомкнутость крон древесных составляла 0,6–0,7, местами до 0,8. Контрольная ценопопуляция (ЦП 3) произрастала в естественном смешанном лесу, вблизи деревни Белоречка (возраст растительного сообщества 80-100 лет), в 8 км от г. Верхний Тагил, сомкнутость крон составляла 0,5–0,6 [2].

У примерно одновозрастных растений сосны обыкновенной из исследованных ценопопуляций определяли уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) как маркера стресса, содержание низкомолекулярных антиоксидантов: пролина, растворимых фенольных соединений и флавоноидов. Для анализа использовали свежую двухлетнюю хвою *P. sylvestris*. Количество продуктов ПОЛ, содержание свободного пролина, растворимых фенольных соединений и флавоноидов определяли согласно стандартным методам [4]. Анализ полученных результатов проводили в программе Excel и STATISTICA 10.0 с применением однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA).

Выявлено, что в хвое сосны, произрастающей в условиях золоотвала, особенно на нерекультивируемом участке (ЦП1), наблюдалось повышенное содержание продуктов ПОЛ, что свидетельствует о сдвиге редокс-баланса в сторону окислительных процессов и развитии хронического окислительного стресса. Количество фенольных соединений и флавоноидов в хвое растений из нерекультивированного участка золоотвала было в 1,7 раза выше по сравнению с растениями из рекультивированного и контрольного участков. Содержание в хвое пролина у растений из трансформированных экосистем было ниже по сравнению с контролем, что, вероятно, связано с усилением процессов деградации этого антиоксиданта, либо с нарушением его синтеза в условиях техногенного стресса.

Таким образом, растения *P. sylvestris* обладают достаточно высоким адаптивным потенциалом, о чем свидетельствует повышенный синтез таких низкомолекулярных антиоксидантов, как фенольные соединения, в частности флавоноидов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ и Правительства Свердловской области (проект № 20-44-660011) и Министерства науки и высшего образования РФ в рамках ГЗ УрФУ (FEUZ-2020-0057).

Список литературы

1. Махнев А.К. Экологические основы и методы биологической рекультивации золоотвалов тепловых электростанций на Урале / А.К. Махнев, Т.С. Чибрик, М.Р. Трубина, и др. – Екатеринбург: УрО РАН, 2002 – 356 с.
2. Малева М.Г., Борисова Г.Г., Филимонова Е.И., и др. // Междунар. науч.-исслед. журн. 2020. № 9(99). С. 88–94.
3. Милютин И. Л., Судачкова Н. Е., Романова Л. И. // Лесоведение. 2012. 3, 69–76.
4. Методы оценки антиоксидантного статуса: учеб.-метод. пособие, под ред. Н.В. Чукиной. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 67 с.

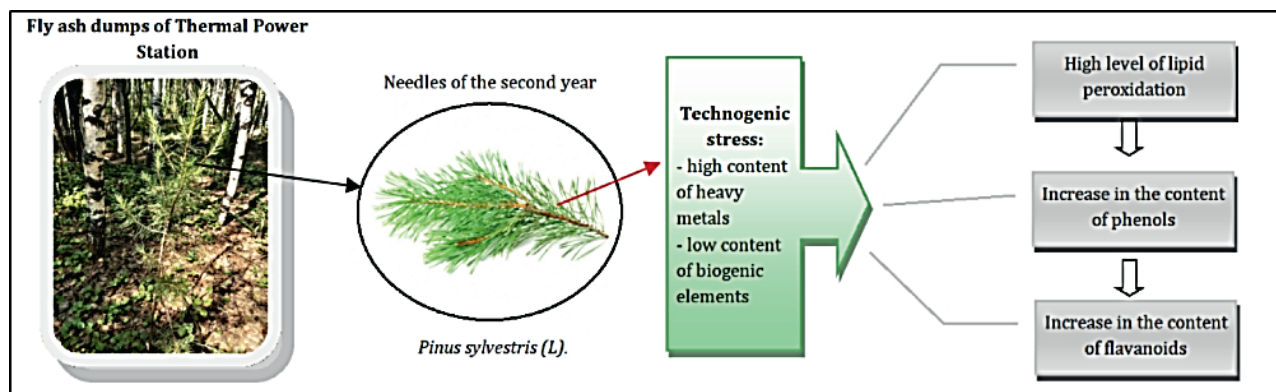
PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT REACTIONS OF *PINUS SYLVESTRIS* L. GROWING ON FLY ASH SUBSTRATES

Chukina N.V., El'kina A.V., Klimova V.N.

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin,
Yekaterinburg, Russia

Keywords: *Pinus sylvestris* L., antioxidant system, low-molecular-weight antioxidants, technogenic substrates.

An unfavorable growing conditions that formed on the ash dumps can cause stress in plants colonizing these man-made habitats. To prevent adverse effect of oxidative stress plants able to activate the antioxidant system. The content of low-molecular-weight antioxidants and the level of lipid peroxidation as stress marker were investigated in two-year-old needles of *Pinus sylvestris* L. growing in the fly ash dumps of Verkhnetagil'skaya Thermal Power Station (VTTPS) and in natural forest as a control habitat. It was shown that the level of lipid peroxidation in *P. sylvestris* growing on ash substrates was higher in comparison with plants from the control habitat. This indicates the negative impact of the conditions which formed in these technogenic habitats. In spite of that, plants from nonrecultivated site of VTTPS are characterized by increased biosynthesis of phenolics and flavonoids which may indicate their high adaptive potential that enables them to grow on such adverse conditions.



УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ УФ-В РАДИАЦИИ НА КОМПОНЕНТЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЛИШАЙНИКОВ *PELTIGERA APHTHOSA* И *PELTIGERA RUFESCENS***Шелякин М.А.^{*}, Силина Е.В., Головки Т.К.**Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
Сыктывкар, Россия^{*}E-mail: shelyakin@ib.komisc.ru**Ключевые слова:** *Peltigera aphthosa*, *Peltigera rufescens*, альтернативный путь дыхания, антиоксидантные ферменты, перекисное окисление липидов, устойчивость.

Ультрафиолетовая (УФ) радиация относится к коротковолновой части солнечного спектра. Высокоэнергетические фотоны УФ-В излучения (280–315 нм) потенциально опасны для всех живых организмов. Известно, что лишайники устойчивы к действию неблагоприятных факторов среды, но их реакция на УФ-В радиацию исследована недостаточно, особенно это касается роли антиоксидантной системы. Мы провели сравнительное изучение эффектов экологически обоснованной дозы УФ-В радиации на прооксидантный статус, активность антиоксидантных ферментов и вовлечение энергетически мало эффективного альтернативного пути дыхания (АП) в талломах *Peltigera aphthosa* из лесного сообщества и *Peltigera rufescens*, обитающего на открытых участках пойменного луга.

Талломы предварительно адаптировали в течение трех суток при 25 °С и ФАР 80 мкмоль (м² с)⁻¹ под люминесцентными лампами. Затем часть талломов ежедневно в течение 10 суток экспонировали под УФ-лампами с максимумом спектра излучения в УФ-В области и мощностью 2 Вт м⁻². На протяжении всего эксперимента талломы опытной и контрольной групп поддерживали в гидратированном состоянии. Уровень липопероксидации (ПОЛ), содержание H₂O₂, активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) измеряли спектрофотометрически как описано в работах [1–4]. Изоформы ферментов изучали методом нативного электрофореза. Активность АП измеряли по поглощению O₂ с использованием метода специфических ингибиторов.

Содержание продуктов ПОЛ и активность Кат в контрольных талломах *P. rufescens* были выше в 2,5 и 5 раз соответственно, чем у *P. aphthosa*. Лишайники не отличались по содержанию H₂O₂ и активности СОД. С увеличением суммарной дозы УФ-В интенсивность ПОЛ в талломах *P. rufescens* не изменялась, тогда как в талломах *P. aphthosa* увеличивалась на 33%. Содержание H₂O₂ у обоих видов лишайников под влиянием УФ-В увеличивалось в среднем на 20%. Уровень активности СОД и КАТ в опытных талломах *P. rufescens* увеличивался в 1,5 и 2 раза соответственно. У *P. aphthosa* активность антиоксидантных ферментов не изменялась на протяжении всего эксперимента. В талломах обоих видов лишайников идентифицировали по две изоформы Fe- и Mn-СОД и одну изоформу КАТ. С увеличением суммарной дозы УФ-В количество изоформ Fe-СОД увеличивалось до трех у *P. rufescens* и четырех у *P. aphthosa*. У обоих видов отмечали повышение активности АП дыхания, что приводило к изменению соотношения основного (цитохромного) и энергетически мало эффективного АП. Вовлечение АП было сильнее выражено у *P. aphthosa*. Экспериментально доказано, что активация АП талломов под воздействием УФ-В была обусловлена в основном реакцией микобионта. Об этом свидетельствуют данные по изучению компонентов дыхания у изолированных из талломов клеток фотобионта. Усиление тока электронов через альтернативную оксидазу способствует снижению генерации активных форм кислорода в дыхании и поддержанию редокс-баланса [5].

Таким образом, нами впервые получены данные об эффектах UV-B излучения на антиоксидантную систему и соотношение дыхательных путей у лишайников, подвергающихся в природе разному уровню УФ нагрузки. Установлено, что у *P. aphthosa* было сильнее выражено вовлечение энергетически малоэффективного АП дыхания,

а у *P. rufescens* наблюдали повышение активности ферментов антиоксидантной системы. Это указывает на различия в адаптивной стратегии исследованных видов лишайников.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема НИОКТР № АААА-А17-117033010038-7).

Список литературы

1. Heath R.L., Packer L. // Arch. Biochem. 1968. 125, 189–198.
2. Bellincampi D., Dipierro N., Salvi G., Cervone F., et al. // Plant Physiol. 2000. 122, 1379–1386.
3. Beauchamp C., Fridovich I. // Anal. Biochem. 1971. 44, 276–287.
4. Aebi H. // Meth. Enzymol. 1984. 105, 121–126.
5. Maxwell D.P., Wang Y., McIntosh L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. 96, 8271–8276.

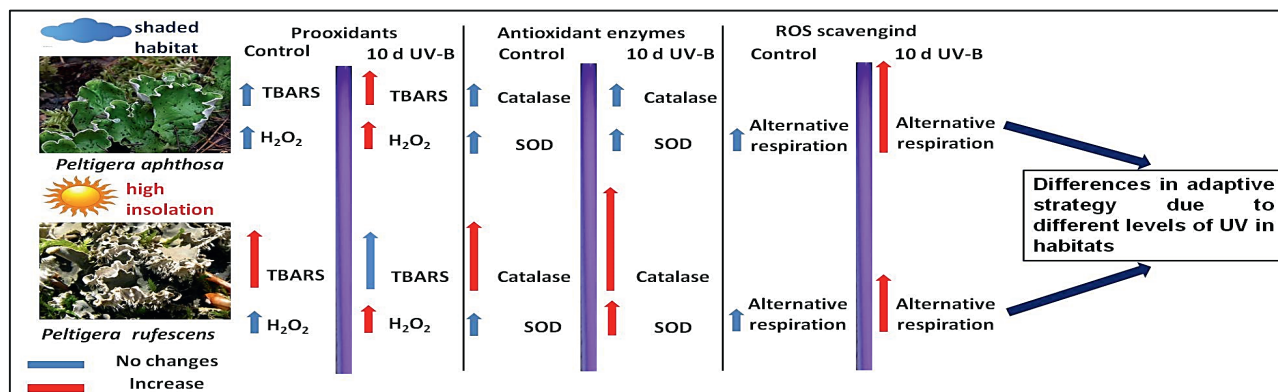
THE EFFECT OF UV-B RADIATION ON THE ANTIOXIDANT SYSTEM COMPONENTS IN *PELTIGERA APHTHOSA* AND *PELTIGERA RUFESCENS* LICHENS

Shelyakin M.A., Silina E.V., Golovko T.K.

Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

Keywords: *Peltigera aphthosa*, *Peltigera rufescens*, alternative respiratory pathway, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, resistance.

The high-energy photons of UV-B (280–315 nm) are potentially dangerous for all living organisms. The effect of UV-B radiation on lichens has not been studied sufficiently. We conducted a comparative study of the effects of a long-term (10 d) ecologically realistic dose of UV-B radiation on the accumulation of lipid peroxidation products (TBARS), H₂O₂ content, superoxide dismutase (SOD), catalase and alternative respiration (AP) activity in *Peltigera aphthosa* from the forest community and *Peltigera rufescens* from the open spaces of floodplain meadow. Increases in the SOD and catalase activity in the UV-B illuminated thalli of *P. rufescens* were revealed. The TBARS content in the UV-B treated thalli of *P. rufescens* did not differ from the control thalli and was 2.5 times higher than in *P. aphthosa*. In *P. aphthosa* thalli catalase and SOD activity did not change after UV-B exposure, and TBARS content increased by 33%. The activity of antioxidant enzymes isoforms was also higher in the impact thalli of *P. rufescens* as compared to *P. aphthosa*. In both lichens, an increase in the AP activity was observed. The AP involvement was more pronounced in *P. aphthosa*. The results of our study indicate the species-specific response in lichens, and differences in their resistance to oxidative stress, which were due to adaptation to the light regime in the typical habitats of these species.



УДК 582.933:57.017.32:504.5:[539.16+546.3]

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА *PLANTAGO MAJOR* L. ИЗ ЗОН РАДИОАКТИВНОГО И ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Шималина Н.С.* , Орехова Н.А., Позолотина В.Н.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

*E-mail: nadia_malina@mail.ru

Ключевые слова: *Plantago major*, загрязнение тяжелыми металлами, окислительный стресс, радиоактивное загрязнение, система антиоксидантной защиты.

Влияние ионизирующего излучения и тяжелых металлов на природные популяции растений изучено в многочисленных исследованиях, но работ по сравнению биологических эффектов в зонах влияния этих техногенных факторов известно немного. Ионизирующие излучения и тяжелые металлы различаются по физической природе и имеют разные механизмы взаимодействия с биотой на молекулярном уровне. При этом радиация и тяжелые металлы способны усиливать образование активных форм кислорода и вызывать окислительный стресс, поэтому эффективность работы антиоксидантных систем играет важную роль в устойчивости растений к этим техногенным факторам. Цель нашей работы – сравнительная оценка про- и антиоксидантного статуса семенного потомства подорожника большого (*Plantago major* L.), длительное время произрастающего в зонах радиоактивного (Восточно-Уральский радиоактивный след – ВУРС) и химического (зона влияния Карабашского медеплавильного завода – КМЗ) загрязнения, а также на фоновых территориях.

Собранные на реперных участках семена проращивали методом рулонной культуры на дистиллированной воде в течение 21 суток при +24 °С. Полученные проростки использовали для оценки про- антиоксидантного статуса семенного потомства. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов оценивали по содержанию малонового диальдегида [1], работу антиоксидантной системы – по активности трех ферментов: супероксиддисмутазы [2], каталазы [3] и общей пероксидазной активности [4], а также по суммарному содержанию низкомолекулярных антиоксидантов [5]. Анализ данных проводили с использованием критериев непараметрической статистики (U-тест Манна-Уитни, H-критерий Краскела-Уоллиса, тест Данна), а также метода главных компонент в программе STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., 2011).

Выявлены различия про- и антиоксидантного статуса семенного потомства *P. major* из зон с разным типом техногенного воздействия. У проростков из зоны радиоактивного загрязнения зафиксирован прооксидантный сдвиг, обнаружено более высокое содержание малонового диальдегида, повышенная активность супероксиддисмутазы и каталазы по сравнению с фоновыми растениями. У проростков из зоны химического загрязнения активности супероксиддисмутазы и каталазы были снижены по сравнению с фоновыми, а пероксидазная активность повышена. Усиление антиоксидантной защиты за счет низкомолекулярных антиоксидантов показано только в выборках ВУРСа. Полученные данные свидетельствуют о том, что специфика адаптивных ответов растений формируется за счет различий в индукции активных форм кислорода при действии радиации и тяжелых металлов.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН.

Список литературы

1. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in Enzymology*, ed. by S. Fleischer, L. Packer. New York: Academic Press, 1978. 52, 302–310.
2. Giannopolitis C.N., Ries S.K. // *Plant Physiol.* 1977. 59(2), 309–314.

3. Goth L. // Clinica Chimica Acta. 1991. 196, 143–152.
4. Попов Т., Нейковска Л. // Гигиена и санитария. 1971. 10, 89–91.
5. Ермаков А.И. Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. 429 с.

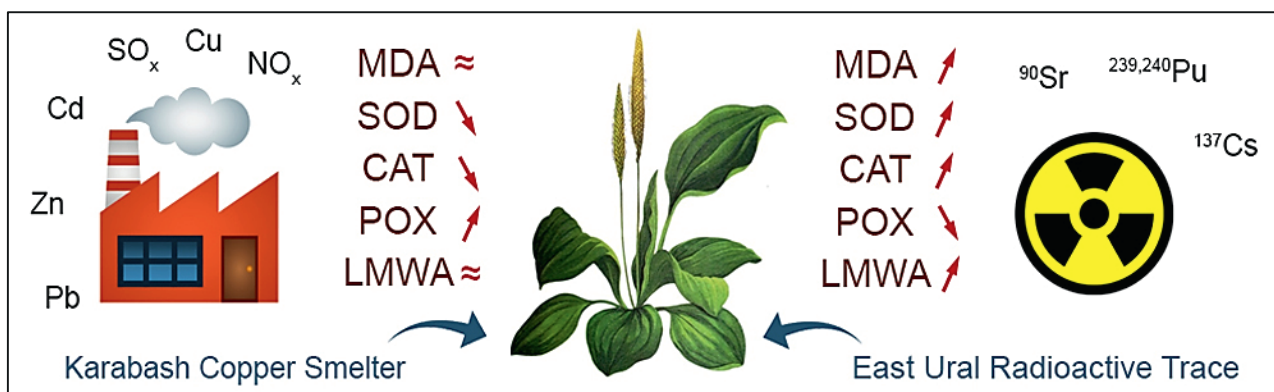
COMPARATIVE EVALUATION OF PROOXIDANT/ANTIOXIDANT BALANCE IN SEED PROGENY OF *PLANTAGO MAJOR* L. FROM RADIOACTIVELY AND CHEMICALLY CONTAMINATED AREAS

Shimalina N.S., Orekhova N.A., Pozolotina V.N.

Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the RAS, Ekaterinburg, Russia

Keywords: *Plantago major*, antioxidant protection system, heavy metal contamination, oxidative stress, radioactive contamination.

There are many studies addressing plant responses to radioactive and chemical contamination of soils, but few works have been devoted to comparison of biological effects in the areas affected by these factors. The efficiency of antioxidant systems plays an important role in plant resistance to these impacts. The aim of this study is a comparative evaluation of prooxidant/antioxidant balance in seed progeny of *Plantago major* growing in the East Ural Radioactive Trace (EURT), in the zone affected by operation of the Karabash Copper Smelter (KCS), and in the reference sites. Lipid peroxidation was assessed by determining malondialdehyde; evaluation of the antioxidant system was based on the activities of superoxide dismutase, catalase, and total peroxidase, and on the content of low-molecular-weight antioxidants. The study showed that the prooxidant and antioxidant statuses of *P. major* seed progeny from the contaminated sites were different from the reference samples and from each other. The EURT samples exhibited a prooxidant shift relative to the reference samples; not only malondialdehyde but also activities of superoxide dismutase and catalase and the content of low-molecular-weight antioxidants were higher than in the reference samples. Malondialdehyde content in seedlings from the KCS zone did not differ from the reference values; superoxide dismutase and catalase activities were decreased whereas peroxidase activity was higher compared to the activities of these enzymes in the reference samples. Thus, the differences in the plant adaptive responses to ionizing radiation and heavy metals are caused by the dissimilarities in the induction of reactive oxygen species.



УДК 574.24

РЕДОКС-РЕАКЦИИ *HYDROCHARIS MORSUS-RANAE* L. В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

Ширяев Г.И. *, Борисова Г.Г., Щукина Д.А.,
Чукина Н.В., Собенин А.В., Малева М.Г.

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,
Екатеринбург, Россия

*E-mail: schiriaev.grisha@yandex.ru

Ключевые слова: *Hydrocharis morsus-ranae*, неэнзиматические антиоксиданты, окислительный стресс, тяжелые металлы.

Адаптация водных растений к техногенному загрязнению является актуальной темой для исследований в связи с широким распространением гидроэкосистем, подверженных антропогенному воздействию. Действие на растения таких поллютантов, как тяжелые металлы (ТМ), может приводить к генерации активных форм кислорода (АФК), которые вызывают окислительный стресс в клетках. Способность растений к синтезу неэнзиматических антиоксидантов, таких как пролин, фенольные соединения, растворимые тиолы и пр. [1, 2], позволяет растениям выдерживать значительные техногенные нагрузки. Исследование направлено на изучение содержания некоторых неферментативных антиоксидантов в листьях *Hydrocharis morsus-ranae* при загрязнении среды металлами. Данный вид-плейстофит широко распространен на территории Евразии и северной Америки. Для *H. morsus-ranae* показана высокая устойчивость к действию ТМ, вследствие чего актуальным является изучение его ответных редокс-реакций.

Образцы поверхностных вод, седиментов и растительного материала отбирали на территории Челябинской области (Южный Урал) в июле 2018–2019 гг. на двух участках: оз. Иртяш (фон) и заводь р. Егоза (импакт). Содержание металлов в воде и седиментах определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой после мокрого озоления 70% HNO_3 (осч). Содержание продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида, МДА), свободного пролина, фенольных соединений, белковых и небелковых тиолов, каротиноидов определяли спектрофотометрически на PD-303UV («APEL», Япония), согласно стандартным методам [3–5].

Содержание Fe, Pb, Mn, Zn и Ni в поверхностных водах и седиментах импактного участка в среднем было выше в 2,5 раза и в большинстве случаев превышало ПДК для водных объектов рыбохозяйственного назначения.

Генерация АФК, вызываемая действием избыточных количеств ТМ, приводит к окислению липидов и других важнейших биомолекул [1]. На импактном участке содержание МДА в листьях *H. morsus-ranae* увеличивалось в 1,2 раза, что свидетельствует об окислительном повреждении клеточных мембран.

Поддержание концентрации образовавшихся в клетке АФК на достаточно низком уровне осуществляет многокомпонентная система антиоксидантной защиты, от состояния которой во многом зависит устойчивость растений к стрессовым воздействиям [1–3]. Синтез пролина является проявлением неспецифической реакции растений на стресс, в том числе на действие ТМ. Исследование показало, что в листьях растений из импактного участка содержание свободного пролина увеличивалось на 26%. Соединения, содержащие тиолы (небелковые и белковые) играют важную роль в редокс-регуляции у растений [2], а также участвуют в хелатировании ТМ и обезвреживании АФК. Отмечено существенное увеличение их количества у *H. morsus-ranae* из загрязненного участка.

Известно, что антиоксидантными свойствами обладают многие фенольные соединения. За счет ОН-групп фенолы могут участвовать в детоксикации АФК. Они могут также хелатировать ТМ и стабилизировать мембраны, что ограничивает диффузию свободных радикалов и снижает

интенсивность пероксидации липидов [6]. Известно, что при избыточных нагрузках происходит окислительная деградация этих соединений. В нашем случае отмечено снижение количества фенольных соединений у растений из импактного участка. Аналогичная тенденция наблюдалась в содержании каротиноидов.

Таким образом, изучение ответных редокс-реакций *H. morsus-ranae* на загрязнение среды металлами показало, что развитие окислительного стресса сопровождалось накоплением в клетках пролина и растворимых тиолов, что позволяет сделать заключение об их активной роли в формировании устойчивости плейстофита к техногенному воздействию.

Список литературы

1. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. // Ann. Bot. 2003. 91(2), 179–194.
2. Pradedova E.V., Nimaeva O.D., Salyaev R.K. // Russ. J. Plant Physiol. 2017. 64(6), 822–832.
3. Методы оценки антиоксидантного статуса растений: учеб.-метод. пособие, под ред. Н.В. Чукиной. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 67 с.
4. Lichtenthaler H.K. // Method. Enzymol. 1987. 148, 350–382.
5. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. // Method. Enzymol. 1999. 299, 152–178.
6. Michalak A. // Polish J. Environ. Stud. 2006. 15, 523–530.

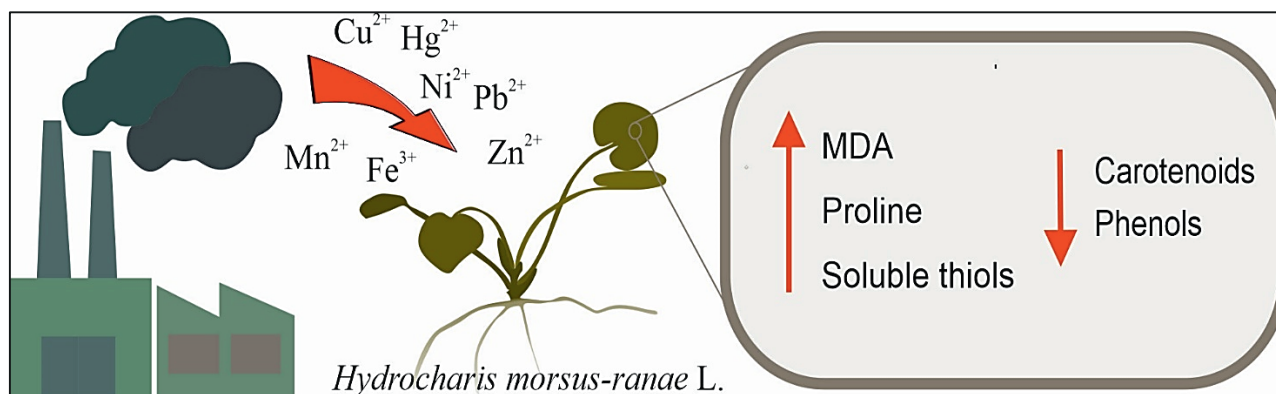
REDOX-REACTIONS OF *HYDROCHARIS MORSUS-RANAE* L. UNDER TECHNOGENIC POLLUTION

Shiryaev G.I., Borisova G.G., Shchukina D.A.,
Chukina N.V., Sobenin A.V., Maleva M.G.

Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia

Keywords: *Hydrocharis morsus-ranae*, non-enzymatic antioxidants, oxidative stress, heavy metals.

The adaptation of aquatic plants to technogenic pollution is an actual subject for research in connection with the abundance of territories subject to anthropogenic impact. The influence of some pollutants such as heavy metals (HMs) can lead to the generation of reactive oxygen species (ROS) that disrupt the structure of biomolecules in plants. In response to their action, the plants synthesize antioxidants. The synthesis of antioxidants allows plants to resist significant environmental pollution. *Hydrocharis morsus-ranae* L. is a common floating macrophyte for which a high accumulation of HM was shown. Samples were taken from two sites (clean and polluted). HMs contamination led to the development of oxidative stress in plants (the MDA content increased by 1.2 times). In response to oxidative stress, the content of proline, non-protein and protein thiols increased in plants. At the same time, it was shown a decrease in the content of carotenoids and phenolic compounds. We assume that this is a consequence of the oxidative degradation of these compounds.



УДК 58.056

ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ПРОДУКТАМИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ КАК ЭФФЕКТ ВЛИЯНИЯ ЗАСУХИ НА *BRASSICA NAPUS*

Шумилина Ю.С.^{1*}, Дидио А.В.¹, Билова Т.Е.¹, Кирпичникова А.А.¹,
Вессйохан Л.А.², Шишова М.Ф.¹, Фролов А.А.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²Институт биохимии растений им. Лейбница, Халле, Германия

*E-mail: schumilina.u@yandex.ru

Ключевые слова: *Brassica napus*, засуха, окислительный стресс, протеом плазматической мембраны, продукты перекисного окисления липидов.

В условиях изменяющегося климата засуха – одна из самых распространенных форм абиотического стресса. Она характеризуется снижением водного потенциала среды и оказывает непосредственное влияние на состояние растений. События, запускаемые дефицитом воды, приводят к развитию окислительного стресса [1]. В силу высокого содержания ненасыщенных жирных кислот липидов, плазматическая мембрана является особо чувствительной к засухе. Одним из наиболее выраженных эффектов окислительного стресса является окислительная фрагментация алифатических цепей полиненасыщенных жирных кислот в составе липидов мембран вследствие их атаки активными формами кислорода [2]. В результате этого образуются низкомолекулярные продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) карбонильной природы (высокореактивные карбонильные соединения), которые способны модифицировать аминокислотные остатки белков, непосредственно влияя на функцию последних [3].

Для изучения изменения протеома плазматической мембраны под влиянием засухи растения *Brassica napus* L. были выращены в гидропонной системе. Засуха создавалась путем добавления 18% (w/v) полиэтиленгликоля-8000 в питательную среду к растениям в возрасте 21 дня с момента прорастания и длилась в течение 7 дней. Далее была выделена фракция плазматической мембраны, из которой получен ее тотальный белок, измерена его концентрация и проведен протеолиз трипсином. Полноту триптического гидролиза подтверждали при помощи диск-электрофореза в денатурирующих условиях. Полученные триптические гидролизаты были обессолены твердофазной экстракцией и проанализированы при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с tandemной масс-спектрометрией. Масс-спектрометрические данные были обработаны с использованием поисковой машины SEQUEST в базе последовательностей белков *Brassica napus* plantGDB.

Всего было идентифицировано 74 белка модифицированных продуктами перекисного окисления липидов. Из них 14 белков обнаруживались только у растений, выращенных в условиях засухи. Преобладающей модификацией был акролеин. Среди белков с ПОЛ-модификациями преобладали белки, вовлеченные в процессы трансляции и передачи внутриклеточного сигнала.

Список литературы

1. Lushchak V.I. // Aquat. Toxicol. 2016. 101, 13–30.
2. Garg N., Manchanda G. // Plant Biosys. 2009. 143(5), 8–96.
3. Agnel J.P., Battesti C., Inze D., et al. // Plant Physiol. 2005. 138(1), 1516–1526.

PLASMA MEMBRANE PROTEINS MODIFICATIONS BY ADVANCED LIPOXIDATION END-PRODUCTS AS THE DROUGHT EFFECT ON *BRASSICA NAPUS*

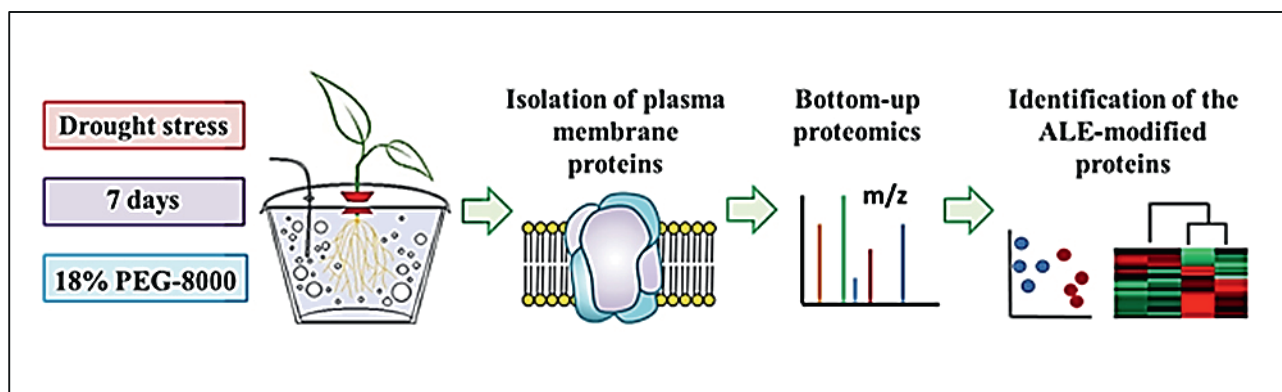
Shumilina J.S.^{1*}, Didio A.V.¹, Bilova T.E.¹, Kirpichnikova A.A.¹,
Wessjohann L.A.², Shishova M.F.¹, Frolov A.A.^{1,2}

¹St. Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

²Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany

Keywords: *Brassica napus*, drought stress, lipid peroxidation products, oxidative stress, plasma membrane proteins.

Drought dramatically affects plant productivity and survival. It is characterized by a decrease of leaf water potential and has a direct impact on plant performance. A drop of tissue water potential leads to development of oxidative stress. Due to the high contents of lipids rich in unsaturated fatty acids, plasma membrane is particularly sensitive to drought-related oxidative damage. One of the most pronounced effects of oxidative stress is the oxidative fragmentation of the aliphatic chains of polyunsaturated fatty acids. In the result this process the advanced lipoxidation end-products (ALEs) are formed. ALEs can modify the amino acids residues of proteins, directly affecting its function. To study changes in the plasma membrane proteome under drought stress *Brassica napus* L. plants were grown in a hydroponic system. The drought was created by adding 18% (w/v) polyethylene glycol-8000 (PEG-8000) to the nutrient medium. Total plasma membrane protein was isolated, its concentration was measured and hydrolysis with trypsin was performed. The obtained tryptic hydrolysates were desalted by solid-phase extraction and analyzed by HPLC-MS/MS. A total of 74 membrane proteins modified by reactive carbonyl compounds (RCCs) were identified. Among these, 14 proteins were found only in plants grown under drought conditions. Thereby, the majority of the lipoxidative modifications were acrolein-derived. Among the proteins with ALEmodifications dominated the polypeptides involved in translation and signal transduction.



Научное издание

**III Международный симпозиум
«Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений»**

**Школа молодых учёных
«Роль активных форм кислорода в жизни растений»**

(22–28 августа 2021 года, Екатеринбург, Россия)

Материалы докладов

Scientific publication

**The III International Symposium
“Molecular Aspects of Plant Redox Metabolism”**

**The School for Young Scientists
“The Role of Reactive Oxygen Species in Plant Life”**

(August 22–28, 2021, Ekaterinburg, Russia)

Proceedings

Под редакцией *М. Г. Малевой*

ISBN 978-5-6046900-2-4



9 785604 690024

ООО «ИЗДАТЕЛЬСТВО АМБ»

620142, г. Екатеринбург, ул. Фрунзе, 35А, офис 513

Тел.: +7 (912) 242-20-73, +7 (963) 449-75-40

www.amb-ural.ru, amb@amb.ur.ru

Генеральный директор *Владимир Лобок*

Главный редактор *Елена Киселева*

Подготовка к печати *Елена Киселева*

Подписано в печать 10.09.2021. Формат 60×90/8
Усл. печ. л. 32,13. Тираж 16 экз. Заказ 10/09/2021/1
Отпечатано в типографии ИЗДАТЕЛЬСТВА АМБ

Наши партнёры



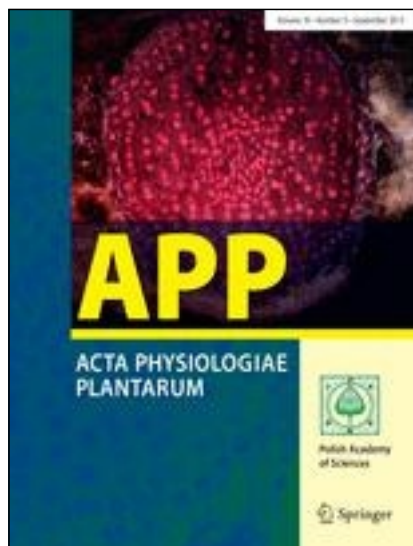
Общество физиологов растений России

127276 Москва, Ботаническая, 35
ofr.su



Журнал Сибирского федерального университета. Биология

journal.sfu-kras.ru/series/biology



Acta Physiologiae Plantarum

springer.com/journal/11738